

13^a Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

METAIS NAS CONDIÇÕES HIPOSMÓTICAS E ISOSMÓTICAS INTERFEREM NO VOLUME CELULAR DA ANÊMOMA *Bunodosoma cangicum* invitro?

EL HAJ, Yasmin
PORTO, Rafaela
SOUZA, Marta M.
BOYLE, Robert T.
Yasmin.elhaj@yahoo.com.br

Evento: 13^a MPU Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Palavras-chave: volume celular; in vitro; metais

1 INTRODUÇÃO

A regulação de volume é um processo essencial para a manutenção da homeostase celular. As anêmonas, invertebrados marinhos do filo Cnidário, geralmente habitam zonas litorâneas e entre marés, uma região de instabilidade. Com o ciclo de maré baixa, elas ficam expostas a variação de salinidade, o que causa estresse osmótico. Em salinidade baixa elas podem responder com um aumento do volume celular. Nosso objetivo é descrever os mecanismos de regulação de volume em células isoladas de anêmona, *Bunodosoma cangicum* e comparar diferentes metais (cobre e gadolínio) e zero cálcio nas condições hiposmóticas e isosmóticas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

HOFFMAN E.K., DUNHAM P.B.. Membrane mechanisms and intracellular signaling in cell volume regulation. *International Review of Cytology*, v.161, p.172–262. 1995.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As anêmonas da espécie *Bundosoma cangicum* foram coletadas na Praia do Cassino e trazidas para o laboratório. Os animais foram mantidos com a mesma salinidade da água do mar (30 S). Foram mantidos em aquários de vidro com aerador e filtro biológico, com temperatura de 24°C e o fotoperíodo foi de 12/12 h claro-escuro.

Cultura primária via explante: A anêmona foi exposta a uma solução anestésica (ASW (água artificial do mar) + Mg 200mM). Depois foi feito o explante de um fragmento do disco pedal, o pedaço foi exposto a uma placa com 10 mL ASW e 5 gotas de água oxigenada (10 volumes) como desinfetante superficial. O fragmento do disco pedal da anêmona foi cortado e posto em pedaços menores em uma placa contendo meio de cultura (M199, 800mOsm) e antibiótico/antimicótico (2%). Depois de 24 horas na incubadora, 20°C, o meio de cultura foi retirado e logo depois foi acrescentado 1ml ASW (salina 30, 800mOsm, isosmótico) na temperatura ambiente e a placa foi levada ao microscópio invertido onde as células foram observadas.

13^a Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

Análises *in vitro*: Nas condições hiposmóticas do Cobre, a foto controle foi tirada e depois acrescentamos 5µg/L de Cu na ASW do poço da placa (1mL). Uma foto por minuto foi tirada, até três minutos. Depois, 500mL (metade) de ASW foi retirada e acrescentada 500mL de água pura com 5µg/L de Cu, onde o restante das fotos foram realizadas. O mesmo foi feito com o Gadolínio, mas com a concentração de 30µM. Para os experimentos hiposmóticos do zero Ca, ASW foi preparada sem Ca com acréscimo de 1mM de EDTA. Na condição isosmótica zero cálcio foi tirada a foto controle e depois o restante das fotos. No gadolínio isosmótico foi tirada a foto controle e depois acrescentamos 30µM de Gd na ASW para analisarmos o restante das fotos. Os experimentos do Cu nas condições isosmóticas foram semelhantes ao do Gd.

Medida de volume celular: Para detectar as possíveis variações de volume de células as imagens foram analisadas. A análise da área 2D das células foi feita utilizando-se captura de imagens em microscopia de luz, com auxílio do software Image J, posteriormente convertidas em volume.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que na condição isosmótica a tendência da célula é manter o volume na presença dos metais (Gadolínio e Cobre) e também com zero Cálcio. Na condição hiposmótica com o Gadolínio, a tendência da célula é inchar, mas não houve uma alteração significativa (ANOVA medidas repetidas $p=0.06$) Outro metal que tem a mesma tendência a inchar na condição hiposmótica é o Cobre, mas também não há uma alteração significativa.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observamos que nos experimentos realizados com o Cobre hiposmótico várias células explodiram (cerca de 10 minutos no hipo mais cobre), isso indica que o Cobre hiposmótico mesmo no limite permitido pelo CONAMA, pode ser letal para as células do *Bunodosoma cangicum*, *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- HOFFMAN E.K., DUNHAM P.B. Membrane mechanisms and intracellular signaling in cell volume regulation. *International Review of Cytology* v. 161 p. 172–262. 1995.
- LANG F., BUSCH G.L., RITTER M., VOKL H., WALDEGGER S., GULBINS E., HAUSSINGER D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiology Reviews* v.78 p. 247-306. 1998.
- WEHNER F., OLSEN H., TINEL H., KINNE-SAFFRON E., KINNE R.K.H. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. *Review of Physiology Biochemistry and Pharmacology* v. 148 p. 1–80. 2003.