

# Efeitos da radiação UVB em células de eritroforoma de *Carassius auratus* (GEM-81)

Paulo Felix Jr, Tamires Podewils, José Henrique Muelbert, Gilma S. Trindade e Glauce R. Gouveia

## Introdução

As radiações emitidas pelo Sol compreendem diferentes faixas de comprimentos de onda eletromagnética. Cerca de 7% dessas radiações estão na região do ultravioleta, sendo a principal responsável por diversos efeitos biológicos causados em organismos vivos. As radiações ultravioleta (RUV) são subdivididas em 3 tipos: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm). No entanto, nos últimos anos, devido à emissão de clorofluorcarbonos (CFCs) oriunda principalmente da ação antropogênica, tivemos o comprometimento da camada de ozônio e o conseqüente aumento na incidência de UVB. Danos estruturais de DNA podem ser causados diretamente pelo UVB, com a formação de dímeros de ciclobutano de pirimidina (CPD) (Cadet *et al.* 1997), sendo o câncer de pele um exemplo clássico deste impacto.

Considerando que ocorra uma significativa penetração de UVB na coluna d'água do estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande-RS) (Gouveia, 2009), achamos pertinente testar seus efeitos em organismos vivos, utilizando como modelo experimental a linhagem celular GEM-81, linhagem celular estabelecida derivada de tumores espontâneos de pele do peixe teleósteo *Carassius auratus* (Matsumoto *et al.*, 1980). Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da radiação UVB sobre a viabilidade celular e dano de DNA na linhagem celular GEM-81.

## Metodologia

As células GEM-81 foram crescidas em meio Ham F-10, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico e antimicótico, à 28° C. Numa densidade de  $5 \times 10^5$  cél/mL, essas foram irradiadas em PBS, com diferentes doses de UVB (0,007; 0,014 e 0,07 J cm<sup>-2</sup>). Logo após, foram novamente colocadas em meio de cultura e avaliou-se a viabilidade celular pela técnica de exclusão por azul de tripan, em diferentes tempos de observação (imediatamente, 24, 48, 72 e 96 h após a irradiação). Nas células irradiadas com as maiores doses de UVB, utilizamos o ensaio cometa para detecção de possíveis danos de DNA, de acordo com (Singh *et al.* 1988) e Steinert *et al.* (1998), com algumas modificações. Assim, 50 nucleóides foram selecionados aleatoriamente, fotografados em cada lâmina, analisados pelo software CASP (Konca *et al.*, 2003) e o dano de DNA foi representado pela % de DNA na cauda do cometa.

## Resultados e Discussão

Nas células irradiadas com UVB, não houve diferença significativa entre o número de células dos grupos controle e irradiado com a menor dose ( $p > 0,05$ ). Entretanto, o grupo exposto à maior dose apresentou diferença significativa quando comparado ao seu controle já nas 24 h após a irradiação ( $p < 0,05$ ). A partir de 48 h, os grupos que receberam as demais doses mostraram diferença significativa no número de células viáveis em relação ao seu grupo controle ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1). UVB foi capaz de induzir dano de DNA nas células irradiadas com uma dose intermediária (Fig. 2). Na maior dose utilizada, não foi possível visualizar nucleóides nas lâminas analisadas, o que nos leva a sugerir que possa ter ocorrido um efeito sinérgico da radiação UVB associado ao protocolo do ensaio cometa, causando a destruição das células.

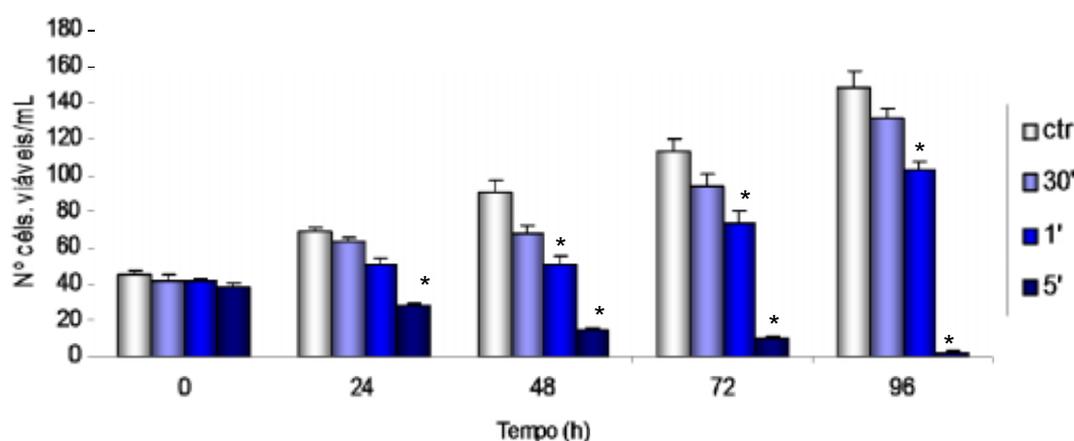


Figura 1 – Nº de células GEM-81/mL. Grupo controle (ctr) e submetidas à diferentes doses de UVB (0,007; 0,014; 0,07 J.cm<sup>-2</sup>) acompanhadas imediatamente, 24, 48, 72 e 96 h após a irradiação. Os dados são expressos como média + erro padrão. \* Indica diferença significativa entre o grupo controle e cada grupo irradiado em determinado tempo de observação ( $p < 0,05$ ).

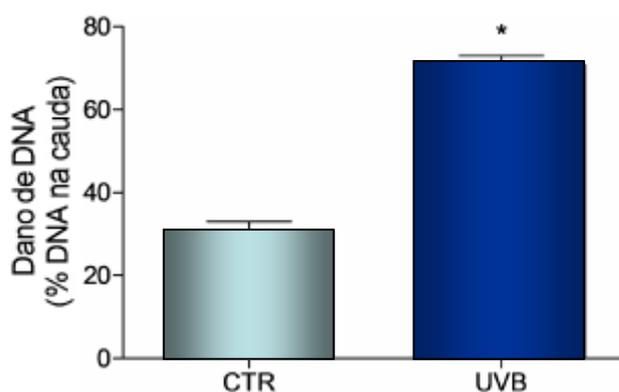


Figura 2 – Dano de DNA (% DNA na cauda do cometa) em células GEM-81 irradiadas com UVB (0,014 J.cm<sup>-2</sup>) ou grupo controle (CTR) imediatamente após a irradiação. Os dados são expressos como média + erro padrão. \* Indica diferença significativa entre o grupo controle e grupo irradiado ( $p < 0,05$ ).

## Conclusões

Com base nos resultados, vimos que a viabilidade celular de eritroforoma (GEM-81) foi alterada quando exposta a doses ambientais de UVB. Ficou evidente também de que células expostas ao UVB têm dano de DNA. Apesar do uso de doses ambientais de UVB, não se pode desconsiderar o fato de que, no ambiente, outros comprimentos de onda são emitidos pelo Sol, o que pode causar um efeito sinérgico ou até protetor nas respostas dos organismos.

## Referências

CADET J, BERGER, M, DOUKI, T, MOURIN, B, RAOUL, S, RAVANAT, JL, SPINELLI, S.1997. Effects of UV and visible radiation on DNA - Final base damage. **Biol.Chem.** 378 (11): 1275-1286.

GOUVEIA, GR. 2009. Penetração da radiação UV na coluna d'água do estuário da Lagoa dos Patos e seus efeitos sobre células e larvas de peixes. **Tese de Doutorado. FURG.**

KONCA, K, LANKOFF, A, BANASIK, A, LISOWSKAB, H, KUSZEWSKI, T, GOZDZ, S, KOZA, Z, WOJCIK, A. 2003. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay. **Mut. Res.** 534,15–20.

MATSUMOTO, J, ISHIKAWA, T, MASAHITO, P, OIKAWA, A, TAKAYAMA, S. 1980. Permanent cell line from erythroforomas in goldfish (*Carassius auratus*). **JNCL** 64 (4): 879–890.

SINGH, NP, MCCOY, MT, TICE, RR, SCHEIDER, EL, 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Res.** 237, 3-4.

STEINERT, SA, STREIB-MONTEE, R, LEATHER, JM, 1998. DNA damage in mussels at sites in San Diego Bay. **Mut. Res./Fund. Mol. Mec. Mut.** 399 (1), 65–85.