

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA**

*Efeitos Biológicos dos Campos Eletromagnéticos de Ultra
Alta Frequência*

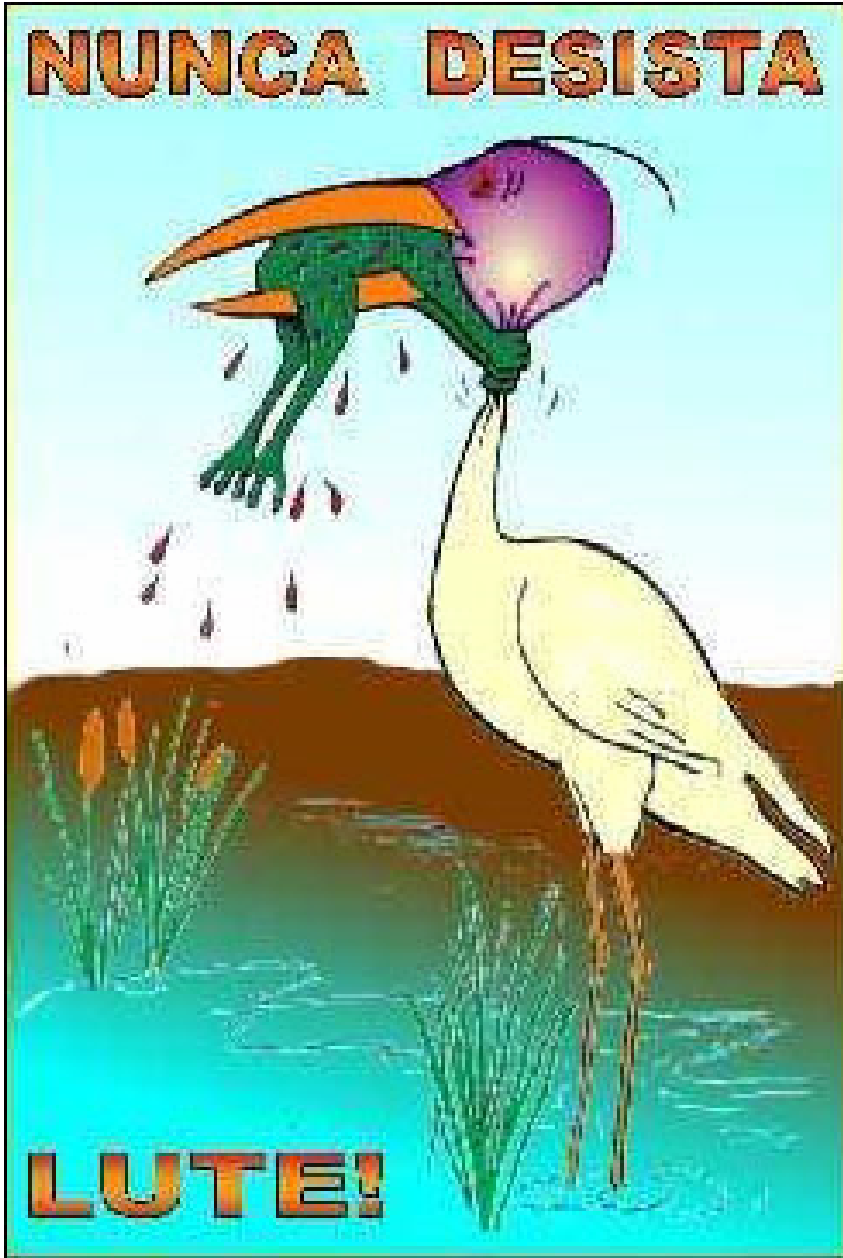
Amâncio Romanelli Ferreira

Orientador: Dr. José Cláudio Fonseca Moreira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas – Bioquímica



Porto Alegre
2006



“Todas as flores do futuro estão nas sementes de hoje.” (Provérbio Chinês)

“Pela ignorância enganamo-nos, e pelos enganos aprendemos.” (Provérbio romano)

AGRADECIMENTOS

Ao Zé (meu orientador) pela infinita paciência, pelo incentivo, pela liberdade para que eu pudesse aprender ao errar, pela disponibilidade sempre que precisei de sua ajuda e pela amizade. Valeu Mano Véio!

À gurizada do Centro de Estresse Oxidativo, agora no laboratório 32 (Fomos promovidos. Viva!!!), pelo auxílio técnico e intelectual e por não deixarem “cair a peteca”, mantendo um clima de alegria (às vezes anormal, he, he, he) mesmo nos momentos mais estressantes. Valeu Fê, Michael, Manu, Guilherme, Evandro, Martina, Márcio, Marinho, Ramatís, Marcos, Matheus, Rodrigo, Mariana, Luís, Daniel, Alfeu, Mauro, Fábio e Felipe.

Ao pessoal dos laboratórios-irmãos. Valeu Luís, Fernanda, Fabiano, Ingrid, Kaly, professor Perry, professora Helena, Labareda, Dioguinho e Lúcia.

Às parcerias, neste trabalho, com outros laboratórios da UFRGS. Valeu professor Salles, Cláudio e Paulo (Departamento de Engenharia Elétrica). Valeu professor Henrique e Tanise (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia). Valeu professor Kanan (Departamento de Microbiologia). Valeu professor Sarkis, Denise e Laila (Departamento de Bioquímica). Valeu Ângelo Marroni (Departamento de Magnetismo).

Aos meus pais pelo carinho e pela paciência com as minhas ausências.

Aos meus amigos e familiares de fora do meio acadêmico. Não vou citá-los para não correr o risco de excluir alguém.

Aos professores e funcionários do Departamento e PPG-Bioquímica por possibilitarem a realização deste trabalho.

Ao CNPq, CAPES, FAPERGS, PROPESQ-UFRGS e, principalmente, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo apoio financeiro e institucional.

À minha amada esposa Mariane, cujos, amor, carinho, companheirismo, inteligência, sensibilidade, auxílio e, também, muita paciência foram a força e a inspiração deste trabalho. Eu te amo guria!

Aos animais utilizados, cuja vida, lamentavelmente, ainda é necessária ser ceifada para o avanço da pesquisa.

ÍNDICE

Parte I.....	001
Resumo.....	002
Abstract.....	003
Índice de figuras.....	004
Abreviaturas.....	005
Introdução.....	006
Objetivos.....	011
Parte II.....	014
Capítulo 1.....	015
Capítulo 2.....	044
Capítulo 3.....	066
Capítulo 4.....	095
Parte III.....	115
Discussão.....	116
Conclusões específicas.....	119
Perspectivas.....	122
Referências.....	123
Anexos.....	131
Anexo 1.....	132
Anexo 2.....	133
Anexo 3.....	136
Anexo 4.....	142

Parte I

RESUMO

Vários estudos têm sugerido que seres vivos podem ser suscetíveis aos campos eletromagnéticos (CEMs). Os supostos efeitos dos Campos Eletromagnéticos de Ultra Alta Frequência (CEMUAFs) em sistemas biológicos são pouco conhecidos. Os relatos de um possível efeito biológico dependente da alteração de estados de oxidação entre pares de radicais sugerem um mecanismo de transdução orgânica para os campos. Outros trabalhos obtiveram alterações na sinalização celular e defesas antioxidantes após a exposição CEMUAFs e, tais alterações, poderiam ser um agente causador de doenças como, por exemplo, a leucemia infantil, esta já correlacionada com a exposição aos CEMs. Desta forma o objetivo deste estudo foi investigar se o CEMUAF (834 MHz) poderia interferir com o balanço oxidativo de planárias e ratos, assim como, estudar a participação de enzimas responsáveis pela hidrólise de nucleotídeos, enzimas estas reconhecidas por serem influenciadas pela ação de radicais livres.

As planárias foram expostas por 1, 3 e 6 dias (8 h/dia). Após a exposição foi feito um homogenato de todo o corpo de cada animal. Foi encontrado um aumento na atividade da superóxido desmutase (SOD) e um decréscimo na atividade da catalase (CAT) e na defesa antioxidante não-enzimática (TRAP) após 6 dias de exposição. Adicionalmente, houve um aumento na frequência de micronúcleos (MN) após 3 e 6 dias de exposição. Não houve alteração nos parâmetros de dano oxidativo a lipídios (TBARS) e proteínas (Carbonil) em nenhum dos tempos de exposição. Estes resultados sugerem um aumento nos níveis de radicais livres e de danos aos ácidos nucleicos. Estudos posteriores deverão determinar se estes efeitos apresentam ou não associações do tipo causa e efeito.

Foram utilizados três modelos com ratos. No primeiro modelo, animais com idades de 30, 80 e 210 dias foram expostos por 6 dias (7:30 h/dia). Não foram encontradas mudanças nos parâmetros de TRAP, TBARS e Carbonil em nenhuma das idades expostas ao CEMUAF. Estes resultados sugerem que os tempos de exposição utilizados não foram suficientes para causar alguma mudança perceptível nos parâmetros de estresse oxidativo. No segundo modelo, utilizou-se o sangue e fígado dos neonatos expostos ao CEMUAF ainda no útero de suas mães durante todo o seu desenvolvimento embrionário (8:30 h/dia). Não foram encontradas mudanças em nenhum parâmetro oxidativo. Foi encontrado um aumento na frequência de MN nas hemácias, sugerindo um efeito genotóxico da irradiação do celular afetando o tecido hematopoiético dos fetos. No terceiro modelo, utilizou-se o sangue de ratos adultos (180 dias) expostos por 12 dias (8:30 h/dia). Os níveis da hidrólise de ATP e ADP estavam aumentados no grupo irradiado. Nenhum efeito foi observado nas atividades da SOD e da CAT, sugerindo nenhuma participação de radicais livres nestes resultados.

Ainda são necessários muitíssimos estudos para determinar quais os mecanismos transdutores dos CEMUAFs em sistemas biológicos e de que forma esta interação ocorre, porém estes resultados sugerem: (a) um papel para os radicais livres sobre, pelo menos, alguns dos efeitos atribuídos aos CEMUAFs e (b) que os organismos em fase de formação podem ser mais sensíveis aos campos. Por fim, sugerimos que sistemas biológicos podem sofrer a ação da irradiação com uma quantidade de energia muito menor do que a esperada para promover algum efeito no metabolismo.

ABSTRACT

Several studies have suggested that living being could be susceptible to the electromagnetic fields (EMFs). The supposed effects of ultra high frequency electromagnetic fields (UHF-EMFs) in biological systems are not very well-known. The reports of a possible effect biological dependent of the alteration of oxidation states among radical pairs suggest a mechanism of organic transduction for the EMFs. Other works have obtained alterations in the cellular signaling and antioxidant defenses after the UHF-EMFs exposure and, such alterations could be a diseases causative agent as, e.g., the infantile leukemia, this already correlated to EMF exposure. This way we have investigated if the non thermal UHF-EMF (834 MHz) could interfere with the planarians and rats oxidative balance, as well as, to study the participation of responsible enzymes for the nucleotides hydrolysis. Nucleotide hydrolysis is known be influenced by the free radicals action.

Planarians were exposed for 1, 3 and 6 days (8 h/day). After the exposure was made a whole body homogenate of each animal. It was found an increase in the superoxide dimutase (SOD) activity, a decrease in the catalase (CAT) activity and a decrease in the non-enzymatic antioxidant defense (TRAP) after 6-day exposure. It was also found an increase in the micronúcleos frequency (MN) after 3 and 6 days of exposure. It was not found changes in the parameters of lipid and protein oxidative damage (TBARS and Carbonyl, respectively) in none of the exposure times. These results suggest an increase in the levels of free radicals and of nucleic acids damages. Future studies would determine if these effects show or not cause and effect associations.

Three models were used with rats. In the first model, animals with ages of 30, 80 and 210 days were exposed for 6 days (7:30 h/day). It was not found changes in the TRAP, TBARS and Carbonil parameters in none of the UHF-EMF exposed ages. Three models were used with rats. In the first model, animals with ages of 30, 80 and 210 days were exposed for 6 days (7:30 h/day). It was not found changes in the TRAP, TBARS and Carbonil parameters in none of the UHF-EMF exposed ages. These results suggest the exposure times used were not enough to cause some perceptible changes in the oxidative stress parameters. In the second model, it were used the blood and liver of offspring exposed to UHF-EMF (8:30 h/day) still inside of mothers' uterus during all its embryonic development. It was not found changes in any oxidative parameters. It was found an increase in the erythrocytes MN frequency suggesting a cellular irradiation genotoxic effect in the fetus hematopoietic tissue. In the third model, the blood of adult rats (180 days) was used after 12 days UHF-EMF exposure (8:30 h/day). The levels of the ATP and ADP hydrolysis were increased in the UHF-EMF group and no effect was observed in the activities of SOD and of CAT, suggesting no free radicals participation in these results.

It is still necessary a lot of studies to determine which the UHF-EMF transductions mechanisms in biological systems and that forms this interaction happens, but these results suggest: (a) a role for the free radicals in, at least, some of the effects attributed to UHF-EMFs and (b) that the organisms in formation phase may be more sensitive to these fields. Finally, we suggested that biological systems may suffer the irradiation action with an amount of energy lesser than the energy believed to promote some effect in the metabolism.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	008
Figura 2.....	132
Figura 3.....	133
Figura 4.....	134
Figura 5.....	135
Figura 6.....	136
Figura 7.....	137
Figura 8.....	138
Figura 9.....	139
Figura 10.....	140
Figura 11.....	141

LISTA DE ABREVIATURAS

8-oxodGuo= 8-oxo-7,8-dihidro-2_-deoxyguanosine

ADN= ácido desoxirribonucléico

ADP= adenosina di-fosfato

AMP= adenosina mono-fosfato

ATP= adenosina tri-fosfato

CAT= catalase

CEM= campo eletromagnético

CEMUAF= campo eletromagnético de ultra alta frequência

ERB= estação rádio-base

ERN= espécie reativa de nitrogênio

ERO= espécie reativa de oxigênio

GSH-Px= glutathiona peroxidase

H₂O₂= peróxido de hidrogênio

MN= micronúcleo

NO·= óxido nítrico

O₂··= radical superóxido

OH·= radical hidroxil

ONOO·= peroxinitrito

RL= radical livre

SAR= taxa de absorção específica (specific absorption rate)

SOD= superóxido desmutase

Introdução

O habitat humano mudou muito nos últimos 100 anos e a mais marcante novidade foi o aumento da geração e utilização da eletricidade. Hoje o mundo está carregado com emissões de campos elétricos, magnéticos e eletromagnéticos resultantes do desenvolvimento da tecnologia e de sua aplicação na geração de bens de consumo e na própria energia para a utilização destes bens.

Dentre as novas tecnologias, o avanço da indústria da telefonia móvel em todo o mundo tem levado um número crescente de pessoas, em destaque alguns cientistas, a questionarem se os sinais emitidos pelas estações rádio-base (ERBs) e pelos telefones celulares poderiam afetar a saúde (Hardell *et al*, 2003; French *et al.*, 2000; Bren, 1996).

Um dos primeiros relatos sobre correlação entre campos eletromagnéticos (CEMs) e saúde humana ocorreu em 1979 quando Wertheimer e Leeper apresentaram um estudo de correlação entre cabos de distribuição de energia próximos a escolas e o aumento de casos de leucemia infantil. Apesar desta ainda recente área de estudo, os resultados disponíveis na literatura sugerem-nos que os CEMs podem provocar efeitos diversos conforme diferentes parâmetros: potência [taxa de absorção específica (SAR em inglês), densidade de potência incidente], densidade de fluxo magnético, campo estático ou com frequência, comprimento de onda/frequência, distância do campo, polarização (linear, circular), emissão (contínua ou pulsátil), forma da onda (sinusoidal, triangular, retangular, etc), modulação (amplitude, frequência, fase, complexidade), duração ou intermitência da exposição (contínua ou interrompida), exposição aguda ou crônica. Há também um grande número de variáveis biológicas que podem causar diferentes respostas aos CEMs, algumas destas variáveis são: exposição *in vitro* ou *in vivo*, espécie utilizada, idade do indivíduo, região do organismo

exposta e/ou analisada, indivíduo saudável ou doente. Como exemplo, é possível citar alguns trabalhos sugerindo que CEMs de altas e/ou baixas frequências são capazes de: alterar a atividade transcricional de certos genes (Hirai *et al.*, 2002; Tsuchiya *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 1992), induzir quebras no DNA (Lai e Singh, 2004, 1996; Cho e Chung, 2003), modificar os níveis celulares de cálcio (Fanelli *et al.*, 1999; Bawin *et al.*, 1978), induzir a apoptose (Quaglino *et al.*, 2000), diminuir a performance da memória de animais em tarefas comportamentais (Seaman *et al.*, 1998; Lai, 1996; Lai *et al.*, 1994), induzir câncer (Lönn *et al.*, 2004; Adey, 1997) aumentar o dano oxidativo em lipídios (Bediz *et al.*, 2006; Kula *et al.*, 2002) e modificar a atividade de enzimas (Zwirska-Korczała *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2004; Irmak *et al.*, 2002; Kula *et al.*, 2002; Dibirdik *et al.*, 1998).

Por outro lado um potencial terapêutico para os CEMs também começa a surgir. Por exemplo, CEMs têm alcançado repetidos resultados na osteogênese in vitro (Lohman *et al.*, 2003; Molen *et al.*, 2000), e em animais com ossos lesionados (Ottani *et al.*, 2002; Matsumoto *et al.*, 2000; Yonemori *et al.*, 1996). Outros resultados positivos no tratamento da epilepsia (McLean *et al.*, 2003; Tattersall *et al.*, 2001), plasticidade neuronal (Pacini *et al.*, 1999), esclerose múltipla (Richards *et al.*, 1997) e melhora da memória declarativa em humanos (Richards *et al.*, 1996) também reforçam a idéias de uma possível aplicação terapêutica aos CEMs.

Campo eletromagnético de ultra-alta frequência

Um campo eletromagnético que pertence a faixa de frequência de 300 MHz – 3 GHz é denominado campo eletromagnético de ultra-alta frequência (CEMUAF) (Ultra-high frequency electromagnetic field, 2006). O intervalo de frequência normalmente utilizado para a telefonia móvel popular está entre 800 – 2200 MHz (Verschaeve e Maes, 1998). Este intervalo está dentro da grande faixa de frequência chamada de radiofrequência (3 KHz – 300 GHz) (Lai, 2005) sendo, o mesmo, considerado não-ionizante (Fig. 1), ou seja, não têm a propriedade de produzir íons mediante perda ou ganho, por molécula ou átomo, de um ou mais elétrons.

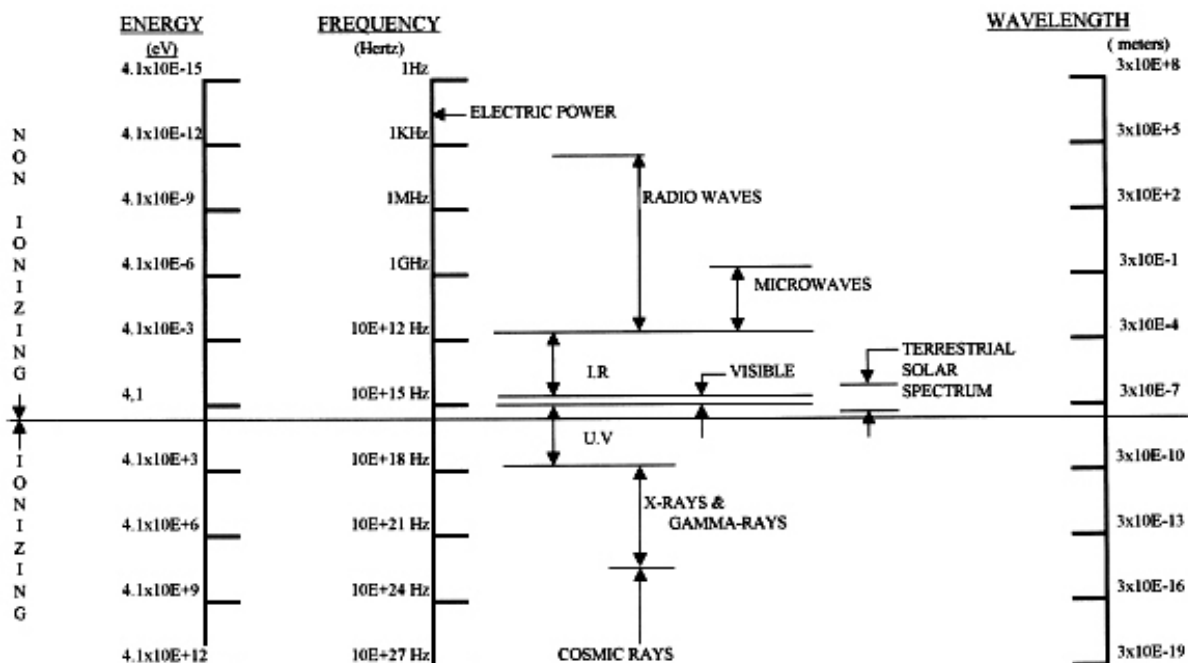


Figura 1. O espectro eletromagnético (Extraída de Verschaeve e Maes, 1998).

Os CEMs não-ionizantes, apesar de transferirem menos energia em um quanta de energia que os CEMs ionizantes, também são capazes de provocarem efeitos físicos, de

especial interesse, a geração de calor. Em sistemas biológicos o efeito térmico pode diferir muito do aquecimento clássico, pois estes ocorrem devido à absorção de energia de CEMs pelos tecidos, através da vibração das moléculas de água e dos íons nela dissolvidos. A quantidade de calor produzida em um organismo depende primariamente da intensidade da radiação, de algumas propriedades elétricas da biomassa e da eficiência dos mecanismos de termorregulação. Efeitos à saúde, classicamente, iniciam após a elevação de, aproximadamente, 1° C na temperatura corporal (Hyland, 2000). Normas internacionais foram criadas para regulamentar os limites de exposição de humanos a CEMs em diversas faixas de irradiação (ICNIRP, 1998). A taxa de absorção específica permitida para CEMs na faixa da radiofrequência é menor do que 2 mW/g (ICNIRP, 1998). Este limite considera, somente, os efeitos térmicos sobre o organismo e representa metade do valor de SAR necessária para provocar a elevação da temperatura. A metade do valor da SAR é utilizada como limite para permitir uma margem de segurança para a exposição (ICNIRP, 1998).

Ação dos CEMs sobre o balanço oxidativo dos radicais livres – Uma hipótese

Apesar dos vários relatos sobre a interação de CEMs com sistemas biológicos não é conhecido o mecanismo de como tal fenômeno ocorra. Alguns autores apontam para um possível papel do balanço oxidativo dos radicais livres neste processo, propondo alguns modelos matemáticos apresentando razoáveis explicações de como fracos CEMs poderiam diminuir a capacidade de recombinação de pares radicais, aumentando os níveis de radicais livres (Timmel *et al.*, 2001; Grissom, 1995). Isto ocorreria através da ação de CEMs com densidades de fluxo muito próximas ou mesmo inferiores ao valor do campo geomagnético. Estes CEMs – estáticos ou oscilantes – atuariam sobre pares radicais diminuindo a taxa de alternância entre estados de *spin* singlete e tripleto, cujo valor percentual normal é 75 % e

25 %, respectivamente. Se o par radical for produzido num estado tripleto, a diminuição de alternância entre estados diminuiria a concentração do estado singleto, que possui reação atrativa entre os pares radicais, aumentando a concentração do estado tripleto, que possui reação dissociativa entre os pares radicais. Desta forma o aumento do estado tripleto contribuiria para a separação do par radical formando, então, os radicais livres (RLs) (Timmel *et al.*, 2001; Grissom, 1995). Em concordância com esta hipótese outros pesquisadores demonstraram que RLs têm sido implicados em vários tipos de danos teciduais após esta exposição (Oktem *et al.*, 2005; Regoli *et al.*, 2005; Yokus *et al.*, 2005; Ilhan *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Zmysłony *et al.*, 2004).

Mas o que são radicais livres? Um RL é definido como qualquer espécie que possua um ou mais elétrons desemparelhados. Quando ocorre este desemparelhamento surge uma instabilidade molecular, fazendo com que essa estrutura procure outra para estabilizar-se e criando outro radical livre. Desta forma inicia-se uma reação em cadeia e, se a produção dos RL não estiver em equilíbrio com as defesas antioxidantes do organismo, danos a biomoléculas e morte celular poderão acontecer. RLs são conhecidos como espécies reativas e estas podem ser espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de nitrogênio (ERNs). As principais EROs a serem consideradas como potencialmente danosas são: o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o qual é gerado principalmente na mitocôndria; o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), gerado pela ação da enzima superóxido desmutase (SOD) sobre o $O_2^{\cdot-}$; o radical hidroxil (OH^{\cdot}) produzido a partir do H_2O_2 através da reação de Fenton catalisada por um metal de transição (principalmente, ferro ou cobre); e o peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), o qual é gerado pela reação do $O_2^{\cdot-}$ com o óxido nítrico (NO^{\cdot}). As principais enzimas antioxidantes são a SOD, a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GSH-Px). A CAT e a GSH-Px

participam da remoção do H_2O_2 evitando a geração do OH \cdot , um radical extremamente reativo que causa dano a lipídios, proteínas e, com especial destaque, ao DNA (Berg *et al.*, 2004; Halliwell e Gutteridge, 1999).

Neste trabalho utilizaremos dois modelos animais, um com planárias e outro com ratos. As planárias *Girardia (Dugesia) tigrina* foram escolhidas por possuírem uma alta suscetibilidade a danos no ADN (Guecheva *et al.*, 2001), à modulação da sua capacidade de regeneração (Rogdestvenskaya *et al.*, 2001), e a mudanças nas suas defesas oxidativas (Guecheva *et al.*, 2003) quando expostas a agentes poluidores do meio ambiente. Também já foi demonstrado que o crescimento do blastema de planárias foi modulado após a irradiação com um CEM de baixa frequência (31,0 e 47,7 Hz) (Rogdestvenskaya *et al.*, 2001). O estudo com planárias nos permitirá realizar estudos prévios que poderão fornecer pistas para a seqüência do trabalho com ratos, um organismo com um padrão de complexidade mais próximo ao do homem.

Objetivo geral

Investigar a influência dos CEMUAF sobre parâmetros bioquímicos de dois modelos animais, quais sejam, planárias (*Dugesia tigrina*) e ratos Wistar (*Ratus norvegicus*).

Objetivos específicos

Objetivo 1 :Avaliar os efeitos, sobre parâmetros de estresse oxidativo e genotoxicidade, da exposição de planárias adultas (*Girardia tigrina*) ao CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 32 - 54 V/m; 85 - 140 mA/m; vertical polarization). A irradiação será emitida por um telefone celular analógico pelo período de 1, 3 e 6 dias (8 horas/dia). Serão avaliados, em

homogeneizados totais de planárias, os parâmetros: dano oxidativo a lipídios, dano oxidativo a proteínas, defesas totais antioxidantes não-enzimáticas, atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT e frequência de micronúcleos (MN).

Objetivo 2: Avaliar os efeitos, sobre parâmetros de estresse oxidativo, da exposição de ratos machos de diferentes idades (30, 80 e 210 dias) ao CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 23 – 35.7 V/m; 65 - 90 mA/m; vertical polarization). A irradiação será emitida por um telefone celular analógico pelo período de 6 dias (7:30 horas/dia). Serão avaliados, em hipocampo e córtex frontal, os parâmetros: dano oxidativo a lipídios, dano oxidativo a proteínas, defesas totais antioxidantes não-enzimáticas.

Objetivo 3: Avaliar os efeitos, na progênie de ratas grávidas expostas durante toda a gestação ao CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 – 40 V/m; 70 - 100 mA/m; vertical polarization), sobre parâmetros de estresse oxidativo e genotoxicidade. A irradiação será emitida por um telefone celular analógico durante toda a gestação (8:30 horas/dia). Serão avaliados, no sangue, os parâmetros: dano oxidativo a lipídios, dano oxidativo a proteínas, oxidação de grupamentos tióis, defesas totais antioxidantes não-enzimáticas, atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px e frequência de MN. Em homogeneizados de fígado serão avaliados todos os parâmetros acima, exceto a frequência de MN.

Objetivo 4: Avaliar os efeitos, sobre parâmetros de estresse oxidativo e hidrólise de nucleotídeos, da exposição de ratos adultos ao CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 – 40 V/m; 70 - 100 mA/m; vertical polarization),. A irradiação será emitida por um telefone celular analógico pelo período de 12 dias (8:30 horas/dia). Serão avaliados, no sangue, os

parâmetros: atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT e hidrólise de adenosina trifosfato (ATP), adenosina di-fosfato (ADP) e adenosina mono-fosfato (AMP).

Parte II

Parte III

Discussão

Apesar de possuírem características bastante diferentes entre si, a ação de CEMs de baixa e alta frequência podem ter mecanismos comuns. De acordo com Blank e Goodman (2004), os estímulos termais e não-termais afetam diferentes segmentos do ADN e diferentes caminhos bioquímicos. Contudo, a estimulação não-termal por CEMs de baixa e alta frequência poderia utilizar a mesma via não-termal (Blank e Goodman, 2004; Belyaev *et al.*, 2002).

Nos experimentos com planárias encontramos alteração na atividade da SOD e da CAT, o que também não nos permite descartar uma relação causal entre o aumento da frequência de MN e a mudança na produção de radicais livres. A SOD e a CAT poderiam estar com a sua atividade modificada, justamente, por causa de um aumento na produção de radicais livres nos núcleos dos neoblastos das planárias e sua ação poderia estar contribuindo para que outros danos fora do núcleo não surgissem.

Outra explicação para estes resultados é a possível interferência direta do CEMUAF sobre a atividade das enzimas, concomitante a interferência na integridade do ADN, quer de forma relacionada ou completamente independente entre estes dois efeitos.

O aumento na frequência de MN nos eritrócitos dos ratos neonatos irradiados não foi acompanhado de qualquer interferência nos parâmetros de estresse oxidativo estudados seja no sangue, seja no fígado destes animais. Este resultado, somado aos resultados com planárias, sugere-nos que o núcleo é o/um alvo do CEMUAF utilizado. Uma pesquisa recente apresentou aumento de MN no cérebro de ratos irradiados com CEM de baixa frequência (Lai e Singh, 2004). Neste estudo o aumento foi evitado ao adicionar um análogo da vitamina E (trolox), ou um quelante de ferro (deferiprona), ou um inibidor da

enzima óxido nítrico sintase (7-nitroindazol). A partir destes resultados os autores sugeriram que o aumento de MN foi dependente do aumento de radicais livres, que este aumento foi dependente da interação com ferro via reação de Fenton e que o NO[•] foi um radical livre importante para o dano genômico (Lai e Singh, 2004). Os autores discutem que células com alta taxa metabólica, como as células cerebrais, possuem alta captação de ferro e que o CEM poderia prejudicar a homeostase do ferro (influxo e armazenamento de ferro), causando um subsequente desbalanço oxidativo (Lai e Singh, 2004).

É fato que o ADN interage com o ferro no núcleo, originando vários complexos ferro-ADN (Dal-Pizzol *et al.*, 2000; Mello-Filho e Meneghini, 1991) e, talvez, a ação do CEMUAF utilizado no nosso trabalho sobre o ferro poderia explicar o aumento da frequência de MN. Se este for o caso, o CEMUAF teria um efeito mais localizado na célula devido as características químicas do genoma. Esta hipótese deverá ser testada pelo nosso laboratório.

Como citado no Capítulo 3, também é frequente a ausência de efeitos na frequência de MN, trocas entre cromátides-irmãs e aberrações cromossômicas após a realização de experimentos *in vivo* e *in vitro* (Zeni *et al.*, 2003; McNamee *et al.*, 2002, 2003; Bisht *et al.*, 2002; Vijayalaxmi *et al.*, 2001; Brusick *et al.*, 1998). Apesar de alguns destes resultados utilizarem CEMUAFs com valores próximos aos nossos, as condições experimentais não são as mesmas. Graças à natureza multidisciplinar e ainda incipiente deste tipo de pesquisa, é muito comum cada centro de pesquisa montar todo o aparato, assim como, possuir uma metodologia própria de pesquisa e esta poderia ser a explicação dos diferentes resultados observados.

A diferença de respostas entre as atividades das enzimas antioxidantes e as envolvidas na hidrólise de nucleotídeos (Capítulo 4) sugere-nos que estas últimas podem ser mais sensíveis ao CEMUAF irradiado, pelo menos quando analisadas no soro.

Para a maioria dos trabalhos apresentados nesta Tese será importante a continuidade do trabalho com uma irradiação crônica, por exemplo, um ano ou mais de exposição. Este procedimento é importante para podermos garantir que não está havendo uma influência cumulativa do CEMUAF irradiado que só aparecerá em longo prazo nos grupos e/ou nas estruturas que não apresentaram diferenças em relação aos seus controles. Lai (2005) defende que as considerações para avaliar efeitos biológicos provocados por CEMUAFs devem levar em conta não somente a energia absorvida por um tecido (SAR), mas, também, a energia absorvida por unidade de tempo.

Por outro lado uma exposição crônica também nos permitirá saber o quão permanente e/ou dolosas são as alterações encontradas nos organismos estudados. Os tempos de irradiações usados por nós foram muito curtos (poucos dias), apesar de agudos (± 8 h/dia), quando comparados às exposições quotidianas originárias dos aparelhos de telefonia móvel (menos de 1 h/dia) ou das ERBs (8 h/dia ou mais, dependendo se está próxima ao trabalho ou à residência) que podem durar meses ou anos.

Considerações finais

Esta Tese teve um caráter basicamente descritivo. Os resultados obtidos até o momento não fornecem explicação sobre os possíveis mecanismos pelos quais os CEMs atuam no organismo, entretanto, estes trabalhos forneceram-nos pistas por onde começar a aprofundar o nosso estudo. Mais até do que as pistas, este é um trabalho multidisciplinar (como dito acima) e, especialmente no nosso país, ainda muito preliminar. Portanto, este

trabalho teve e tem um caráter formativo, abrindo uma trilha ainda desconhecida por nós e desenvolvendo uma nova equipe técnico/científica pronta para novos desafios.

Ainda que muito trabalho tenha que ser feito para estudar os mecanismos e as conseqüências da irradiação sobre os seres vivos, os resultados aqui apresentados sugerem-nos que a irradiação de CEMUAFs não é inócua. Não podemos afirmar se as conseqüências serão maléficas, benéficas ou neutras, isto é, se os organismos terão sua homeostase alterada, mas acreditamos que sistemas biológicos podem sofrer a ação da irradiação com uma quantidade de energia muito aquém da esperada para promover algum efeito no metabolismo.

Finalizamos afirmando que os resultados obtidos a partir dos nossos modelos não podem ser atribuídos, também, aos seres humanos, mas servem de alerta para a necessidade de mais pesquisa nesta área e para a mantermos a cuidado para que a tecnologia seja desenvolvida sempre com respeito ao meio ambiente e à saúde humana, elementos estes que apresentam uma estreita relação entre si.

Conclusões específicas

Conclusões do Capítulo 1

A irradiação de planárias com o CEMUAF por 6 dias (8 h/dia) aumentou a freqüência de MN em neoplastos no grupo tratado em relação aos controles.

A defesa antioxidante não-enzimática e a atividade da CAT diminuíram no sexto dia após a irradiação.

Não foram encontradas mudanças nos parâmetros de danos oxidativos lipídicos e protéicos após a irradiação.

Conclusões do Capítulo 2

A irradiação de ratos (30, 80 e 210 dias de idade) com o CEMUAF por 6 dias (7:30 h/dia) não causou mudanças nos parâmetros oxidativos de danos a lipídios e proteínas no córtex frontal e hipocampo.

Não foram encontradas mudanças nos níveis de defesa antioxidante não-enzimática no córtex frontal e hipocampo após a irradiação.

Conclusões do Capítulo 3

A irradiação com o CEMUAF durante (8:30 h/dia) causou o aumento na frequência de MN nos eritrócitos de ratos neonatos expostos durante toda a sua embriogênese no útero de suas mães.

Não foram encontradas mudanças no parâmetro oxidativo de dano a proteínas no fígado e no plasma de ratos neonatos após a irradiação. Não foi encontrada mudança no parâmetro oxidativo de dano a lipídios no fígado de ratos neonatos após a irradiação.

Não foi encontrada mudança no nível total de defesas antioxidantes não-enzimáticas no fígado de ratos neonatos após a irradiação.

Não foram encontradas mudanças nas atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx no fígado e plasma de ratos neonatos após a irradiação.

Não foram encontradas mudanças no conteúdo de grupamentos protéicos sulfidril, isto é, nos valores de oxidação de grupamentos tióis em proteínas de ratos após a irradiação.

Não foram encontradas mudanças na taxa de nascimentos por rata após a irradiação.

Conclusões do Capítulo 4

A irradiação de ratos adultos (180 dias) com o CEMUAF durante (8:30 h/dia) não causou mudanças nas atividades enzimáticas da SOD sérica e da CAT em alíquotas de sangue total.

Foram encontrados aumentos nas hidrólises de ATP e ADP no soro dos ratos após a irradiação.

Não foram encontradas mudanças na hidrólise de AMP no soro dos ratos após a irradiação.

Perspectivas

Repetir o ensaio com MN em planárias utilizando controles positivos e um antioxidante no seu aquário. Desta forma pretendemos investigar se há uma relação causal entre o aumento da frequência de MN (Capítulo 1) e a produção de radicais livres.

Aumentar os tempos de irradiação dos ratos adultos para 6 meses e 1 ano e analisar outras estruturas como, por exemplo, o tecido hematopoiético medular do fêmur. As estruturas analisadas no Capítulo 2 serão também observadas neste modelo de exposição mais longa.

Analisar o efeito do CEMUAF em ratos com estresse oxidativo induzido.

Repetir o experimento com os ratos neonatos (Capítulo 3) para estudar: (a) se o aumento na frequência de MN ocorre também em leucócitos, (b) se há dano oxidativo no ADN de leucócitos através da detecção de 8-oxo-7,8-dihidro-2_-deoxyguanosine (8-oxodGuo), (c) se existem alterações cariotípicas em leucócitos, (d) se o efeito permanece nos ratos adultos que foram irradiados somente até o parto, (e) se o efeito permanece nos ratos que foram irradiados desde o útero de suas mães até a fase adulta, (f) o efeito do CEMUAF no metabolismo do ferro do sangue e do tecido hematopoiético medular.

Repetir a irradiação de ratos adultos (Capítulo 4) para quantificar os níveis de nucleotídeos no sangue dos ratos para saber se houve aumento de adenosina.

Referências

- Adey R. 1997. Jim Henry's world revisited – environmental “stress” at the psycho-physiological and the molecular levels. *Acta Physiol Scand* 161:640 (Suppl), 176-179.
- Bawin SM, Adey WT, Sabbot IM. 1978. Ionic factor in release of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ from chicken cerebral tissue by electromagnetic fields. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:12, 6314-6318.
- Bediz CS, Baltaci AK, Mogulkoc R, Öztekin E. 2006. Zinc supplementation ameliorates electromagnetic field-induced lipid peroxidation in the rat brain. *Tohoku J Exp Med* 208, 133-140.
- Belyaev IY, Alipov ED, Ushakov VL. 2002. Authors' reply. IN: Comments on “Nonthermal effects of extremely high-frequency microwaves on chromatin conformation in cells in vitro – dependence on physical, physiological and genetic factors. *IEEE Trans Microw Theory Tech* 50:7, 1856-1858.
- Berg D, Youdim MBH, Riederer P. 2004. Redox imbalance. *Cell Tissue Res* 318, 201-213.
- Bisht KS, Moros EG, Straube WL, Baty JD, Roti JLR. 2002. The effect of 835.62 MHz FDMA or 847.74 MHz CDMA modulated radiofrequency radiation on the induction of micronuclei in C3H 10T½ cells. *Radiat Res* 157, 506-515.
- Blank M, Goodman R. 2004. A biological guide for electromagnetic safety: the stress response. *Bioelectromagnetics* 25:8, 642-646.
- Bren SPA. 1996. Historical introduction to EMF health effects. *IEEE Eng Med Biol Mag*, July/August, 24-30.
- Brusick D, Albertini, R, McRee D, Peterson D, Williams G, Hanawalt P, Preston J. 1998. Genotoxicity of radiofrequency radiation. *Environ Mol Mutagen* 32, 1-16.

- Cho YH, Chung HW. 2003. The effect of extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) on the frequency of micronuclei and sister chromatid exchange in human lymphocytes induced by benzo(a)pyrene. *Toxicol Let* 143, 37-44.
- Dal-Pizzol F, Klamt F, Frota MLC, Moraes LF, Moreira JCF, Benfato MS. 2000. Retinol supplementation induces DNA damage and modulates iron turnover in rat Sertoli cells. *Free Radic Res* 33, 677-687.
- Dibirdik I, Kristupaitis D, Kurosaki T, Tuel-Ahlgren L, Chi A, Pond D, Tuong D, Luben R, Uckun FM. 1998. Stimulation of Src family protein-tyrosine kinases as a proximal and mandatory step for SYK kinase-dependent phospholipase C γ 2 activation in lymphoma B cells exposed to low energy electromagnetic fields. *J Biol Chem* 273:7, 4035-4039.
- Fanelli C, Coppola S, Barone R, Colussi C, Gualandi G, Volpe P, Guibelli L. 1999. Magnetic fields increase cell survival by inhibiting apoptosis via modulation of Ca²⁺ influx. *FASEB J* 13, 95-102
- French, PW, Penny R, Laurence JA. 2000. Mobile phones, heat shock proteins and cancer. *Differentiation* 67, 93-97.
- Grissom CB. 1995. Magnetic field effects in biology: A survey of possible mechanisms with emphasis on radical-pair recombination. *Chem Rev* 95,3-24.
- Guecheva T, Henriques JAP, Erdtmann B. 2001. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian in vivo, studied with the single-cell gel test (comet assay). *Mutat Res* 497, 19-27.
- Guecheva TN, Erdtmann B, Henriques JAP. 2003. Stress protein response and catalase activity in freshwater planarian *Dugesia (Girardia) schubarti* exposed to copper. *Ecotoxicol Environ Saf* 56, 351-357.

- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed., New York: Oxford University Press, 936 pp.
- Hardell L, Mild KH, Carlberg M. 2003. Further aspects on cellular and cordless telephones and brain tumours. *Int J Oncol* 22, 399-407.
- Hirai T, Nakamichi N, Yoneda Y. 2002. Activator protein-1 complex expressed by magnetism in cultured rat hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun* 292, 200-207.
- Hyland GJ. 2000. Physics and biology of mobile telephony. *Lancet* 356:9244, 1833-1836.
- ICNIRP Guidelines. 1998. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz). International Commission on Non-ionizing radiation protection. *Health Phys* 74:4, 494-522
- Ilhan A, Gure A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. 2004. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta* 340, 153-162.
- Irmak MK, Fadillioğlu E, Güleç M, Erdoğan H, Yağmurca M, Akyol Ö. 2002. Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 20: 279-283.
- Kula B, Sobczak A, Kuska R. 2002. Effects of electromagnetic field on free-radical process in steelworkers. Part 1: Magnetic field influence on the antioxidant activity in red blood cells and plasma. *J Occup Health* 44:4, 226-229.
- Lai H, Horita A, Guy AW. 1994. Microwave irradiation affects radial-arm maze performance in the rat. *Bioelectromagnetics* 15:2, 95-104.
- Lai H, Singh NP. 1996. Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int J Radiat Biol* 69, 513-521.

- Lai H, Singh NP. 2004. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ Health Perspect* 112, 687-694.
- Lai H. 1996. Spatial learning deficit in the rat after exposure to a 60 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 17:6, 494-496.
- Lai H. 2005. Biological effects of radiofrequency electromagnetic field. *Encyclop Biomater Biomed Eng*, 1-8. (Sem volume ou número).
- Lee B, Johng H, Lim J, Jeong JH, Baik KY, Nam TJ, Lee JH, Kim J, Sohn UD, Yoon G, Shin S, Soh K. 2004. Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study. *J Photochem Photobiol B* 73: 43-48.
- Lohmann CH, Schwartz Z, Liu Y, Li Z, Simon BJ, Sylvia VL, Dean DD, Bonewald LF, Donahue HJ, Boyan BD. 2003. Pulsed electromagnetic fields affect phenotype and connexin 43 protein expression in MOL-Y4 osteocyte-like cells and ROS 17/2.8 osteoblast-like cells. *J Orthop Res* 21, 326-334.
- Lönn S, Ahlbom A, Hall P, Feychting M. 2004. Mobile phone use and the risk of acoustic neuroma. *Epidemiology* 15:6, 653-659.
- Matsumoto H, Ochi M, Abiko Y, Hirose Y, Kaku T, Sakaguchi K. 2000. Pulsed electromagnetic fields promote bone formation around dental implants inserted into the femur of rabbits. *Clin Oral Implant Res* 11, 354-360.
- McLean MJ, Engström S, Holcomb RR, Sanchez D. 2003. A static magnetic field modulates severity of audiogenic seizures and anticonvulsant effects of phenytoin in DBA/2 mice. *Epilepsy Res* 55, 105-116.

- McNamee JP, Bellier PV, Gajda GB, Lavallée BF, Lemay EP, Marro L, Lemay E, Thansandote A. 2003. No evidence for genotoxic effects from 24 h exposure of human leukocytes to 1.9 GHz radiofrequency fields. *Radiat Res* 159, 693-697.
- McNamee JP, Bellier PV, Gajda GB, Miller SM, Lemay EP, Lavallée BF, Marro L, Thansandote A. 2002. DNA damage and micronucleus induction in human leukocytes after acute in vitro exposure to a 1.9 GHz continuous-wave radiofrequency field. *Radiat Res* 158, 523-533.
- Mello-Filho AC, Meneghini R. 1991. Iron is the intracellular metal involved in the production of DNA damage by oxygen radicals. *Mutat Res* 251, 109-113.
- Molen MAV, Donahue HJ, Rubin CT, McLeod KJ. 2000. Osteoblastic networks with deficient coupling: differential effects of magnetic and electric field exposure. *Bone* 27:2, 227-231.
- Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H, Koyu A, Uz E. 2005. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res* 36, 350-355.
- Ottani V, Raspanti M, Martini D, Tretola G, Ruggeri Jr A, Franchi M, Giuliani P, Ruggeri A. 2002. Electromagnetic stimulation on the bone growth using backscattered electron imaging. *Micron* 33, 121-125.
- Pacini S, Vannelli GB, Barni T, Ruggiero M, Sardi I, Pacini P, Gulisana M. 1999. Effect of 0.2 T static magnetic field on human neurons: remodeling and inhibition of signal transduction without genome instability. *Neurosci Lett* 267, 185-188
- Phillips JL, Haggren W, Thomas WJ, Ishida-Jones T, Adey WR. 1992. Magnetic field-induced changes in specific gene transcription. *Biochim Biophys Acta* 1132, 140-144.

- Quaglino D, Capri M, Ronchetti IP. 2000. Modulation of cell death in the rat thymus: light and electron microscopic investigations. *Ann N Y Acad Sci* 926, 79-82.
- Regoli F, Gorbi S, Machella N, Tedesco S, Benedetti M, Bocchetti R, Notti A, Fattorini D, Piva F, Principato G. 2005. Pro-oxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields in the land snail *Helix aspersa*. *Free Radic Biol Med* 39, 1620-1628.
- Richards PM, Persinger MA, Koren SA. 1996. Modification of semantic memory in normal subjects by application across the temporal lobes of a weak (1 microT) magnetic field structure that promotes long-term potentiation in hippocampal slices. *Electro Magnetobiol*, 15:2, 141-148.
- Richards TL, Lappin MS, Acosta-Urquidi J, Kraft GH, Heide AC, Lawrie FW, Merrill TE, Melton GB, Cunningham CA. 1997. Double-blind study of pulsing magnetic field effects on multiple sclerosis. *J Altern Complement Med* 3:1, 21-29
- Rogdestvenskaya Z, Tiras K, Srebnitskaya L, Lednev V. 2001. Modulation of regeneration of regeneration of planarians *Dugesia tigrina* (Platyhelminthes, Tricladida) by weak combined magnetic field. *Belg J Zool* 131 (Supplement 1), 149-150.
- Seaman RL, Belt ML, Doyle, JM, Mathur SP. 1998. Ultra-wideband electromagnetic pulses and morphine-induced changes in nociception and activity in mice. *Physiol Behav* 65:2, 263-270.
- Tattersall JEH, Scott IR, Wood SJ, Nettell JJ, Bevir MK, Wang Z, Somasiri NP, Chen X. 2001. Effects of low intensity radiofrequency electromagnetic fields on electrical activity in rat hippocampal slices. *Brain Res* 904, 43-53

- Timmel CR, Cintolesi F, Brocklehurst B, Hore PJ. 2001. Model calculations of magnetic fields effects on the recombination reactions of radicals with anisotropic hyperfine interactions. *Chem Phys Lett* 334, 387-395.
- Tsuchiya K, Okuno K, Ano T, Tanaka K, Takahaschi H, Shoda M. 1999. High magnetic field enhances stationary phase-specific transcription activity of *Escherichia coli*. *Bioelectrochemistry* 48, 383-387.
- Ultra high frequency electromagnetic field. 2006. <http://en.wikipedia.org/wiki/UHF>.
Acessado em 19/04/2006.
- Verschaeve L, Maes A. 1998. Genetic, carcinogenic and teratogenic effects of radiofrequency fields. *Mutat Res* 410, 141-165.
- Vijayalaxmi, Pickard WF, Bisht KS, Leal BZ, Meltz ML, Roti JLR, Straube WL, Moros EG. 2001. Cytogenetic studies in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (835.62 MHz, FDMA). *Radiat Res* 155, 113-121.
- Wertheimer N, Leeper E. 1979. Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 109, 273-384.
- Yokus B, Cakir DU, Akdag MZ, Sert C, Mete N. 2005. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radic Res* 39:3, 317-323.
- Yonemori K, Matsunaga S, Ishidou Y, Maeda S, Yoshida H. 1996. Early effects of electrical stimulation on osteogenesis. *Bone* 19:2, 73-180.
- Zeni O, Chiavoni AS, Sannino A, Forigo D, Bersani F, Scarfi MR. 2003. Lack of genotoxic effects (micronucleus induction) in human lymphocytes exposed in vitro to 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat Res* 160, 152-158.

Zmyślony M, Politanski P, Rajkowska E, Szymczak W, Jajte J. 2004. Acute exposure to 930 MHz CW electromagnetic radiation in vitro affects reactive oxygen species level in rat lymphocytes treated by iron ions. *Bioelectromagnetics* 25, 324-328.

Zwirska-Korczala K, Jochem J, Adamczyk-Sowa M, Sowa P, Planiak R, Birkner E, Latocha M, Pilc K, Suchanek R. 2005. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on cell proliferation, antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in 3T3-L1 preadipocytes – and in vitro study. *J Physiol Pharmacol* 56:6, 101-108.

ANEXOS

Na secção dos *Anexos* serão apresentados resultados de trabalhos que necessitam ser complementados quer em número amostral, quer em complementação de experimentos e estruturas. Como os resultados ainda não estão completos não será apresentada discussão para os mesmos e, portanto, não contam para a análise da Tese. A finalidade da apresentação destes *Anexos* é apresentar outros resultados obtidos que apesar de não comporem o corpo principal da tese forneceram sugestões para a construção dos modelos experimentais e a condução dos demais experimento.

ANEXO 1

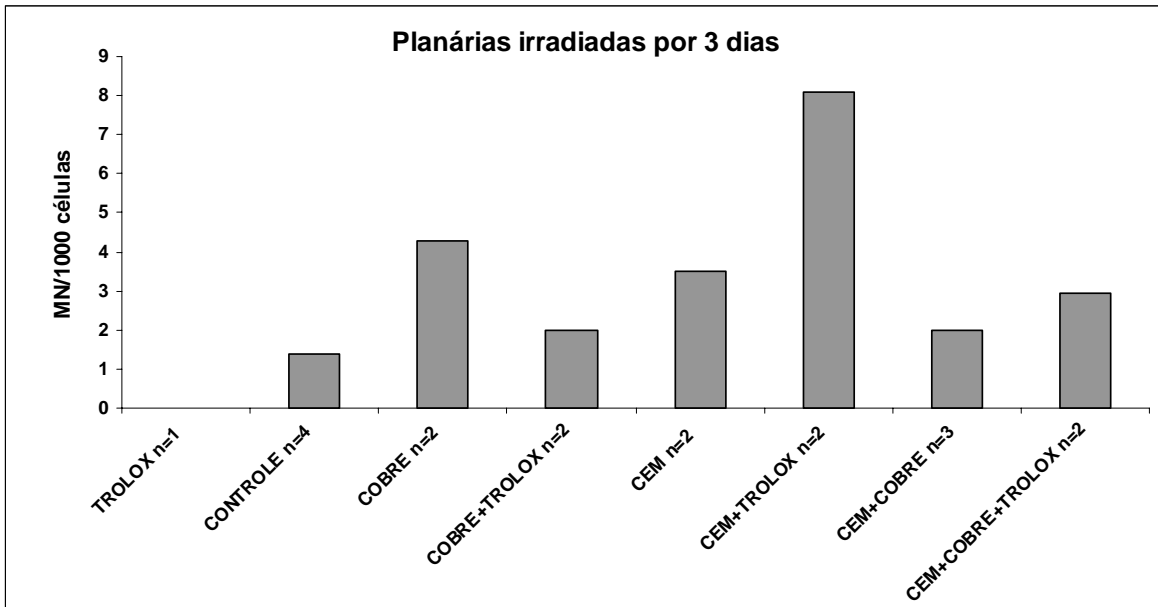


Figura 2. Frequência de micronúcleos (MN) após 3 dias de irradiação (8 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias de cada grupo. Cobre= sulfato de cobre (3 mM). Trolox= antioxidante, análogo artificial da vitamina E (0,1 M). CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 32 - 54 V/m; 85 - 140 mA/m; vertical polarization).

ANEXO 2

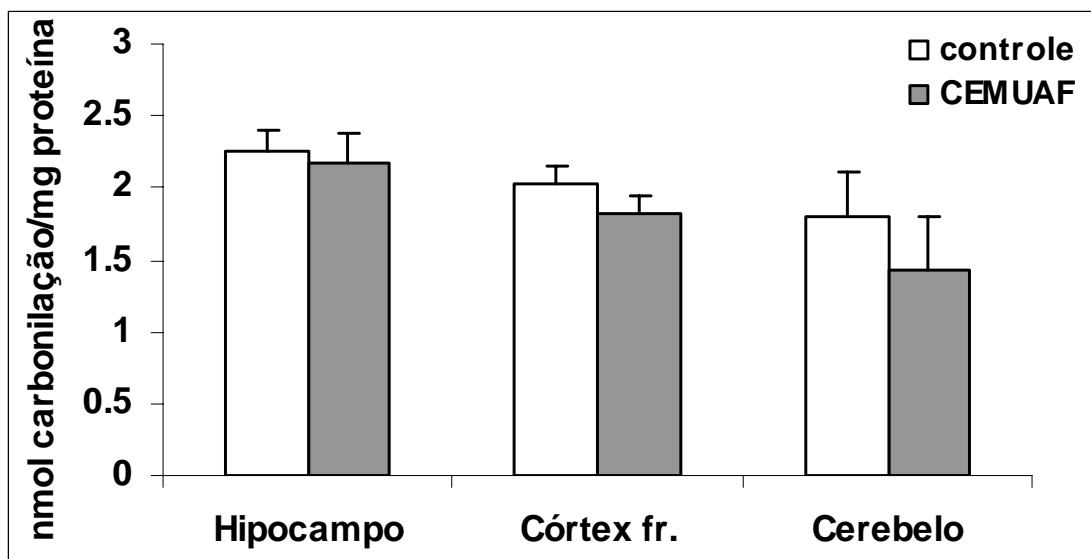


Figura 3. Dano oxidativo a proteínas. Formação de grupamento carbonil no hipocampo, córtex frontal (córtex fr.) e cerebelo em ratos neonatos (ver Capítulo 3) irradiados durante seu desenvolvimento embrionário (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). Controle-Hipocampo (n= 9). CEMUAF-Hipocampo (n= 7). Controle-Córtex (n= 9). CEMUAF- Córtex (n= 7). Controle-Cerebelo (n= 9). CEMUAF-Cerebelo (n= 7).

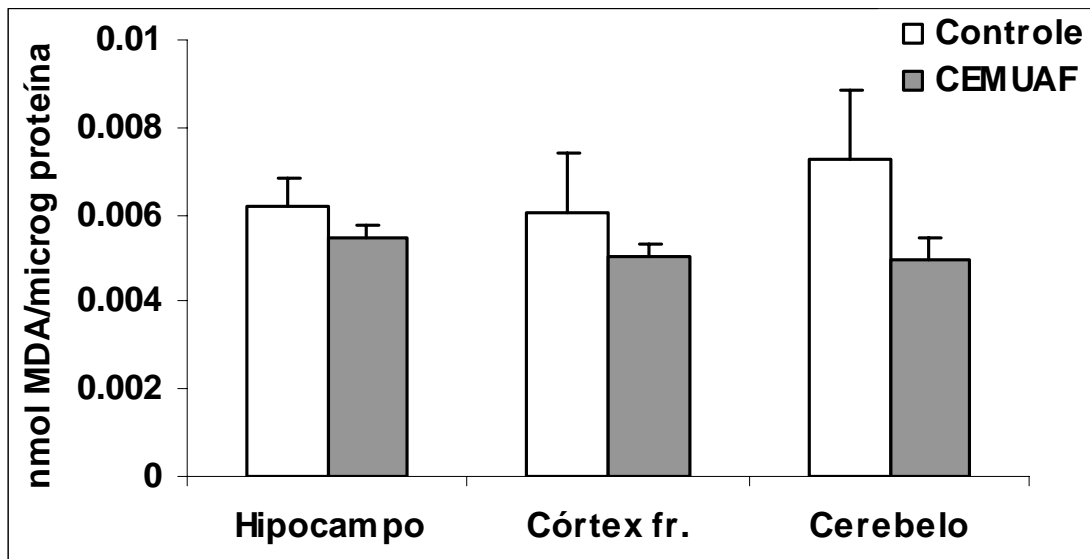


Figura 4. Dano oxidativo a lipídios. Formação de malondialdeído (MDA) no hipocampo, córtex frontal (córtex fr.) e cerebelo em ratos neonatos (ver Capítulo 3) irradiados durante seu desenvolvimento embrionário (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). Controle-Hipocampo (n= 9). CEMUAF-Hipocampo (n= 7). Controle-Córtex (n= 9). CEMUAF- Córtex (n= 7). Controle-Cerebelo (n= 9). CEMUAF-Cerebelo (n= 7).

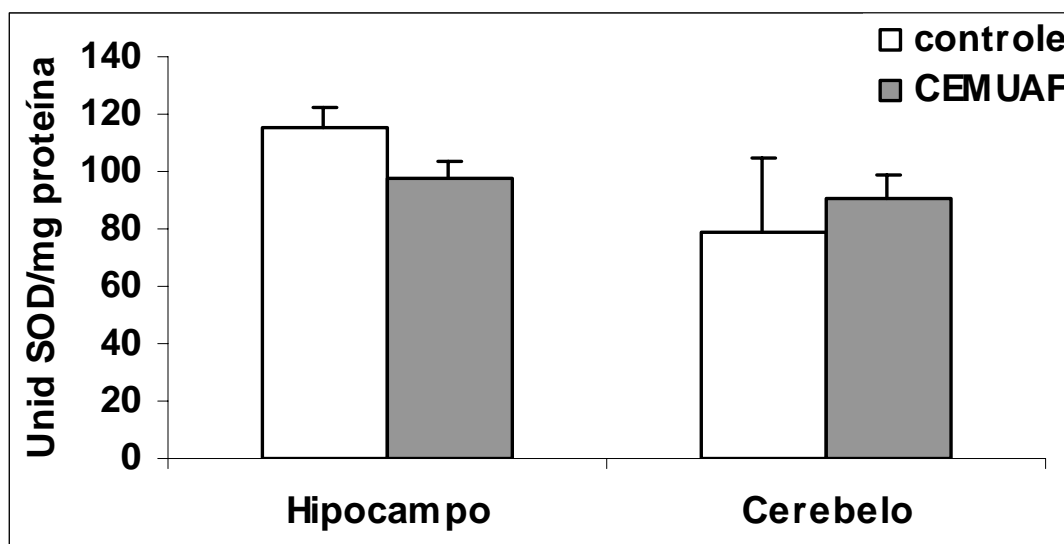


Figura 5. Atividade da superóxido desmutase (SOD) em ratos neonatos (ver Capítulo 3) irradiados durante seu desenvolvimento embrionário (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). Controle-Hipocampo (n= 6). CEMUAF-Hipocampo (n= 5). Controle-Cerebelo (n= 6). CEMUAF- Cerebelo (n= 5).

ANEXO 3

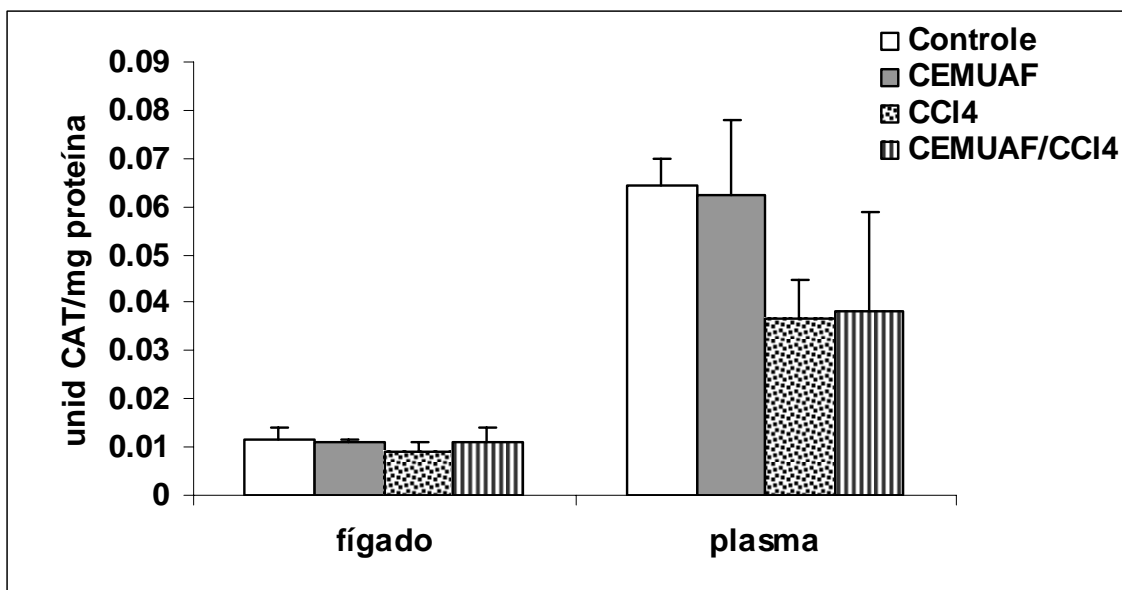


Figura 6. Atividade da enzima catalase (CAT) em ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). CCl₄= tetracloreto de carbono (1 mL/kg, i.p.) administrado 24 horas antes do fim da irradiação para induzir um leve aumento do estresse oxidativo no animal. Controle-fígado (n= 4). CEMUAF-fígado (n= 5). CCl₄-fígado (n= 4). CCl₄/CEMUAF- Cerebelo (n= 3).

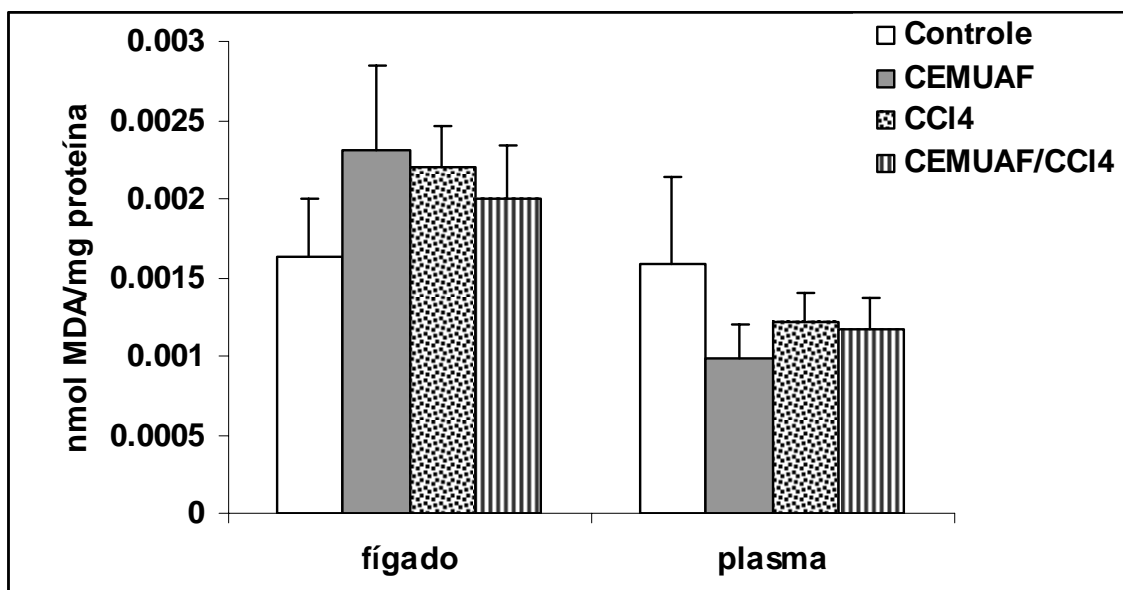


Figura 7. Dano oxidativo a lipídios. Formação de malondialdeído (MDA) em ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). CCl₄= tetracloreto de carbono (1 mL/kg, i.p.) administrado 24 horas antes do fim da irradiação para induzir um leve aumento do estresse oxidativo no animal. Controle-fígado (n= 10). CEMUAF-fígado (n= 10). CCl₄-fígado (n= 8). CCl₄/CEMUAF-Cerebelo (n= 8).

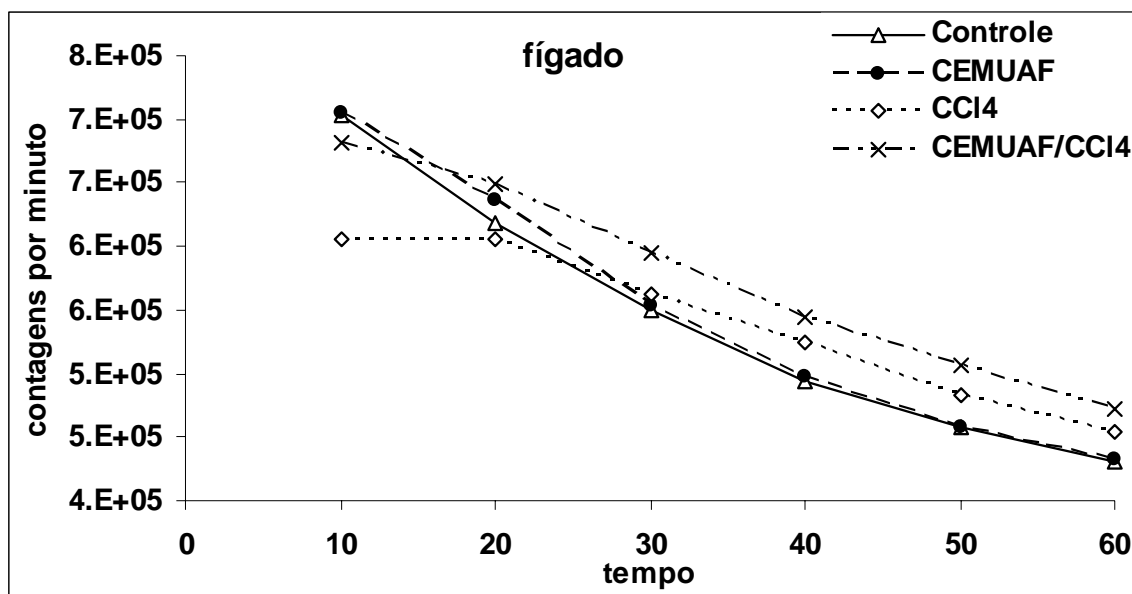


Figura 8. Defesa antioxidante não-enzimática no fígado de ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. As linhas representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). CCl₄= tetracloreto de carbono (1 mL/kg, i.p.) administrado 24 horas antes do fim da irradiação para induzir um leve aumento do estresse oxidativo no animal. Controle-fígado (n= 5). CEMUAF-fígado (n= 5). CCl₄-fígado (n= 4). CCl₄/CEMUAF- Cerebelo (n= 4).

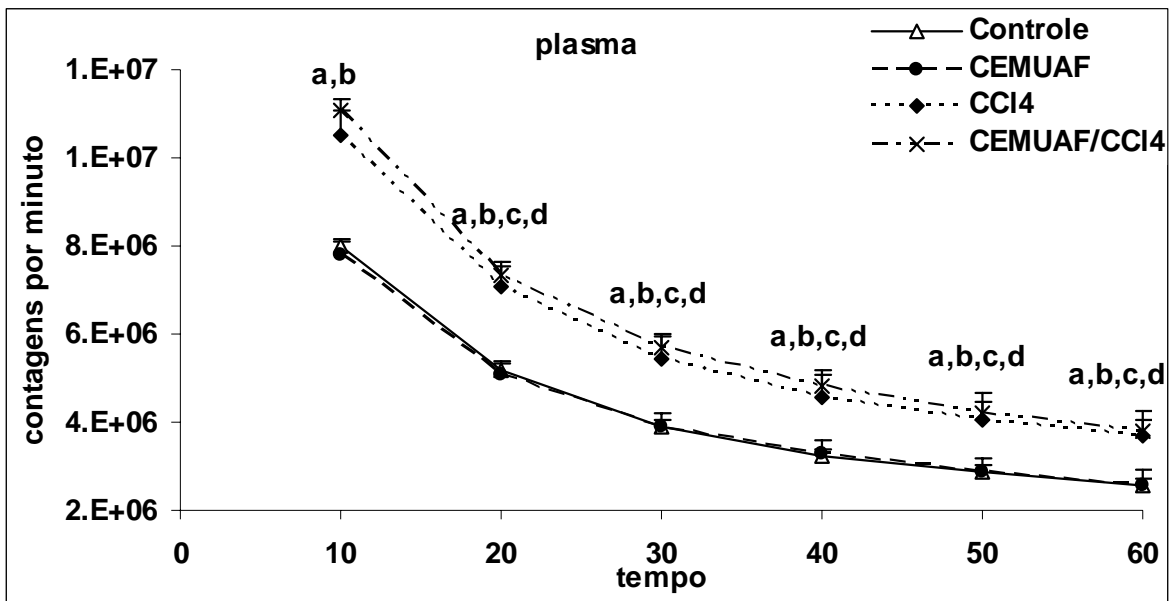


Figura 9. Defesa antioxidante não-enzimática no plasma de ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. As linhas representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). CCl₄= tetracloreto de carbono (1 mL/kg, i.p.) administrado 24 horas antes do fim da irradiação para induzir um leve aumento do estresse oxidativo no animal. Controle-figado (n= 5). CEMUAF-figado (n= 5). CCl₄-figado (n= 3). CCl₄/CEMUAF- Cerebelo (n= 4). **a**= diferença significativa entre os grupos *Controle* e *CCl₄* ($P \leq 0.05$). **b**= diferença significativa entre os grupos *Controle* e *CEMUAF/CCl₄* ($P \leq 0.05$). **c**= diferença significativa entre os grupos *CEMUAF* e *CCl₄* ($P \leq 0.05$). **d**= diferença significativa entre os grupos *CEMUAF* e *CEMUAF/CCl₄* ($P \leq 0.05$). Teste Tukey (*Post Hoc*).

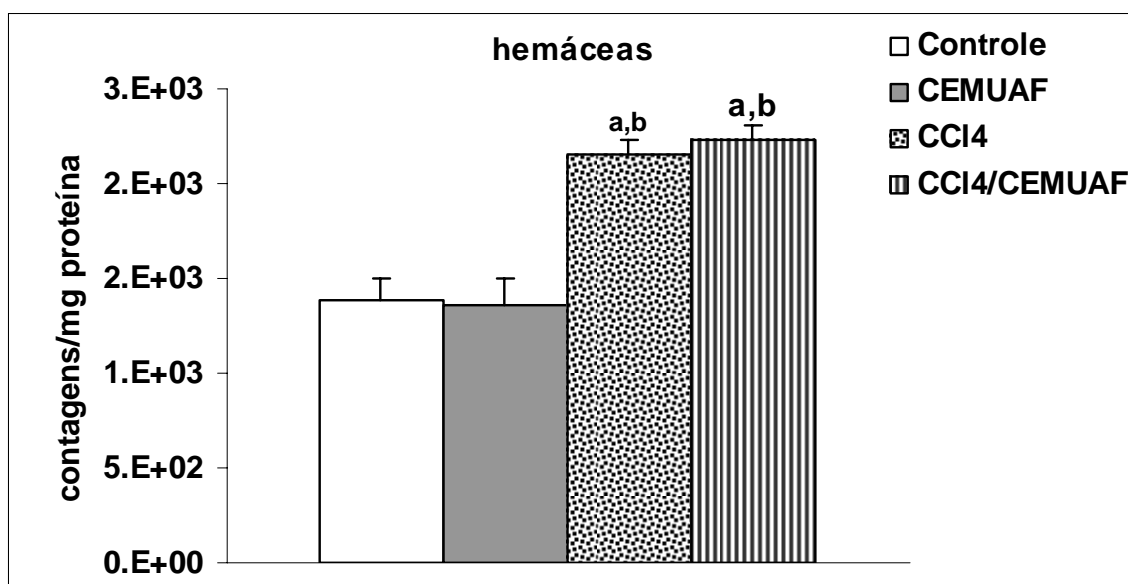


Figura 10. Quimioluminescência: A taxa total de pró-oxidantes do sangue foi avaliada pela quimioluminescência amplificada por terci-butil hidroperóxido (3mM). O homogenato de células foi diluído para uma concentração protéica final de 1 mg/mL. A quimioluminescência foi medida em cintilador como já descrito. Foram utilizados ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). CCl₄= tetracloreto de carbono (1 mL/kg, i.p.) administrado 24 horas antes do fim da irradiação para induzir um leve aumento do estresse oxidativo no animal. Controle-fígado (n= 5). CEMUAF-fígado (n= 5). CCl₄-fígado (n= 4). CCl₄/CEMUAF- Cerebelo (n= 4). **a**= diferença significativa entre os grupos *Controle* e *CCl₄* ($P \leq 0.05$). **b**= diferença significativa entre os grupos *Controle* e *CEMUAF/CCl₄* ($P \leq 0.05$). **c**= diferença significativa entre os grupos *CEMUAF* e *CCl₄* ($P \leq 0.05$). **d**= diferença significativa entre os grupos *CEMUAF* e *CEMUAF/CCl₄* ($P \leq 0.05$). Teste Tukey (*Post Hoc*).

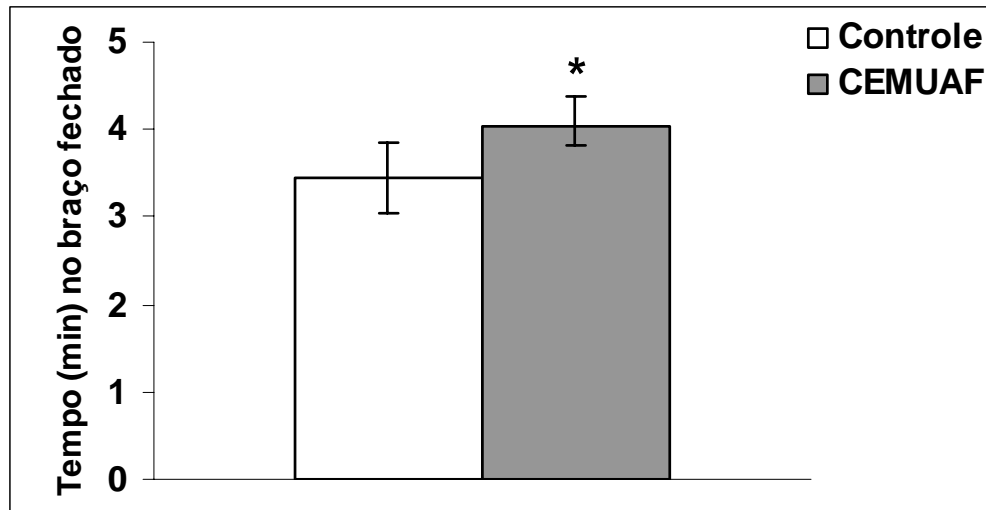


Figura 11. Tarefa comportamental Labirinto em Cruz Elevado em ratos adultos irradiados por 6 dias (8:30 h/dia) com CEMUAF. Durante cinco minutos cada rato foi colocado no centro de uma cruz de madeira com duas extremidades abertas e duas extremidades fechadas. O tempo analisado no qual o rato fica na extremidade fechada é considerado como parâmetro de ansiedade. As barras representam as médias e os erros-padrão de cada grupo. CEM= CEMUAF (600 mW peak; 834 MHz; 26.8 - 40 V/m; vertical polarization). Controle (n= 10). CEMUAF (n= 10). *= diferença significativa ($P \leq 0.05$), Teste Mann-Whitney “U”.

ANEXO 4

RESUMO PUBLICADO EM PERIÓDICO

Volume 36, Supplement 1, 2004

ISSN 0891-5849

Supplement to *Free Radical Biology & Medicine*



FREE RADICAL BIOLOGY & MEDICINE

**The Official Journal of the
Society for Free Radical
Biology and Medicine**

**An Affiliate Journal of
the International Society
for Free Radical Research**



SFRR's 12th Biennial Meeting

Program and Abstracts

**May 5–9, 2004
Crowne Plaza Panamericano Hotel
Buenos Aires, Argentina**



ELSEVIER

diseases may cause mental alterations. Our objective was to determine lipid peroxidation in liver and in different cerebral structures as well as to evaluate neurobehavioral alterations in cirrhotic rats. Adult Wistar, male rats were divided into 2 groups: Control: mineral oil, i.p and Cirrhotic: CCl₄ i.p (1:7 in mineral oil) for 135 days (Rhoden, 1991). Thirty days later the rats were decapitated to collect liver and brain for lipid peroxidation measurement (TBARS and Chemiluminescence). Other 2 groups of rats were submitted to behavioral (Open Field OF) and neurological evaluation. Statistical significance ($p < 0.05$). Cirrhotic rats presented higher lipid peroxidation [TBARS control 0.28 ± 0.03 and cirrhotic 0.38 ± 0.03 nmol MDA/mg protein; $p = 0.009$] in liver. In hippocampus, striatum and cerebellum [MDA] was increased 4 fold in cirrhotic rats ($p < 0.05$). Similar results were found when chemiluminescence was analyzed. Decreased central ambulatory activity in OF [control 9.75 ± 1.31 and cirrhotic 9.41 ± 1.43] and an impairment of nociceptive withdrawal reflex time [control 0.9 ± 0.18 and cirrhotic 1.9 ± 0.32 seconds] were observed in cirrhotic rats, $p < 0.05$. Our results suggest that rats with cirrhosis induced by CCl₄ presented behavioral and neurological alterations which may be modulated by oxidative stress.

Funded by: PIC- FFFCMPA – Brazil.

P19-254

EFFECTS OF ALCOHOLISM AND SMOKING COMBINATION ON RAT ANTIOXIDANT METABOLISM. AN EXPERIMENTAL STUDY DIRECTED TO AND DEVELOPED BY HIGH-SCHOOL STUDENTS IN UNIVERSITY ENVIRONMENT

D. F. P. Fuchs,^{1,4} A. Maslinkiewicz,^{1,2} A. V. M. Lucas,^{1,4} L. M. Leal,^{1,4} M. Wagner,^{1,4} T. Gomes Heck,^{1,2} D. J. Lagranha,¹ V. L. C. Dallacorte,² R. Curi,³ and P. I. Homem de Bittencourt, Jr.^{1,2,4}

¹Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, ²Fundação Faculdade Federal De Ciências Médicas de Porto Alegre, ³Universidade de Sao Paulo, ⁴Colégio Sinodal-Sao Leopoldo/RS, Brazil

Epidemiological studies have shown that smokers and alcoholics are prone to develop chronic-degenerative diseases. To implement a discussion on cigarette and alcohol consumption among high-school students, Wistar rats ($n = 4$) were exposed 30 min-duration daily, two cigarettes smoke for 45 days and the alcohol treatment was done by a 15%-ethanol solution. In a screening for oxidative stress the TBA-RS values, in nmol of MDA/mg of protein: the lung 92% greater in the chronic alcoholics smokers - GV vs that only smoke - GII ($0,28 \pm 0,01$) $P = 0,262$; and the stomach values the GV was bigger 2,42 times vs the acute alcoholics smokers rats - GIV, 2,19 times bigger than chronic alcoholics rats - GIII ($0,26 \pm 0,01$) $P = 0,158$. The Chemiluminescence (CL) induced by tert-butyl-hidroperoxide, in cpm/mg of protein: the stomach 6,63 times bigger than GIV and 4,24 times when compared with the group GV vs GI (6098 ± 3081) and these 13 times and 8,34 times bigger when compared with the group GIII $P = 0,090$; kidneys of GIV 1,23 times bigger and the GV 1,18 times vs GI ($99300 \pm$

5398) $P = 0,001$. This study shows to the students the risks of these associations can increase the pathophysiological disturbances.

Financial support: FAPERGS-Brazil; CNPq-Brazil; PIBIC-UFRGS-Brazil; PRONEX- Brazil; Colégio Sinodal – São Leopoldo – RS – Brazil.

P19-255

EFFECTS UPON THE OXIDATIVE METABOLISM OF THE *Girardia tigrina* AFTER EXPOSURE TO A NON-THERMIC ULTRA HIGH FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELD (UHF-EMF)

A. R. Ferreira,¹ T. Knakievicz,¹ M. Rudnicki,¹ G. A. Behr,¹ R. B. de Oliveira,¹ F. Dal-Pizzol,¹ J. H. Corrêa Kanan,¹ C. Fernandez,¹ H. B. Ferreira,¹ and J. C. Fonseca Moreira¹

¹Brazil

The putative oxidant effects of Ultra High Frequency Electromagnetic Fields (UHF-EMFs) in living organisms are little known. Some authors have reported changes on cellular signaling and oxidative metabolism after exposure to Low Frequency-EMFs. In addition, planarians are known as bioindicators for pollutant agents (e.g., oxidative agents) and could be a good model to assess the possible UHF-EMF biological effects. We therefore estimated the effect of exposure to a cellular telephone UHF-EMF (834 MHz, 32–54 V/m) by 1, 3 or 6 days (8 hours/day) on some oxidative indexes of planarians. We used the TBARS, carbonil and neoblats micronucleus (MN) production to access lipid and protein damage and genotoxicity, respectively. The superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined spectrophotometrically and the non-enzymatic antioxidant defense was evaluated by TRAP assay. We observed an increase in SOD activity and a decrease in both antioxidant non-enzymatic defense and CAT activity after 6-days exposure. Additionally, an increase in the MN frequency after 3 and 6-days exposure was observed. However, no change in lipid and protein damage indexes was verified. These data suggest an increase of the free radical production by cellular telephone exposure, but more studies aiming to highlight our findings are necessary.

P19-256

FORMATION OF REDOX ACTIVE NANOSELENIUM ON REACTION OF RONS WITH SELENOUREA, A KNOWN RADIOPROTECTOR

I. Priyadarsini,¹ B. Mishra,¹ and H. Mohan¹

¹Scientific Officer G., India

Selenium compounds participate in redox reactions and selenium is an important micronutrient. Selenourea is an important radioprotector. Since ROS and RNS are produced under stress conditions, an important radioprotector or an antioxidant must exhibit ability to neutralize the biological effects of these free radicals. With this aim, in