

INVESTIGAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE CONTAMINANTES AQUÁTICOS EM CÉLULAS HEPG2

Aline Flor Silva¹, Rafael Rodrigues Dohl²

¹Autor, Curso de Ciências Biológicas, Universidade Luterana do Brasil – ULBRA

²Orientador



UFRGS
PROPEAQ

XXV SIC
Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

Atividades antrópicas, como descargas de esgotos domésticos e industriais têm acelerado o processo de eutrofização das águas, principalmente pelo aporte de fósforo e nitrogênio, resultando na ocorrência de florações de cianobactérias. Esses eventos de florações causam, entre outros efeitos, a alteração do gosto e odor da água em função da emissão dos metabólitos 2-metilisoborneol (2-MIB) e geosmina no ambiente aquático. Considerando a escassez de informações relativas a ação biológica destes contaminantes, o presente estudo avaliou a atividade citotóxica e mutagênica dos compostos 2-MIB e geosmina usando o ensaio MTT e o teste de micronúcleos (MN) com bloqueio da citocinese (CBMN - Citoma), em células de hepatoma humano (HepG2).

OBJETIVO

Avaliar a ação citotóxica e mutagênica dos compostos MIB e geosmina, usando o ensaio MTT e o teste de micronúcleos com bloqueio da citocinese (CBMN), em células de hepatoma humano (HepG2).

MATERIAL E MÉTODOS

ENSAIO MTT – ensaio colorimétrico analisado através da função mitocondrial.

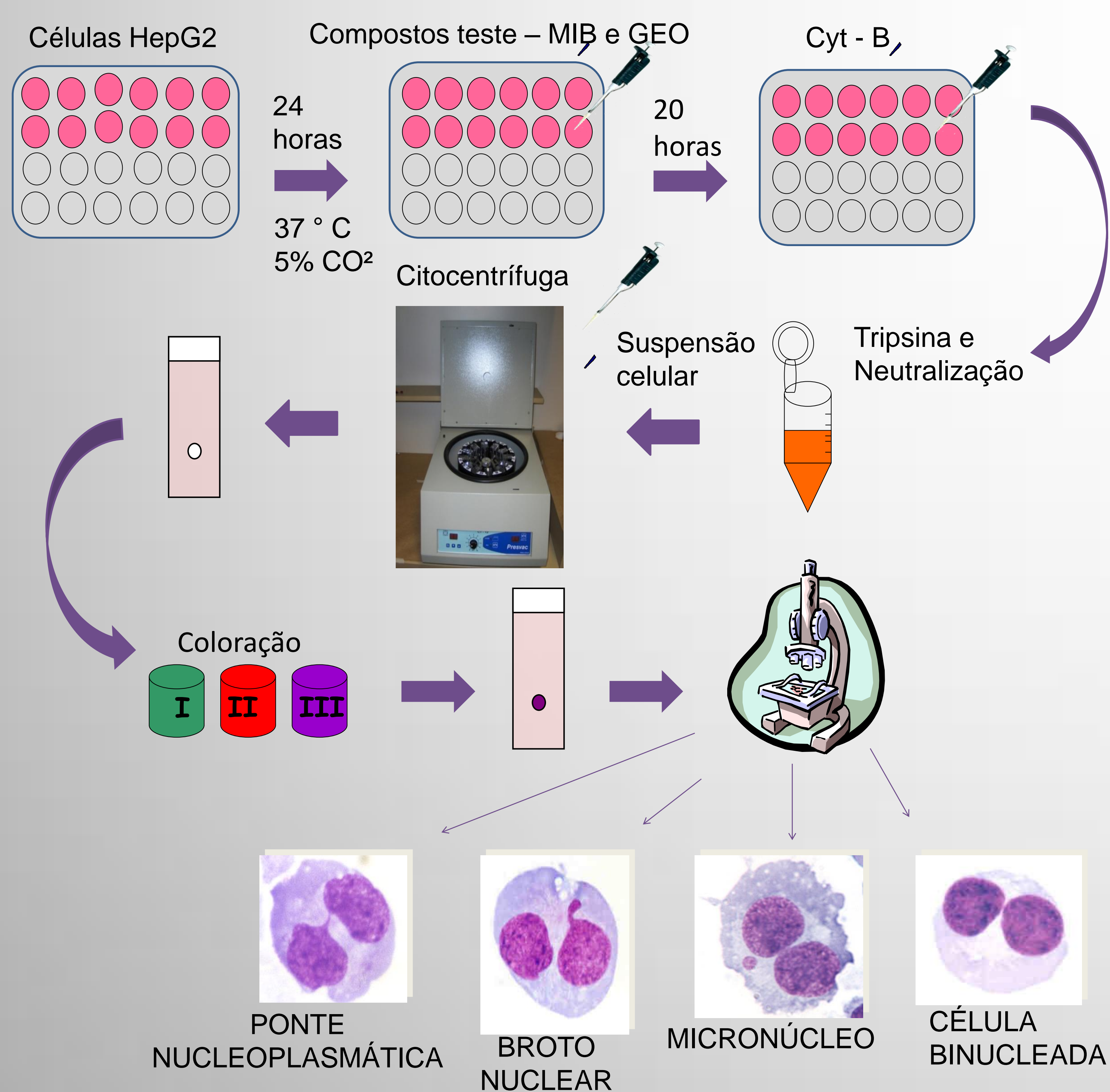


Sal tetrazoato

Cristais insolúveis de formazan

Solubilizados e quantificados por densidade óptica em espectrofotômetro de placa

TESTE DE MICRONÚCLEOS - a escolha das concentrações a serem utilizadas no ensaio CBMN-Citoma foi realizada através ensaio MTT. Neste sentido, foram empregadas as doses de 25, 15, 30 e 60 ppm de MIB.



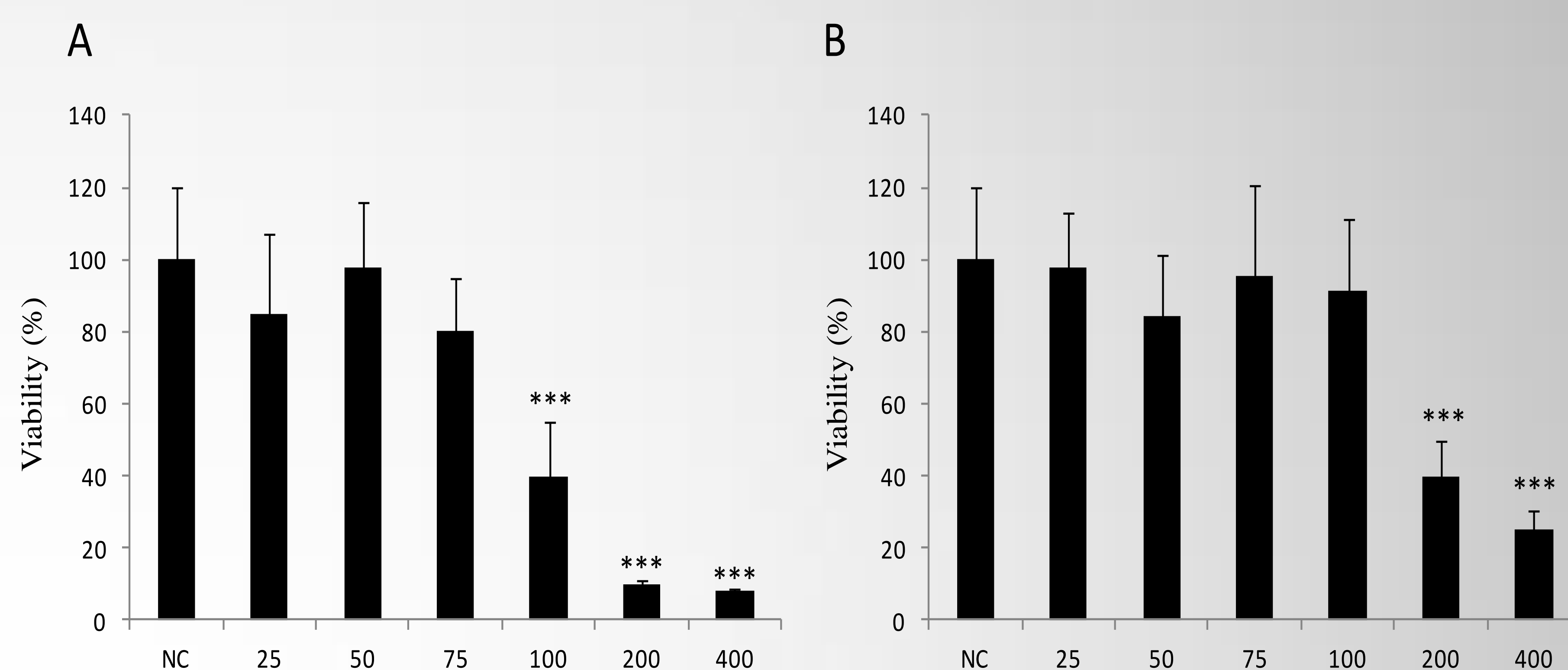
CONCLUSÃO

No Ensaio MTT, os resultados demonstram que a viabilidade foi significativamente reduzida apenas quando as células HepG2 foram expostas a altas concentrações de 2-MIB (100, 200 e 400 ppm) e GEO (200 e 400 ppm), em comparação ao grupo controle negativo (DMSO 1%).

No Teste de Micronúcleos, os resultados demonstraram que 2-MIB e GEO não induziram aumentos significativos nas frequências de MNi, PN e BN em células HepG2 expostas às concentrações de 12,5 -100 ppm de 2-MIB e 12,5 – 75 ppm de GEO.

Portanto, considerando que as concentrações avaliadas nestes estudos estão muito acima daquelas observadas no ambiente, com intensa floração, eventos de citotoxicidade pela exposição a 2-MIB e GEO não devem ser esperados.

RESULTADOS



Efeitos de GEO (A) e 2-MIB (B) (25 - 400 ppm) sobre a viabilidade das células HepG2. EMS – Controle Positivo.

Denota diferença significativa entre o grupo controle sem tratamento (NC) e as células tratadas com GEO e 2-MIB (One-way ANOVA, teste de comparação múltipla de Dunnett).

Tabela 1. Teste de Micronúcleos com Bloqueio da Citocinese avaliando GEO e 2-MIB em células HepG2.

| Treatments | MNi ^a | BNMNi ^a | NPBs ^a | NBUDs ^a |
|--------------------|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| NC | 13.5 ± 5.3 | 12.5 ± 4.5 | 5.0 ± 2.3 | 5.0 ± 2.5 |
| PC | 30.5 ± 8.8*** | 28.5 ± 7.2*** | 13.0 ± 2.8* | 12.5 ± 3.0* |
| GEO (ppm) | | | | |
| 12.5 | 7.5 ± 2.2 | 7.5 ± 2.2 | 5.0 ± 2.4 | 4.5 ± 1.3 |
| 25 | 11.0 ± 4.0 | 10.0 ± 3.8 | 6.0 ± 1.8 | 7.0 ± 3.3 |
| 50 | 17.5 ± 4.2 | 16.5 ± 4.0 | 9.0 ± 2.0 | 6.5 ± 3.2 |
| 75 | 16.0 ± 7.2 | 15.0 ± 6.7 | 7.5 ± 2.6 | 9.0 ± 3.1 |
| 2-MIB (ppm) | | | | |
| 12.5 | 9.5 ± 3.6 | 8.5 ± 3.3 | 5.5 ± 2.8 | 9.0 ± 2.1 |
| 25 | 13.0 ± 3.3 | 11.0 ± 3.8 | 6.5 ± 3.8 | 9.0 ± 2.8 |
| 50 | 17.0 ± 4.3 | 16.0 ± 4.2 | 8.0 ± 3.4 | 8.0 ± 3.2 |
| 75 | 18.0 ± 7.0 | 16.5 ± 6.3 | 7.5 ± 3.3 | 7.0 ± 4.3 |
| 100 | 13.5 ± 4.0 | 13.5 ± 4.0 | 6.0 ± 3.0 | 10.0 ± 4.8 |

^a Os valores são a média ± desvio padrão.

* Significativamente diferente do grupo de controle negativo (P <0,05).

*** Significativamente diferente do grupo controle negativo (P <0,001).

NC: controle negativo, PC: controle positivo (B [a] P 30 M), MNi: micronúcleos, BNMNi: células binucleadas com micronúcleos, NPBs: pontes nucleoplasmáticas, NBUDs: brotos nucleares.

Nenhuma das concentrações causou aumento significativo nas frequências de MNi, PN e BN.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Huang, W.J., Lai, C.H., Cheng, Y.L. (2007). Evaluation of extracellular products and mutagenicity in cyanobacteria cultures separated from a eutrophic reservoir. Science of the Total Environment 377, 214-223.

Fenech, M. (2006). Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutation Research 600, 58-66.



MODALIDADE
DE BOLSA

PIBIC/CNPq