

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

**Atrazina reduz a expressão de genes imunológicos em macrófagos de jundiás.**

**AUTOR PRINCIPAL:** Lucas de Figueiredo Soveral

**CO-AUTORES:** Karina Kirsten

**ORIENTADOR:** Luiz Carlos Kreutz

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo.

## INTRODUÇÃO:

O uso de herbicidas para controle de plantas invasoras se tornou um alicerce da agricultura moderna e o atrazine (ATR) é uma das moléculas mais empregada com essa finalidade. Consequentemente, o ATR tem sido detectado com frequência como contaminante de águas e solos em diversas regiões, colocando em risco atividades aquícolas e as espécies cultivadas. Em jundiás (*Ramdia quelen*) a exposição ao ATR reduz os mecanismos inatos de defesa e a capacidade de sobreviver a infecções por patógenos ambientais. Identificar os mecanismos que atuam prejudicando o sistema imune de peixes é necessário para elucidar os impactos ambientais causados pelo uso indiscriminado de agroquímicos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a expressão de genes reguladores da resposta imunológica em macrófagos de jundiás expostos in vitro ao ATR.

## DESENVOLVIMENTO:

Para a realização do estudo foram utilizados três jundiás juvenis provenientes do setor de piscicultura do CEPAGRO da Universidade de Passo Fundo. Os animais foram submetidos a eutanásia e os rins foram coletados sob condições assépticas, para posterior isolamento de leucócitos mononucleares. Os leucócitos foram obtidos após a maceração do tecido renal por êmbulo de seringa em peneira de nylon e lavagens em meio RPMI (sem antibióticos) com 1% de heparina. As células renais passaram por

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



centrifugação e foram separadas dos leucócitos pelo método de gradiente de Percoll. Posteriormente, procedeu-se o cultivo dos leucócitos isolados em placas de 24 cavidades (50 milhões de células por cavidade) utilizando meio RPMI. Esses cultivos foram expostos a concentrações de 1 e 10 µg/ml de atrazine pelo tempo de 24 horas. Leucócitos expostos apenas ao solvente e não expostos foram aplicados como controle. O RNA total foi extraído por meio do kit comercial RNeasy® Mini Kit (QIAGEN, Holanda), seguindo as instruções do fabricante. O cDNA foi sintetizado utilizando o kit SuperScript® III Reverse Transcriptase (INVITROGEN, EUA). Foram selecionados primers degenerados para amplificação parcial de genes específicos como o fator alfa de necrose para tumores (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), mieloperoxidase, IRAK4 e Mx, seguido do sequenciamento dos nucleotídeos dos genes para, posteriormente, com base na sequência obtida, fazer a seleção dos primers para PCR em tempo real. Os fragmentos de DNA obtidos com os primers degenerados foi clonado no vetor pGEM easy vector (PROMEGA) e utilizados para aferir a eficiência da amplificação. A expressão do gene da Mx estava reduzido ( $p < 0.05$ ) em jundiás expostos à 10 e 1 µg/ml de ATR; a expressão de IRAK4 estava reduzida no grupo exposto a 10 µg/ml de ATR e a expressão do gene do TNF- $\alpha$  estava reduzida no grupo exposto a menor concentração de ATR (1µg/ml). A expressão do gene da IL-1 $\beta$  não foi alterada. Os genes avaliados são centrais na imunidade inata: a enzima mieloperoxidase está envolvida com o mecanismo de fagocitose e destruição de bactérias enquanto que o gene Mx atua como mediador da imunidade inata e anti-viral. O TNF- $\alpha$  e o IRAK4 são importantes no processo inflamatório. Esses resultados comprovam observações prévias do nosso grupo de pesquisa que indica que o ATR causa imunossupressão em peixes e indica, em nível molecular, os mecanismos envolvidos na imunossupressão. Em resumo, podemos concluir que o ATR reduz a expressão de genes imunológicos e deprime os mecanismos inatos de defesa, reduzindo a capacidade do peixe em resistir ao desafio bacteriano.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A agricultura moderna é dependente de um uso contínuo de herbicidas. Ao mesmo tempo, a intensificação na demanda e produção de peixes gera preocupação com a presença dessas moléculas na água. A diminuição da expressão de genes imunológicos mostra que o cultivo de peixes em águas com resíduos de atrazina é prejudicial ao



# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO  
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



sistema imune dos animais. Ademais, esse estudo é pioneiro em demonstrar o efeito in vitro de um herbicida na expressão gênica de células cultivadas de jundiá.

## REFERÊNCIAS:

Kreutz LC, Gil Barcellos LJ, Marteninghe A, Davi dos Santos E, Zanatta R. Exposure to sublethal concentration of glyphosate or atrazine-based herbicides alters the phagocytic function and increases the susceptibility of silver catfish fingerlings (*Rhamdia quelen*) to *Aeromonas hydrophila* challenge. *Fish and Shellfish Immunol.* 2010 Oct;29(4):694–7

Kreutz LC, Frandoloso R, Kirsten K, Canova R, Soveral L, Friedrich M. Reduced expression of selective immune-related genes in silver catfish (*Rhamdia quelen*) monocytes exposed to atrazine. *Fish and Shellfish Immunol.* 2017 Mar; (64):78-86

**NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa):** 008/2015.

## ANEXOS:

Poderá ser apresentada somente uma página com anexos (figuras e/ou tabelas), se necessário.