



Efeito do cobre sobre o sistema purinérgico em larvas de zebrafish (*Danio rerio*)

Lucas de Oliveira Maboni^{1,2}, Fernanda Bueno Morrone^{2,3} (orientador).

¹ Faculdade de Ciências Biológicas, ² Faculdade de Farmácia, ³ Instituto de Toxicologia e Farmacologia, da PUCRS.

O sistema imunológico do zebrafish (*Danio rerio*) apresenta grande similaridade com o do ser humano, tornando o uso deste teleósteo uma importante ferramenta para estudos pré-clínicos. O cobre é um metal essencial de grande importância fisiológica que, em altas concentrações, está associado ao estresse oxidativo e a inibição de enzimas presentes no sistema purinérgico (Rosemberg *et al.*, 2007). Os objetivos do estudo foram investigar o efeito do cobre nas atividades das ecto-nucleotidases (ATPase, ADPase, AMPase), bem como padronizar um modelo de avaliação toxicológica em larvas de zebrafish. Para estes fins foram avaliadas as atividades destas enzimas e a presença de células apoptóticas em larvas de 3 a 7 dias pós fertilização. Nos ensaios enzimáticos das ecto-nucleotidases os grupos experimentais utilizados foram: grupo controle e tratado com 10 μM de sulfato de cobre, expostos durante 4 e 24 horas. Os experimentos foram realizados com $n=4$ para cada grupo (cada n com um *pool* de 35 larvas). A atividade enzimática foi avaliada pela liberação de fosfato e hidrólise de nucleotídeos em HPLC. Observou-se uma diminuição na atividade AMPásica nos animais tratados com sulfato de cobre quando comparado com o controle ($p<0.05$). Não houve diferença significativa nas atividades ATPásica e ADPásica dos animais tratados. Para a avaliação da toxicidade do cobre foi realizada a marcação de apoptose em neuromastos (células ciliadas sensoriais muito sensíveis da linha lateral do peixe), através da marcação com laranja de acridina. Os experimentos foram realizados utilizando um $n=10$, com larvas expostas durante 1, 2, 4 e 24 h ao cobre. A marcação tecidual foi quantificada com o programa de quantificação IMAGE J[®], o qual calcula a densidade de pixels por área de foto delimitada. Uma vez

que os neuromastos sofreram lesões severas, a marcação apresentou um pico após 1 h de exposição e, posteriormente, devido à destruição celular a marcação foi reduzida gradativamente. Diante dos resultados obtidos pelos ensaios enzimáticos, e estudos previamente realizados com o modelo, pode se observar que a inibição na atividade das enzimas teve relação com a exposição do animal ao sulfato de cobre. A marcação tecidual pelo laranja de acridina ainda está em fase de padronização.