

ANÁLISE DE FRAGMENTOS DE PLANÁRIAS REGENERANTES (*Girardia tigrina*) EM AMBIENTE DE HIPERGRAVIDADE

Pinto, R. C. B.,¹ Lopes, K. A. R.,² Campos Velho, N. M. R. Campos Velhoⁿ

¹Universidade do Vale do Paraíba-UNIVAP/Laboratório de Planárias, Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova – São José dos Campos/ SP, rocaricatto@yahoo.com.br

Resumo- A gravidade é um efeito permanente na superfície do planeta e os sistemas biológicos estão adaptados para conviver sob este efeito, entretanto a ausência ou baixa gravidade provoca alterações nos organismos. As planárias são macroinvertebrados indicadores biológicos e apresentam uma significativa capacidade regenerativa. O presente trabalho objetivou analisar o efeito da hipergravidade de 3.3x g sob o processo regenerativo de *Girardia tigrina*. Os exemplares foram divididos em: controle o qual não foi submetido ao ambiente de hipergravidade e grupo experimental. As planárias foram mensuradas, amputadas e novamente mensuradas, sendo posteriormente submetidas durante 9 dias a um ambiente de hipergravidade em uma centrífuga com temperatura a 15°C. Após esse período os animais foram mensurados. Os resultados da análise comparativa entre todos os fragmentos verificou-se que houve diferença significativa entre os indivíduos controle e experimental (ANOVA, F=(3,116)=4,523, p<0,05).

Palavras-chave: ambiente extremo. processo regenerativo. planárias límnicas.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Todos os seres vivos vivem expostos em constante gravidade de 1x g (KOYAMA et al., 2008). O aumento da gravidade pode causar alterações na homeostase de células dos organismos que são submetidos a essa condição, qualquer gravidade acima de 1x g pode ser considerada hipergravidade, pois o animal deve se adaptar a um peso maior rapidamente (BOURG, 2009).

Estudos com hipergravidade são realizados com diferentes espécies de animais. Entretanto, ainda não se sabe qual a influência dessa alteração sobre o processo regenerativo de planárias. As planárias são macroinvertebrados indicadores biológicos de vida livre e podem ser encontradas em ambientes: dulcícolas, terrícolas e marícolas. *Girardia tigrina* (Girard, 1850) vive em águas lânticas, presa às raízes de macrófitas ou sob pedras e tem uma distribuição cosmopolita (GARCIA, 2007). Esses animais são caracterizados por apresentarem a epiderme pigmentada, cabeça triangular com dois ocelos, aurículas, aberturas do poro faríngeo e poro genital localizados na superfície ventral do animal (ADELL; CEBRIÁ; SALÓ, 2010). São animais hermafroditas e a reprodução pode ocorrer de forma sexuada ou assexuada (PREZA, 1995). Evolutivamente é o primeiro animal a incorporar um sistema excretor, sistema digestório e gânglios cerebroides, uma concentração de células

nervosas, capazes de coordenar movimentos e comportamentos simples (REDDIEN; ALVARADO, 2004).

O processo regenerativo proporciona a restituição anatômica e a integridade funcional do tecido (CORREA, 2000). Todo o procedimento regenerativo se realiza em tecidos onde existem células estáveis, isto é, células que apresentam a capacidade de se regenerar (DURAN, 2009). A regeneração em planárias envolve uma série de processos similares àqueles que ocorrem durante o desenvolvimento normal. Após a dilaceração ou amputação, os neoblastos, isto é, células totipotentes presente em todo tecido de sustentação das planárias, fecham a ferida e proliferam, dando origem ao blastema (ou cone de regeneração). Estudos demonstram as diferentes formas de regeneração em ambientes com características diversificadas neste grupo animal (ALVARADO; TSONIS, 2006).

O presente trabalho objetivou verificar a influência da hipergravidade no processo regenerativo em planárias dulcícolas (*Girardia tigrina*).

Material e Métodos

Os exemplares foram coletados junto a macrófitas, no trecho do Rio Paraíba do Sul, localizado na cidade de Jacareí/SP e transportados ao laboratório do Centro de Estudos

da Natureza, e posteriormente triadas e mantidas em recipientes plásticos com água não clorada.

Foram selecionados 60 exemplares com morfologia perfeita, no qual foram divididos em dois grupos, um grupo controle e grupo experimental. Os animais foram anestesiados sobre um bloco de gelo, com a superfície coberta com papel filtro, evitando que o animal ficasse aderido ao gelo, e ventralmente sobre o papel (CAMPOS-VELHO, 2004). A amputação foi realizada na região pós-auricular com o auxílio de um bisturi.

As planárias foram mensuradas, amputadas e novamente mensuradas, sendo posteriormente submetidas durante nove dias a um ambiente de hipergravidade de (3.3x g) em uma centrífuga com refrigerada a 15°C. Os fragmentos do grupo controle foram mantidos em ambiente com as mesmas condições do grupo experimental. Após os nove dias os exemplares do grupo controle e experimento foram novamente mensurados.

Para verificar se ocorreu diferença no crescimento dos fragmentos em indivíduos submetidos a ambiente de hipergravidade utilizou-se análise de variância (ANOVA), com aplicação do teste a *posteriori* de Tukey (valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos).

Resultados

Os resultados obtidos demonstram que ocorreu regeneração nos fragmentos submetidos a hipergravidade (Fig. 1 e 2).

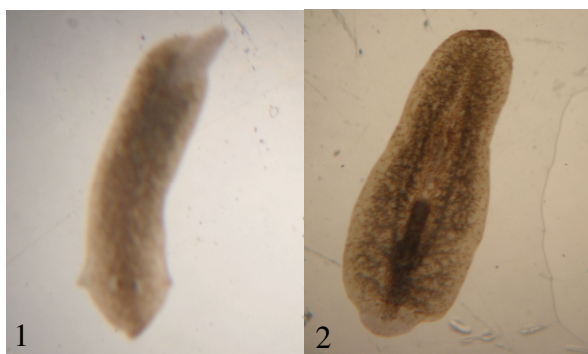
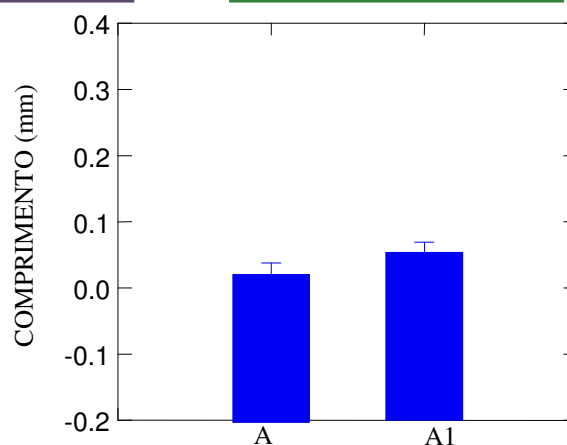


Figura 1: Regeneração do fragmento posterior.
Figura 2: Regeneração do fragmento anterior.

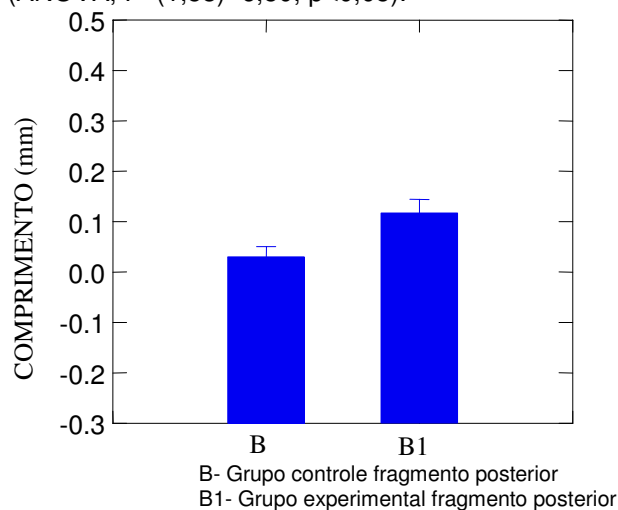
A análise comparativa de crescimento dos fragmentos anteriores (controle e experimental) (Fig. 3) indicou que não houve diferença significativa entre os fragmentos anteriores regenerantes e controle (ANOVA, $F=(1,58)=2,01$, $p > 0,05$).



A – Grupo controle fragmento anterior
A1- Grupo experimental fragmento experimental

Figura 3: Análise comparativa da regeneração entre os fragmentos de cabeça do grupo controle e experimento.

Em relação ao crescimento dos fragmentos posteriores (experimental e controle) (Fig. 4), indica que houve diferença significativa entre os fragmentos posteriores regenerantes e controle (ANOVA, $F=(1,58)=6,50$, $p < 0,05$).



B- Grupo controle fragmento posterior
B1- Grupo experimental fragmento posterior

Figura 4: Análise comparativa do processo regenerativo entre os fragmentos posteriores do grupo controle e experimental.

A análise comparativa entre os fragmentos demonstrou que houve diferença significativa entre os indivíduos do grupo controle e experimental (ANOVA, $F=(3,116)=4,523$, $p < 0,05$) (Fig. 5).

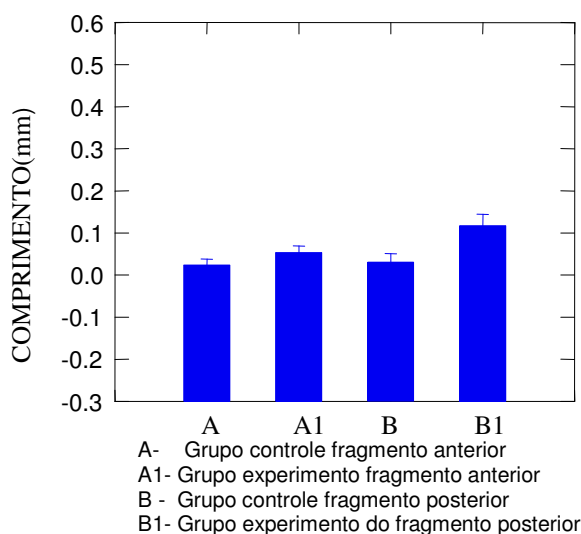


Figura 5: Análise comparativa entre os fragmentos.

Discussão

Os fragmentos posteriores (corpo) e anteriores (cabeça) foram submetidos à ambiente de hipergravidade (3.3 x g) durante nove dias, tempo este utilizado em experimentos com outros organismos. Os resultados obtidos mostraram que houve regeneração entre os fragmentos do grupo controle e experimental. Porém os fragmentos anteriores do grupo experimental não apresentaram diferença significativa do processo de regeneração se comparado com os fragmentos do grupo controle.

O mesmo não ocorreu com o fragmento corpo do grupo experimento, onde o processo regenerativo em ambiente de hipergravidade se mostrou melhor estabelecido do que o grupo controle. Segundo Bourg; Toffin; Massé (2004) um estresse pode perturbar a homeostase do organismo, mas não necessariamente o leva a morte.

De acordo com Saló; Baguna (1984), o índice mitótico é maior na região caudal do que na região da cabeça em espécies de planárias *G. tigrina*, corroborando com os resultados do presente trabalho, onde os fragmentos corpo do grupo controle e experimento demonstraram melhor desempenho na regeneração das partes amputadas. Segundo Sivickis (apud ADELL; CEBRIÁ; SALÓ, 2010) em geral, planárias amputadas em qualquer nível ao longo do eixo anteroposterior pode regenerar a cabeça, porém, a taxa de regeneração da cabeça diminui posteriormente.

Para o ambiente de hipergravidade ocorre influência no processo regenerativo de planárias

G. tigrina, porém as alterações ocorridas não impedem que o processo regenerativo ocorra.

Conclusão

A partir do objetivo proposto e resultados obtidos conclui-se que:

- Ocorre o processo de regeneração em planárias *G. tigrina* submetidas em ambiente de hipergravidade.

- Os fragmentos anteriores do grupo controle e experimental não indicam variação significativa (ANOVA, $F=(1,58)=2,01$, $p>0,05$).

- Para fragmentos posteriores do grupo controle e experimental houve variação significativa no processo regenerativo (ANOVA, $F=(1,58)=6,50$, $p<0,05$).

- A análise comparativa entre todos os fragmentos do grupo controle e experimento (ANOVA, $F=(3,116)=4,523$, $p<0,05$).

- Experimentos adicionais se fazem necessários, uma vez que existem raros trabalhos a respeito de avaliação regenerativa em organismos animais.

Agradecimentos

As Professoras Mestre Karla Andressa Ruiz Lopes e Prof^a Dr^a Nádia Maria Rodrigues Campos Velho, por me orientar.

A prof^a Dr^a Cristina Pacheco por autorizar laboratório de Cultura de Células para a realização de parte do experimento.

As estagiárias do Borboletário e do laboratório de Fisiologia e Farmacologia, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse estudo.

Referências

- ADELL, T.; CEBRIÁ, F.; SALÓ, E. **Gradients in Planarian Regeneration and Homeostasis**. Department of Genetics and Institute of Biomedicine, University of Barcelona, 2010. Disponível em: <<http://cshperspectives.cshlp.org/content/2/1/a000505.full>>. Acesso em: 29 mar. 2010.

- ALVARADO, A. S.; TSONIS, P. A. **Bridging the regeneration gap: genetic insights from diverse animal models**, Nature Reviews/Genetics, vol 7, 2006, Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrg/journal/v7/n11/pdf/nrg1923.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2010.

- BOURG, E. L. **Hormesis, aging and longevity**. Biochimica et Biophysica Acta Université Paul-

Sabatier, France, 2009. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science>>. Acesso em: 21 ago. 2010.

- BOURG, E. L.; TOFFIN, E.; MASSÉ, A. **Male *Drosophila melanogaster* flies exposed to hypergravity at young age are protected against a non-lethal heat shock at middle age but not against behavioral impairments due to this shock**, Received 10 May 2004; accepted in revised form 6 July 2004 Keywords. Disponível em:<<http://www.springerlink.com/content/wv05x112651h5j87/fulltext.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2010.

- CAMPOS - VELHO, N.M.R. **Morfologia e Morfometria: um estudo comparativo do desenvolvimento de olhos em regenerantes de três espécies do gênero *Dugesia* (Turbellaria, Paludicola, Dugesidae)**. Braz. J. Biol. vol.64 no.1 São Carlos Feb. 2004. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15169842004000100002>. Acesso em: 9 abr. 2010.

- CORREA, L. **Disciplina de Patologia Geral do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**. 2000. Disponível em:<<http://www.fo.usp.br/lido/patoartegeral/patoarterepa2.htm>>. Acesso em: 11 set. 2010.

- DURAN, I. **Modelos de Regeneração**. Contratado predoctoral de la Universidad de Málaga, (LABRET) Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Facultad de Ciencias, 2009. Disponível em:<www.encuentros.uma.es/encuentros122/Regeneracion.pdf>. Acesso em: 29 de mar. 2010.

- GARCIA N. M. R et al. **Tempo de formação dos ocelos em regenerantes de *Dugesia tigrina*: Estudos prospectivo em organismos submetidos à radiação laser**. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Brasil, 2006. Disponível em:<http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2006/epg/07/EPG00000565_OK.pdf>. Acesso em: 27 mar. 2010.

- KOYAMA, T. et al. **Hypergravity induces ATP release and actin reorganization via tyrosine phosphorylation and RhoA activation in bovine endothelial cells**, 2008. Disponível em:<<http://www.springerlink.com/content/yk2038v683g74t37/fulltext.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2010.

- PREZA, D. L. C. ***Girardia tigrina* (Girard, 1850) : Aspectos Biológicos e Seu Emprego em Testes de Toxicidade**. Salvador, 1995. 77 p. Mestrado em Produção Aquática. Universidade Federal da Bahia. 1995. Disponível em:<<http://www.qualibio.ufba.br/074>> Acesso em: 06 abr. 2010.

- REDDIEN, P. W.; ALVARADO, A. S. **Fundamentos of Planarian Regeneration**. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2004. First published online as a Review in Advance on July 2, 2004. Disponível em:<http://people.physics.illinois.edu/Selvin/PRS/498IBR/Planarian%20Regeneration_annurev.cellbio.2004.Reddien.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2010.

- SALÓ, E.; BAGUNA, J. **Regeneration and pattern formation in planarians I. The pattern of mitosis in anterior and posterior regeneration in *Dugesia (G) tigrina*, and a new proposal for blastema formation**. J. Embryol. exp. Morph. 83, 63-80 (1984). The Company of Biologists Limited 198, Departament de Genetica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Spain. Disponível em:<<http://dev.biologists.org/content/83/1/63.full.pdf>>. Acesso em: 02 set. 2010.

XVINIC

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica

XI EPG

Encontro Latino Americano
de Pós Graduação

VINIC Jr

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica Júnior