



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

## Estudo Comparativo entre Biosensor UV e Mínima Dose Eritematosa no Sul do Brasil

Rampelotto, P.H.<sup>1,2</sup>; Freitas, S.L.<sup>1,2</sup>; Rosa, M.B.<sup>1</sup>; Schuch, N.J.<sup>1</sup>; Pinheiro, D.K.<sup>2</sup>; Munakata, N.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, Santa Maria – RS.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.

<sup>3</sup>Universidade de Rikkyo, Tóquio – Japão.

E-mail para contato: pabulobio@gmail.com

A radiação solar é essencial para a vida na superfície da Terra, mas paradoxalmente é também um fator de estresse ambiental para os seres vivos. Trabalhos têm mostrado que desde a década de 70 a concentração de ozônio estratosférico tem decrescido em média de 0,5% ao ano para todas as latitudes nas regiões extra-tropicais, devido a emissões antropogênicas de derivados de clorofluorcarbonos. Deste então, a média global de incidência de radiação UV-B (280- 320 nm) tem aumentado em torno de 5%<sup>1</sup>. No sul do Brasil, as pessoas além de estarem expostas a altas doses de radiação, apresentam abundância de pele clara, extremamente sensível à radiação UV-B<sup>2</sup>. Os dados causados pela radiação UV sobre a saúde humana incluem desde queimaduras leves na pele até lesões irreversíveis no DNA gerando câncer<sup>3</sup>. Dessa forma, o desenvolvimento de sistemas de monitoramento e medição da radiação solar UV biologicamente ativa é de fundamental importância.

Entre os métodos biológicos citados e propostos na literatura, o uso de biosensor baseado na inativação de esporos de *Bacillus subtilis* apresenta várias propriedades adequadas para sua utilização como um dosímetro solar biológico, incluindo sua simplicidade e facilidade de uso e transporte, estável armazenamento prolongado bem como um espectro de ação bem definido.

Tentativas de aplicar este dosímetro sob várias condições ambientais têm sido bastante estudadas na última década<sup>4</sup> e comparações com dosímetros físicos têm sido realizadas<sup>5</sup>, geralmente com a dose de radiação sendo determinada em minutos. Por outro lado, seu comportamento por longo período de tempo, sob diferentes e adversas condições climáticas, ainda permanece desconhecido.

Nesse contexto, desde 2000, o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, em Parceria com a Universidade Federal de Santa Maria e a Universidade de Rikkyo, do Japão, vêm monitorando a radiação biologicamente ativa usando dosimetria física e biológica. O objetivo geral deste trabalho é validar a utilização do biossensor, o qual pondera diretamente os componentes da radiação UV solar incidente na superfície terrestre, para se estimar os riscos da radiação eritematosa na saúde humana. Para tanto, exposições mensais de esporos de *Bacillus subtilis* TKJ6312, na forma de Doses de Inativação de Esporos (SIDs) são comparadas com dados de irradiância solar obtidas pelo Espectrofotômetro Brewer, ponderadas para o espectro de ação de Eritema. Neste trabalho são apresentados os primeiros resultados de oito anos de tais análises (2000-2007) realizadas no Observatório Espacial do Sul (29.4°S, 53.8°O), São Martinho da Serra – RS.

A dosimetria de esporos consiste da utilização de esporos de *B. subtilis* TKJ6312<sup>6</sup>. Devido à deficiência de ambos os mecanismos de reparo do DNA, Reparo por Excisão de Nucleotídeos e Liase SP, os esporos desta cepa geneticamente modificada são hipersensíveis à radiação UV. Neste método, quatro amostras contendo cerca de 10<sup>6</sup> esporos/ml de *B. subtilis* TKJ6312 são adicionadas em um filtro de membrana, das quais duas amostras são cobertas com cartão preto para servirem como controle não exposto. A cada exposição mensal à radiação solar, a SID foi determinada como o logaritmo natural negativo da fração de sobrevivência:  $SID = -\ln(N_e/N_c)$ , onde,  $N_e$  e  $N_c$  representam o número de unidades formadoras de colônia para as amostras expostas e controle, respectivamente<sup>6</sup>.

O Espectrofotômetro Brewer é o mais sofisticado instrumento científico que realiza medidas de radiação ultravioleta solar a cada comprimento de onda, de 280 a 400nm, incluindo as faixas UV-B e UV-A. Os dados de radiação UV-B disponibilizados pelos Brewer foram ponderados com o Espectro de Eritema (MED), simulando a sensibilidade da pele humana ao UV-B (280-320nm), utilizando o software UVBREWER, versão 2.1<sup>5</sup>. Este



dosímetro apresenta um esquema de calibração com lâmpadas-padrão externas, em média, a cada 15 dias.

Para o efeito da radiação solar sobre a pele humana, que pode provocar queimaduras e até câncer de pele, utiliza-se o espectro de ação de eritema de McKinlay & Diffey<sup>7</sup>. O espectro de ação é determinado através de experimentos em laboratório que analisam o efeito biológico de diferentes comprimentos de onda de radiação. Realizando-se a convolução entre a irradiância absoluta e o espectro de ação obtém-se a irradiância ponderada. A radiação ponderada para o espectro de ação de McKinlay-Diffey é denominada neste trabalho de radiação UV-B Eritematosa, medida em MED, que é a quantidade de energia mínima capaz de causar um eritema na pele, sendo esta definição válida para o foto-tipo de pele humana mais sensível à radiação solar.

Comparações de SID mensal com medidas mensais de radiação UV-B Eritematosa (MED), obtidas através do Espectrofotômetro Brewer, foram realizadas com o objetivo de obter a caracterização do método biológico quando utilizado para se avaliar a sensibilidade humana a radiação UV-B. Como esperado, a variação temporal da radiação solar UV biologicamente ativa, medida como SID mensal, apresenta um caráter marcadamente sazonal associado ao ciclo anual do ângulo solar zenital. O perfil temporal e os valores, tanto de SID quanto de MED apresentaram expressiva similaridade para todo o período analisado, sob diversas condições climáticas. Através de uma regressão linear um significativo coeficiente de correlação ( $r \sim 0,89$ ,  $p < 0,0001$ ) entre estas medidas foi obtido. Esta correlação é considerada boa em face de que são comparados dados obtidos por dois métodos completamente diferentes: o físico (Espectrofotômetro Brewer) e o biológico (biosensor).

Estes resultados demonstram a potencial aplicação do biosensor para o monitoramento das mudanças sazonais na radiação solar UV-B na superfície terrestre e ratificam de forma satisfatória sua utilização na determinação de doses biologicamente ativa. A equação resultante da correlação entre SID e MED permite se estimar, através da dosimetria biológica de esporo, as doses de radiação solar UV-B sobre a saúde humana.

## Referências

1. Rozema, J.; Boelen, P.; Blokker, P. (2005). Depletion of stratospheric ozone over the Antarctic and Arctic: Responses of plants of polar terrestrial ecosystems to enhanced UV-B, an overview. *Environmental Pollution*, 137: 428-442.
2. Corrêa, M. P.; Dubuisson, P.; Plana-Fattori, A. (2003). An overview of the UV index and the skin cancer cases in Brazil. *Photochemistry and Photobiology*, 78: 49-54.
3. Gruijl, F. R. (1997). Health effects from solar UV radiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 78: 177-196.
4. Munakata, N.; Morohoshi, F.; Hieda, K.; Suzuki, K.; Furusawa, Y.; Shimura, H.; Ito, T. (1996). Experimental correspondence between spore dosimetry and spectral photometry of solar ultraviolet radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 63: 74-78.
5. Schuch, A. P.; Guarnieri, R. A.; Rosa, M. B.; Pinheiro, D. K.; Munakata, N.; Schuch, N. J. (2006). Comparisons of biologically effective doses of solar UV-radiation determined with spore dosimetry and spectral photometry in 2000–2003 at Southern Space Observatory, Brazil. *Advances in Space Research*, 37: 1784-1788.
6. Munakata, M.; Kazadzis, S.; Bias, A. F.; Hieda, K.; Rontó, G.; Rettberg, P.; Horneck, G. (2000). Comparisons of spore dosimetry and spectral photometry of solar UV radiation at four sites in Japan and Europe. *Photochemistry and Photobiology*, 72: 739-745.
7. McKinley, A.F.; Diffey, B.L. (1987). A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin. *CIE Journal*, 6: 17-22.