



AVALIAÇÃO DE DANO CELULAR OXIDATIVO CAUSADO POR PARAQUAT E POTENCIAL AÇÃO PROTETORA DA ERVA MATE

Morgane Goudinho Brito¹, Patrícia Rizzi Vieira², Thais dos Santos da Costa³, Josiane Woutheres Bortolotto⁴, Mariana Migliorini Parisi⁵, Gabriela Azzolin Bonfanti⁶.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Antioxidante. Radicais livres. Peroxidação lipídica.

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os agrotóxicos são um problema de saúde pública no Brasil e no mundo, devido ao grande número de pessoas expostas, segundo os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), nos últimos anos houve um aumento de 139% nas notificações de intoxicações por agrotóxicos, sendo o Paraquat (PQ) um dos principais agentes notificados (BRASIL, 2018). A intoxicação por PQ está associada a altas taxas de mortalidade devido a sua toxicidade sobre diversos órgãos, o estresse oxidativo é induzido pela produção de espécies reativas de oxigênio e reações de oxidação-redução que formam radicais livres (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Desta forma, cresceu a busca por alimentos benéficos a saúde como a erva-mate, os antioxidantes presentes no extrato da planta tem sido alvo de pesquisas, sugerindo um papel importante da erva mate no tratamento e prevenção de processos patológicos relacionados com o estresse oxidativo (FERRERA et al., 2016). A partir do exposto construiu-se a hipótese de que o uso contínuo da erva mate pode ser capaz de controlar danos biológicos causados por PQ. Portanto, este estudo objetivou avaliar os danos oxidativos celulares provocados por PQ e os possíveis efeitos protetores da erva mate.

¹ Discente do curso de Biomedicina, da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: britomorgane@gmail.com

² Graduada no curso de Biomedicina, da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: patirizzi1@gmail.com

³ Graduada no curso de Biomedicina, da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: thais.coosta@outlook.com

⁴ Pesquisadora do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Saúde - GIPS, e do Grupo de Pesquisa em Atenção Integral à Saúde, Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br

⁵ Pesquisadora do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Saúde - GIPS, e do Grupo de Pesquisa em Atenção Integral à Saúde, Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: mparisi@unicruz.edu.br

⁶ Pesquisadora do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Saúde - GIPS, e do Grupo de Pesquisa em Atenção Integral à Saúde, Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: gbonfanti@unicruz.edu.br



2 MATERIAIS E MÉTODOS

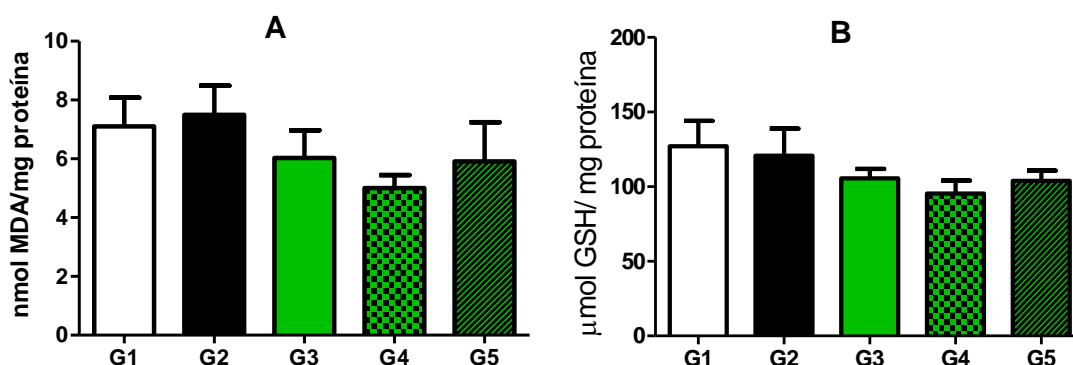
Foram selecionadas para participar do estudo sete pessoas saudáveis, destas foram coletados 20 mL de sangue venoso periférico, das amostras foram isoladas as células mononucleares de sangue periférico (PBMC), em seguida foram centrifugadas e lavadas duas vezes com solução salina tamponada de fosfato (PBS), as amostras possuíram viabilidade superior a 95%. No preparo do material vegetal, as folhas foram secas em estufa, trituradas em moinho de facas e submetidas à maceração hidroetanólica (EtOH:H₂O 3:2, v/v). O líquido extrativo teve então o solvente totalmente evaporado resultando em um extrato hidroetanólico de erva mate em pó (EHEM).

As amostras de leucócitos (n=7) foram pré-expostas á EHEM (100 - 250µg/mL), incubadas em banho Maria a 37°C e posteriormente expostas ao PQ (1mM) em banho-maria com agitações, sendo após realizadas as análises dos biomarcadores. O nível de lipoperoxidação foi determinado através da medida das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (BUEGE; AUST, 1978). A produção de grupamentos tiólicos proteicos (P-SH) foi determinada utilizando tampão fosfato de potássio (TFK) e adição reagente de cor (DTNB) para leitura em espectrofotômetro a 412 nm. Os dados foram expressos por µmol GSH/ mg proteína, baseados em uma curva de calibração com glutathione (GSH) (BOYNE; ELLMAN, 1972). Para a mensuração das concentrações de proteínas totais foi empregada a técnica descrita por Lowry (1951). (Lowry et al.,1951). Os resultados foram expressos por média ± DP, as diferenças foram avaliadas utilizando ANOVA, seguida de teste de Tukey e os valores com $p \leq 0,05$ considerados significativamente diferentes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em estudos que avaliam os danos celulares causados por herbicidas, destaca-se o método TBARS, procedimento introduzido por Buege e Aust (1978), que avalia o nível de peroxidação lipídica que pode ser iniciada por oxidantes. O perfil fitoquímico da erva mate contém xantinas e polifenóis, que são compostos fenólicos com efeitos antioxidantes. Assim pode ser usada como uma forma de prevenção e inibição da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo, causadas pela intoxicação por PQ (FERRERA et al., 2016). Observou-se que as amostras expostas ao PQ apresentaram um leve aumento de peroxidação lipídica e o EHEM demonstrou uma tendência a diminuir esse efeito (Figura 1A).

Figura 1 – Efeito do PQ e do EHEM na peroxidação lipídica (A) e grupamentos tiólicos celulares (B).



A - Efeito do PQ (1mM) e EHEM sob nível de lipoperoxidação. B - Efeito do PQ (1mM) e EHEM sob nível de composto tiólicos não proteicos. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey expressos como média \pm erro padrão da média (n=7). Grupo G1= controle, G2= PQ 1mM, G3= EHEM 250 μ g/ml, G4= EHEM 100 μ g/ml + PQ 1mM, G5= EHEM 250 μ g/ml + PQ 1mM.

Para evitar o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica, o organismo apresenta defesas antioxidantes como os compostos tiólicos que contêm em sua estrutura o grupamento – SH, entre estes compostos estão a glutatona, a cisteína e as proteínas tiólicas, que desempenham um papel crucial na defesa antioxidante (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). O presente estudo demonstrou que a exposição ao PQ 1mM não provocou diminuição significativa do nível de grupamentos tiólicos celulares, da mesma forma que o EHEM não foi capaz de protegê-los da ação do PQ (Figura 1B). Assim, sugere-se que outros mecanismos de defesa antioxidante podem ser consumidos primeiramente no mecanismo oxidativo do PQ.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do estudo demonstraram que a concentração de PQ usada no modelo experimental escolhido não foi eficiente em provocar dano oxidativo em leucócitos, a erva mate apresentou uma tendência a diminuir a peroxidação lipídica, porém sem diferença significativa, assim, mostrando a necessidade de adequação do modelo experimental utilizado, como por exemplo, as concentrações de EHEM, o período de incubação das amostras e o número de amostras testadas. Da mesma forma, o GSH não apresentou aumento com o uso de EHEM, sugerindo que outros mecanismos de defesa antioxidante podem ser consumidos primeiramente em uma intoxicação por PQ. Assim, esse estudo servirá de base para estudos futuros que esclareçam o mecanismo de ação tóxica do PQ e o mecanismo protetor do EHEM agrotóxicos.



REFERÊNCIAS

UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA. **Manual de Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Universidade de Cruz Alta - Unicruz**. Cruz Alta: Unicruz, 2018. Disponível em: <<https://home.unicruz.edu.br/comissao-editorial/#manual-editorial>>. Acesso em: 10 set. 2019.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.L. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo**. Química Nova, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006. Disponível em: < http://quimicanova.s bq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=2404>. Acesso em: 05 set. 2019.

BOYNE, A.F.; ELLMAN, G.L. **A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components**. Analytical Biochemistry, v. 46, p. 639–53, 1972. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4623507>>. Acesso em: 08 set.2019.

BRASIL, **Sistema de Informação de Agravos de Notificação**. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/>>, Acesso em: 04 set. 2019.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. **Microsomal lipid peroxidation**. *Methods in Enzymology*, v. 52, p. 302–310, 1978. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/672633>>. Acesso em: 04 set. 2019.

FAGUNDES, A. et al. **Ilex Paraguariensis: composto bioativos e propriedades nutricionais na saúde**. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, v. 9, n. 53, p. 213-222, 2015. Disponível em: <<http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/394>>. Acesso em: 05 set. 2019.

FERRERA, T. S. et al. **Phenolic Substances, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in Herbs under Different Soil Covers and Shadings**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 18, n. 2, p. 588-596, 2016. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n2s1/1516-0572-rbpm-18-2-s1-0588.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2019.

LOWRY, O. H. et al. **Protein measurement with the Folin phenol reagent**. J. Biol. Chem., 193-265, 1951. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14907713>>. Acesso em: 04 set. 2019.