



AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE MARCADORES OXIDATIVOS APÓS EXPOSIÇÃO DE ERITROCITOS DE AGRICULTORES AO EXTRATO DAS FLORES DA *Calendula officinalis* L. (ASTERACEAE)

MORI, Natacha Cossetin¹; OLIVEIRA, Caroline de², KOEFENDER, Jana³; GOLLE, Diego Pascoal⁴; BORTOLOTTTO, Josiane⁵; PICCININI, Marcela⁶; HORN, Roberta Cattaneo⁷

Palavras-Chave: Marcadores Oxidativos. Agricultores. Calêndula.

Introdução

A família Asteraceae é composta por diversas plantas de conhecimento e uso popular, muitas são utilizadas na forma de infusão. A *Calendula officinalis* é uma das plantas pertencentes a esta família, a parte utilizada é a inflorescência e seu uso vai desde culinária até terapêutico (SILVA; ANDRADE, 2013).

A calêndula contém ácido oleanólico na forma de aglicona de saponinas triterpenóides, denominados glicosídeos e glucoronídeos. Glucoronídeos do ácido oleanólico extraído das flores são relativamente não tóxicos, sendo utilizado em muitas formulações cosméticas e farmacêuticas. Estes compostos apresentam ação hemolítica, fungistática, antibacteriana e antiparasitária. O ácido oleanólico livre tem importância medicinal, apresentando atividade antiulcerogênica, anti-inflamatória, antitumoral, hepatoprotetora, hipoglicemiante e anti-HIV (WIKTOROWSKA *et al.*, 2010).

A terminologia radical livre é designada a um átomo ou molécula com grande potencial reativo que possui elétron em número ímpar desemparelhado em sua camada orbital (FERREIRA, 1997; HIRATA *et al.*, 2004). Segundo Cavalcante; Bruin (2009) os termos EROs (espécies reativas de oxigênio) e ERNs (espécies reativas de nitrogênio) descreveriam melhor estes agentes reativos patogênicos ditos radicais livres. A produção destes radicais de forma exacerbada deu origem ao mecanismo de defesa antioxidante fazendo com que o dano

¹ Discente do Curso de Mestrado em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ E-mail: natachamori@msn.com

² Aluna Especial do Curso de Mestrado em Atenção Integral à saúde UNIJUI/UNICRUZ E-mail: Carolzinha_oliveira@hotmail.com

³ Professora da Universidade de Cruz Alta Email: jkoefender@unicruz.edu.br, Unicruz.

⁴ Professor da Universidade de Cruz Alta Email: dgolle@unicruz.edu.br, Unicruz.

⁵ Professora da Universidade de Cruz Alta Email: josianebortolotto@yahoo.com.br, Unicruz.

⁶ Aluna do Curso de Farmácia da Universidade de Cruz Alta Email: marcela.picininilopes@gmail.com, Unicruz

⁷ Professora da Universidade de Cruz Alta Email: robertacattaneo82@gmail.com, Unicruz



celular seja minimizado (BARBOSA *et al.*, 2010). A origem destes radicais livres está relacionada a processos fisiológicos e também a exposição a fatores ambientais (estilo de vida, fumaças tóxicas, agrotóxicos, entre outros) que desencadeiem tais processos (HIRATA *et al.*, 2004).

Devido às rotinas laborais agricultores são expostos a pesticidas diariamente, portanto, mais predispostos a intoxicações e superprodução de radicais livres. Com base nisso, o objetivo deste estudo consiste em avaliar a partir de testes “*in vitro*” o potencial antioxidante do extrato aquoso das flores de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae).

Metodologia

Para o presente estudo foram coletadas amostras de sangue de 20 agricultores idosos de ambos os sexos (10 homens e 10 mulheres), com idade de 60 a 94 anos, moradores do interior de Ibirubá. Todos os participantes do estudo assinaram o TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido). O sangue total foi coletado após um jejum mínimo de 4 horas por punção venosa, utilizando VACUTAINERS contendo EDTA. As amostras foram centrifugadas imediatamente a 3000 rpm durante 10 min. e os plasmas foram removidos. Os eritrócitos foram lavados com solução salina isotônica fria e centrifugadas novamente. Após a lavagem final, os eritrócitos foram ressuspensos em solução salina, segundo Catalgol *et al.* (2007), com adaptações. O hematócrito foi diluído a 5%. Todos os grupos experimentais foram constituídos de eritrócitos dos indivíduos supracitados, sendo uma amostra de cada indivíduo por grupo. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta no ano de 2013.

Foram realizadas determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e das proteínas carboniladas (PCs), através de espectrofotometria, conforme Stock, *et al.* (1971) e Levine (1990), respectivamente.

Todos os tratamentos foram comparados por ANOVA de uma via, seguida do teste de Tukey-Kramer, considerando diferenças significativas com $P < 0,05$, utilizando Graph Pad Prism 5.

Resultados e Discussões

A Figura 1 representa as medidas das PCs nos eritrócitos expostos ao extrato das flores de calêndula. Verifica-se que os níveis das PCs aumentaram significativamente nas



amostras que foram expostas as concentrações de extrato de calêndula de 10, 25 e 50 g.L⁻¹ quando comparadas ao grupo basal e as concentrações de 1 e 5 g.L⁻¹. Estes resultados mostram um aumento da produção de ERs nas concentrações mais altas que levou a elevação de dano e alterações nas proteínas dos eritrócitos expostos a calêndula (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Este achado corrobora com o estudo realizado por Fonseca (2010), que evidenciou que o extrato de calêndula pode ser tóxico em concentrações mais elevadas.

Os níveis de TBARS (Figura 2), foram elevadas, de uma maneira geral, nas concentrações de 5 e 50 g.L⁻¹, quando comparadas com o grupo basal e às outras concentrações testadas. A peroxidação lipídica provoca alteração de membranas celulares, além de que os produtos de quebra da peroxidação lipídica são considerados tóxicos e podem promover alterações proteicas também, o que pode ter ocorrido na concentração 50 g.L⁻¹ em que houve aumento das PCs e dos TBARS (RIBEIRO *et al.*, 2005).

Conclusão

Portanto, de modo geral, com estes resultados verificou-se que o estresse oxidativo evidenciado pelo dano em proteínas e lipídios ocorreu mais significativamente na exposição a concentração de 50 g.L⁻¹ do extrato das folhas de calêndula, mostrando que esta é concentração mais tóxica testada neste estudo e corroborando com os achados da literatura que afirmam que a calêndula em concentrações altas podem ser tóxicas aos seres vivos.

Referências

- BARBOSA, K.B.F. *et al.* Estresse Oxidativo: Conceito, Implicações e Fatores Modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, Julho/Agosto 2010.
- CATALGOL, B. K. *et al.* Effect of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. **Toxicology In Vitro**, v.21, n. 8, p.1538-44, Dezembro 2007.
- CAVALCANTE, A. G. M.; BRUIN, P. F. C. O papel do estresse oxidativo na DPOC: conceitos atuais e perspectivas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v.12, n. 35, p. 1227-1237, Dezembro 2009.
- FONSECA, Y. M. **Avaliação da atividade fotoquimiopreventiva do extrato de calêndula**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.
- HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farm. Bonaerense**, Curitiba, v. 23, n.3, p. 418-24, Junho 2004.



LEVINE, R. L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v.186, n. 1, p. 464-478, 1990.

RIBEIRO, S. M. R. *et al.* A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 21, n. 3, Setembro/Dezembro 2005.

SILVA, A. A. da; ANDRADE, L. de H.C. Utilização de espécies de Asteraceae por comunidades rurais do nordeste do Brasil: relatos em Camocim de São Félix, Pernambuco. **Revista Biotemas**, Recife, v. 26, n. 2, Junho 2013.

STOCK J, *et al.* The autooxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. **British Journal Haematology**, Inglaterra, v. 20, p. 95-111, Janeiro 1971.

VASCONCELOS, S. M. L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-38, Setembro/Outubro 2007.

WIKTOROWSKA, E.; DLUGOSZ, M.; JANISZOWSKA, W. Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. **Enzyme and Microbial Technology**, Chicago, v. 46, n.1, p. 14–20, Janeiro 2010.