



AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNAS CARBONILADAS E ACIDO TIOBARBITÚRICO EM ERITRÓCITOS HUMANOS EXPOSTOS AO HERBICIDA 2,4-D (ÁCIDO 2,4- DICLOFENOXIACÉTICO) E TRATADOS COM A INFUSÃO DA FOLHA DE COBRINA

JUNGES, Luana Oliveira¹; MAGNI, Luana Pereira²; BORTOLOTO, Josiane³;
KOEFEENDER, Jana⁴; HORN, Roberta Cattaneo⁵

Palavras-chaves: Agrotóxicos. Antioxidante. Cobrina. Estresse oxidativo.

INTRODUÇÃO

Os herbicidas, como o 2,4-D, são utilizados para matar plantas daninhas por suas propriedades químicas (ORUÇ *et al.*, 2004). No entanto, ao mesmo tempo atacam o sistema nervoso central, provocando convulsões, sua exposição a este herbicida pode ocorrer de várias maneiras ao atingir o organismo humano através das vias oral, dérmica, respiratória ou mucosas (ABDOLLAHI *et al.*, 2004;).

Atualmente, são relatados mais casos de intoxicação devido ao aumento do uso de pesticidas agrícolas, o que acaba levando a ocorrência de estresse oxidativo nos indivíduos expostos a estes químicos, com o aumento da fluidez das membranas e da peroxidação lipídica (AKHGARI *et al.*, 2003). Essas alterações ocorrem pelo acúmulo das espécies reativas de oxigênio (EROs), no corpo humano, que promovem reações químicas com substratos biológicos podendo ocasionar danos às biomoléculas e, conseqüentemente, afetar a saúde humana. Os danos mais graves são aqueles causados ao DNA e ao ácido ribonucléico (RNA). Esse é um dos processos básicos da mutação e o acúmulo de bases danificadas pode desencadear a oncogênese.

A fim de minimizar os efeitos das EROs, os organismos aeróbios desenvolveram mecanismos de defesa antioxidante, que quando presentes em concentrações mais altas que a do substrato oxidável, é capaz de atrasar ou inibir significativamente a oxidação do mesmo. Para tanto, previnem a formação das EROs, neutralizando-as assim que formadas; repara o

¹ Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta E-mail: jungesluana5@gmail.com.

² Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta E-mail: luanamagni@hotmail.com.

³ Professorada Universidade de Cruz Alta Email: josiane bortolotto@yahoo.com.br, Unicruz.

⁴ Professorada Universidade de Cruz Alta Email: jkoefender@unicruz.edu.br, Unicruz.

⁵ Professorada Universidade de Cruz Alta Email: robertacattaneo82@gmail.com, Unicruz



dano oxidativo ocasionado por elas; aumentam a eliminação das moléculas danificadas, para minimizar a formação de mutações (ANTUNES; 2011).

O gênero *Tabernaemontana* tem cerca de 100 espécies, sendo 27 encontradas no Brasil, pertencente às apocináceas, é especialmente rico em alcalóides indólicos monoterpênicos, os quais são utilizados como seus marcadores quimiotaxonômicos, e que apresentam inúmeras atividades biológicas. Estes tipos de compostos são responsáveis por muitas atividades farmacológicas com, por exemplo: antibacteriana; antitumoral; ação hipoglicêmica, analgésica e cardiotônica (FIGUEIREDO *et al.*, 2010).

A *Tabernaemontana catharinensis* é uma espécie arbórea da família *Apocynaceae* que ocorre na Argentina, Paraguai, Bolívia e sudeste do Brasil. Antigamente classificada como *Peschiera fuchsiaefolia*, foi atualmente reclassificada como *Tabernaemontana catharinensis*. É popularmente conhecido como "jasmim", "leiteira-de-dois-Irmãos", "cobrina", "forquilha", "catavento" e "casca-de-cobra" (BOLIGON *et al.*, 2011).

Neste contexto, esta pesquisa tem por objetivo principal, investigar se a *T. catharinensis* possui atividade antioxidante frente a eritrócitos humanos expostos *in vitro* ao herbicida 2,4-D.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização do estudo foram selecionados a partir de um questionário de saúde ocupacional 18 indivíduos, saudáveis. Foi realizada a coleta de sangue utilizando-se agulhas descartáveis e tubos Vacuntainer[®] com adição de EDTA, posteriormente as amostras foram transportadas em caixas térmicas até o Laboratório de pesquisa da Universidade de Cruz Alta para serem processadas e o hematócrito diluído a 5%, segundo Catalgol *et al.* (2007). Para a realização da infusão foram coletadas 5 g da planta *Tabernaemontana catharinensis* e aliquoteado em diferentes concentrações. As amostras ficaram expostas durante 1 hora em banho-maria sobre a ação do 2,4D, e posteriormente mais uma hora tratadas com as concentrações diversas da planta.

Em seguida foram feitas as determinações da hemoglobina total pelo kit Latest, realizando a leitura em 415nm. Os resultados expressos por g de Hb. E ainda foram realizadas as determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e das proteínas



carboniladas (PCs), através da metodologia descrita por Sotck, *et al.*,(1971) e Levine(1990), e expressos por nmol/g Hb e nmol de carbonil/mg de proteínas, respectivamente.

Após todos os grupos estudados foram comparados por ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey, considerando significativamente diferente os valores com $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Verificou-se que, as doses de 5g/L e 50g/L da infusão de cobrina, aumentaram os níveis de TBARS após 1 hora de exposição dos eritrócitos ao 2,4-D e posteriormente a cobrina, quando estas concentrações foram comparadas as demais concentrações de cobrina testadas (10 e 25 g/L), da exposição ao 2,4-D e ao grupo controle. Estes resultados mostram um aumento da peroxidação lipídica nos eritrócitos expostos ao herbicida e a cobrina nas concentrações 5 e 50 g/L, evidenciando que as combinações de 2,4-D + a cobrina nestas concentrações são mais tóxicas do que o herbicida sozinho. Estes achados são consistentes com os resultados de outras investigações recentes (DUCHNOWICZ *et al.*, 2005).

Tendo em vista que as proteínas carboniladas têm sido um marcador biológico útil da ocorrência de estresse oxidativo (LIM, *et al.*, 2002), realizou-se neste estudo a exposição de eritrócitos ao herbicida 2,4-D e a diferentes concentrações de cobrina, para verificar se esta planta possuía ação oxidante ou antioxidante. Assim, verificou-se que a cobrina favoreceu significativamente ao aumento nos níveis das proteínas carboniladas nas concentrações de 10, 25, 50g/L, quando comparadas ao grupo controle, a exposição ao 2,4-D (sozinho) e a concentração de 5g/L. mostrando que a cobrina nestas concentrações são muito tóxicas aos eritrócitos, já que o aumento dos níveis de proteínas carboniladas elevam os danos teciduais (BARBOSA *et al.*, 2010).

CONCLUSÃO

Os resultados mostram que a cobrina, nas concentrações estudadas possui uma ação oxidante aos eritrócitos quando utilizadas após uma exposição destas células ao herbicida 2,4-D.



REFERENCIAS

- ABDOLLAHI, M. *et al.* Pesticides and oxidative: a review. **MedSciMonit**, v. 10, p. 141-147, 2004.
- ANTUNES, J. M. F. N. *et al.* Índices de estresse oxidativo em sujeitos com diferentes níveis de composição corporal e aderência a prática de atividade física. **Braz J Biomot**, v. 5, p. 117-131, 2011.
- BARBOSA, K.B.F. *et al.* Estresse Oxidativo: Conceito, Implicações e Fatores Modulatórios. **Rev Nutr**, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BOLIGON, A. A. *et al.* Composição química do óleo essencial das folhas de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. **XV Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Outubro 2011.
- CATALGOL, B. K. *et al.* Effecto ftrichlor fonon malondial dehy de and antioxidant system in human erythrocytes. **Toxicol In Vitro**, v.21, p.1538-44, Dez, 2007.
- DUCHNOWICZ P, *et al.* Erythrocyte membrane protein damage by phenoxyacetic herbicides and their metabolites. **Pestic Biochem Physiol**. V.82p. 59–65, 2005.
- FIGUEIREDO, E. R. *et al.* Isolamento, identificação e avaliação da atividade antileucêmica de alcalóides indólicos monoterpênicos de *Tabernaemontanas alzmanni* A. DC., Apocynaceae. **Rev Bras Farmacog**, v. 20, p.75-81, 2010.
- LEVINE, R. L. *et al.* Determiration of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Meth Enzym**, v.186, p. 464-478, 1990.
- LIM PS, *et al.* Increase in oxidative damage to lipids and proteins in skeletal muscle of uremic patients. **Free Radic Res**.v.36 p.295-301, 2002.
- M. AKHGARI, *et al.* Biochemical evidence for free radical induced lipid per oxidation as amechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats, **Hum. Exp. Toxicol**. p. 205–211, 2003.
- ORUÇ, E. Ö. *et al.* Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. **Comp BiochemPhysiol**, v.137, p. 43-51, 2004.
- STOCK J, *et al.* The autooxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. **Brit JHaematol**, v. 20, p. 95-111, 1971.