



AVALIAÇÃO “IN VITRO” DO EFEITO PROTETOR DO EXTRATO DO FRUTO DE *PHYSALIS PERUVIANA L.* – *SOLANACEAE* SOBRE O AUMENTO DOS NÍVEIS DE PROTEÍNAS CARBONILADAS EM ERITRÓCITOS EXPOSTOS AO HERBICIDA 2,4-D

SOARES, Jéssica¹; HORN, Roberta Cattaneo²; MANFIO, Candida Elisa³; GOLLE, Diego Pascoal⁴; KOEFENDER, Jana⁵.

Palavras-chave: *Physalis*. 2,4-D. EROs.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais devido as suas propriedades terapêuticas foi acumulada com o passar dos anos, devido às suas propriedades físico-químicas e biológicas (PINTO, 2009). O cultivo de *Physalis* tem se difundido devido ao baixo custo de implantação, tornando sua produção acessível aos produtores devido à boa adequação da planta (POLTRONIERI, 2003). Os frutos de *Physalis* possuem compostos tais como flavonóides simples e glicosados, carotenóides, entre outros que têm despertado interesse devido aos seus efeitos biológicos benéficos à saúde do homem, atuando como antioxidante (LICODIEDOFF, 2012). Contudo, ainda há poucos estudos relatados na literatura relacionados à atividade oxidante do extrato da *physalis peruviana*.

A contaminação ambiental ocasionada pelo uso crescente e indiscriminado de pesticidas tem gerado uma série de preocupações quanto ao comportamento destes, seja no ambiente ou sua influência negativa à saúde humana (CAMPOS; VIEIRA, 2002). O 2,4-D é utilizado amplamente em plantações, controlando ervas daninhas de folhas largas através de compostos semelhantes à auxina, hormônio de crescimento de plantas. Este herbicida é altamente cancerígeno e tóxico, estando associado ao desacoplamento da fosforilação oxidativa, sugerindo o rompimento de membranas intracelulares (BRADBERRY et al., 2000).

¹ Graduanda do curso de Biomedicina, Universidade de Cruz Alta-RS. PROBITI-FAPERGS. E-mail: jessica93soares@hotmail.com

² Professor graduado em Farmácia, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: robertacattaneo82@gmail.com

³ Pós doutoranda graduada em Agronomia, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: candidamanfio@gmail.com

⁴ Professor graduado em Agronomia, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: dgolle@unicruz.edu.br

⁵ Professor graduado em Agronomia, Universidade de Cruz Alta-RS. E-mail: jkoefender@unicruz.edu.br



As espécies reativas (ERs) agem como verdadeiros agentes oxidantes promovendo reações com substratos biológicos podendo acarretar danos à biomoléculas como membrana celular e proteínas, afetando a saúde humana (PEREIRA, 1996). O estresse oxidativo em certas condições pode ser resultante do aumento da produção de ERs que ultrapassa a capacidade antioxidante do organismo, ou ainda, devido à redução de defesas antioxidantes do corpo (CADENAS & DANIES, 2000). Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar o sistema oxidante em eritrócitos expostos ao 2,4 – D e tratados com o extrato aquoso de *physalis peruviana*.

2 METODOLOGIA

Produção do extrato aquoso

O extrato foi realizado segundo Degáspari et al (2004).

Preparação do 2,4-D

Foram medidos 1,1 gramas de Ácido 2,4-Ciclofenoxiacético, seguido de diluição para 1 litro com auxílio de hidróxido de sódio e água, a fim de atingir a concentração de 1,1g/L, concentração recomendada para uso nas lavouras para este herbicida segundo Rodrigues; Almeida (2005).

Processamento das amostras

As amostras de sangue foram obtidas a partir de quatorze doadores saudáveis, metade homens e metade mulheres, não fumantes, não etilistas e que não ingeriram nenhum tipo de medicamento ou alimento que pudesse interferir nos resultados do estudo. Após assinarem o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido), o sangue total foi coletado após jejum de 4 - 8 horas por punção endovenosa, utilizando vacutainers contendo EDTA. As amostras foram centrifugadas imediatamente a 3000 rpm durante 10 min e os plasmas removidos. Os eritrócitos foram lavados com solução salina isotônica devidamente ambientalizada, centrifugados e ressuspensos, segundo Catalgol et al. (2007) com adaptações. O hematócrito foi diluído a 5% e as suspensões de eritrócitos divididas em cinco grupos distintos, com amostras de um mesmo paciente: Grupo A: controle; Grupo B: eritrócitos expostos ao 2,4-D a 1,1 mg/L; Grupo C: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 1g/L); Grupo D: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 10g/L); Grupo E: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 25g/L); Grupo F: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de



Physalis a 50g/L) e Grupo G: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 83g/L). Após a exposição e tratamento as suspensões de eritrócitos à hematócrito 5 % foram agitadas em vórtex a fim de provocar a lise de membranas celulares, seguido de centrifugação e separação do sobrenadante para a realização das dosagens bioquímicas. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta no ano de 2013, conforme anexo (protocolo número 15510413.3.0000.5322).

Determinação de proteínas carboniladas

As proteínas carboniladas foram analisadas segundo a metodologia de Levine (1990) com adaptações. A dosagem de proteínas totais foi realizada através de kit comercial Labtest[®], conforme instruções do fabricante.

Análises estatísticas

Os resultados primeiramente foram comparados por ANOVA de uma via, seguida do teste de Tukey-Kramer, considerando diferenças significativas com $P < 0,05$, através do programa estatístico: Graph Pad Prism 5.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As ERs estão envolvidas em diversas condições patológicas, incluindo lesões de isquemia, doenças inflamatórias e envelhecimento, onde o estresse oxidativo desempenha um papel central nas lesões celulares. Os resultados do estudo (Figura 1) demonstram que o extrato de *physalis peruviana* nas diferentes concentrações testadas apresenta efeito protetor, revertendo os danos a proteínas ocasionados pelo herbicida 2,4-D de forma estatisticamente significativa. Contudo, o aumento da concentração de extrato parece não influenciar no efeito protetor se comparado as menores concentrações.

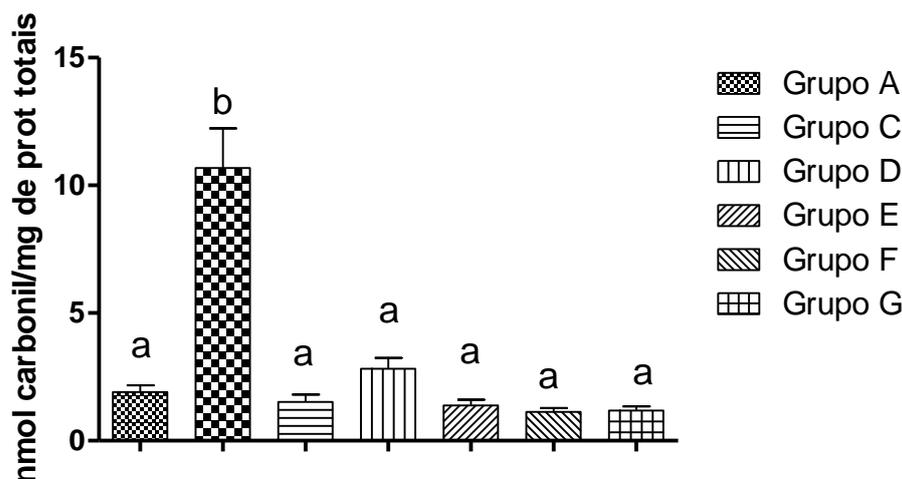


Figura 1: Níveis de proteínas carboniladas (nmol carbonyl/mg prot totais) nos eritrócitos de humanos. Grupo A: controle; Grupo B: eritrócitos expostos ao 2,4-D a 1,1 mg/L; Grupo C: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 1g/L; Grupo D: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 10g/L; Grupo E: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 25g/L; Grupo F: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 50g/L) e Grupo G: eritrócitos expostos ao 2,4-D + extrato de *Physalis* a 83g/L)

Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes, considerando um $P < 0,05$.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, os resultados indicam que o extrato aquoso de *physalis peruviana* possui ação antioxidante, revertendo de forma positiva e significativa os danos ocasionados pelo herbicida 2,4-D em eritrócitos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRADBERRY, S.M *et al.* Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. **Journal of Toxicology - Clinical Toxicology**, v. 38, p. 111-122, 2000.

CADENAS, E.; DAVIES, K. J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radical Biology & Medicine**. v 29, p 222-230, 2000.

CAMPOS, S. X; VIEIRA, E. M. Estudo da degradação do herbicida ácido 2,4 – Diclorofenoxiacético (2,4-D) por meio da radiação gama do cobalto-60 em solução aquosa contendo ácido húmico. **Química Nova**. v 25, p 529-532, 2002.

CATALGOL, B. K.; OZDEN, S.; ALPERTUNGA, B. Effect of trichlorfon on olondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. **Toxicology In Vitro**. v 21, p. 1538-44, 2007.



DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N., SANTOS, R. J. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira. **Visão Acadêmica**. v 5, p 83-90, 2004.

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

LICODIEDOFF, S. Caracterização físico-química e compostos bioativos em *Physalis peruviana* e derivados. **Universidade Federal do Paraná**. p 80-85, 2012.

PEREIRA, B. Radicais livres de oxigênio e sua importância para a funcionalidade imunológica. **Motriz**. v. 2, p. 71-79, 1996.

PINTO, N. B. Efeito da Fisalina E isolada da *Physalis Angulata* em modelos de dermatite de contato induzida por TPA e Oxazolona em camundongos. **Departamento de Fisiologia e Farmacologia**. p. 27, 2009.

POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. **Seminário Brasileiro sobre pequenas frutas**. p 37-40, 2003.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. Guia de Herbicidas, 5th edn. UEL, editora, Londrina, 592p, 2005.