

# 13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

## INTERFERÊNCIA DE NANOMATERIAIS NO ENSAIO DE TBARS (SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO) EMPREGANDO CÉREBROS E BRÂNQUIAS DO PEIXE DANIO RERIO

SEIXAS, André Luís Da Rosa; FERREIRA-CRAVO, Marlize; BÜRGER, Marcos. MONSERRAT, José María. andre.drseixas@gmail.com

Evento: Encontro de Pós-graduação  
Área do conhecimento: Toxicologia

**Palavras-chave:** nanomateriais de carbono; fluorescência; estresse oxidativo.

### 1 INTRODUÇÃO

Estudos prévios tem sugerido que alguns nanomateriais e fluorocromos como a diclorodihidrofluoresceína diacetato ( $H_2DCF-DA$ ) interagem, mascarando o resultado final de ensaios fluorométricos (Martin *et al.*, 2011; Aranda *et al.*, 2013; Kong *et al.*, 2013) e levando erroneamente a conclusão de que os nanomateriais podem agir como antioxidantes. Por isso, investigamos se a presença de nanotubos de paredes simples (SWCNT) e fulereno aquoso ( $nC_{60}$ ) podem influenciar no resultado do teste de TBARS, um índice de peroxidação lipídica.

### 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Nanomateriais são definidos como partículas fabricadas pelo homem menores que 100 nm em pelo menos uma dimensão, com uma grande área superficial relativa e propriedades únicas (Obërdorster *et al.*, 2007). Atualmente os nanomateriais estão sendo produzidos em escala industrial e um dos seus efeitos tóxicos seria ligada a geração de estresse oxidativo (Zhang *et al.*, 2014).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Os resultados do ensaio de TBARS foi lido em um fluorímetro e as amostras biológicas usadas foram de cérebros e brânquias do peixe *Danio rerio* (anestesiados, mortos e dissecados segundo as normas vigentes de bem-estar animal). Cada tratamento (controle (G1); 500 mg SWNTC/L (G2); 50 mg SWNTC/L (G3); 5 mg SWNTC/L (G4) ; 1 mg SWNTC/L (G5); 0,5 mg SWNTC/L(G6); 0,01 mg  $nC_{60}$ /L (G7), 0,005 mg  $nC_{60}$ /L (G8)) foi feito a partir da mesma amostra, previamente adicionada com BHT (hidroxitolueno butilado) um poderoso antioxidante, prevenindo posterior oxidação e alteração da fluorescência pela ligação de malondialdeído e ácido tiobarbitúrico. Usando este protocolo, as diferenças nas fluorescências podem ser associadas a interações entre a matriz biológica e os nanomateriais, descartando as variações de oxidação entre as amostras (n= 5-11).

### 4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As médias e erros padrão da fluorescência líquida dos cérebros e brânquias foram as seguintes: G1=  $569 \pm 120$  e  $1794 \pm 259$ ; G2=  $-475 \pm 81$  e  $179 \pm 81$ ; G3=  $-400$

## 13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

$\pm 136$  e  $326 \pm 50$ ; G4=  $645 \pm 215$  e  $2577 \pm 208$ ; G5=  $744 \pm 146$  e  $2556 \pm 197$ ; G6=  $724 \pm 221$  e  $2371 \pm 247$ ; G7=  $724 \pm 171$  e  $1323 \pm 182$ ; G8=  $387 \pm 69$  e  $1290 \pm 102$ . Alguns resultados de fluorescência foram negativos, menores que a fluorescência do branco, indicando uma grande influência dos nanomateriais no método ( $p < 0,05$ ) como por exemplo, os grupos G2 e G3 do cérebro em relação ao grupo G1. Já nas brânquias não ocorreram fluorescências negativas, mas os grupos G2 e G3 tiveram fluorescências menores ( $p < 0,05$ ) que os outros grupos, e os grupos G4, G5 e G6 tiveram fluorescências maiores ( $p < 0,05$ ) que os outros grupos, indicando uma exacerbação da fluorescência, que poderia ser interpretada erroneamente como uma ação pró-oxidante do nanomaterial e a diminuição das fluorescências poderia ser interpretada erroneamente como uma ação antioxidante do nanomaterial. Ou seja, altas concentrações de SWNTC diminuem a fluorescência das amostras e baixas concentrações de SWNTC em brânquias aumentam a fluorescência. A diminuição da fluorescência pode ser devido a aglomeração dos SWNTC, já o aumento da fluorescência pode ser devido as propriedades eletrônicas dos SWNTC.

### 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados indicam que existem diferentes padrões de interferência de acordo com a concentração de SWNTC e tecidos analisados e que o ensaio TBARS não é indicado para amostras tratadas com SWNTC. Já o fulereno aquoso não interferiu no ensaio de TBARS. Outras medidas fluorométricas precisam ser avaliadas em relação ao potencial de interferência de nanomateriais e amostras biológicas, assim como outros tecidos animais. E para caracterizar com total certeza o comportamento dos SWNTC é necessário a utilização de EPR (ressonância paramagnética eletrônica) que será feito em breve.

### REFERÊNCIAS

- ARANDA A.; SEQUEDO L.; TOLOSA L.; QUINTAS G.; BURELLO E.; CASTELL J. V.; GOMBAU L. Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) assay: A quantitative method for oxidative stress assessment of nanoparticle-treated cells. Toxicology in Vitro, v. 27, p. 954-963, 2013.
- KONG L.; MUKHERJEE B.; CHAN Y. F.; ZEPP, R. G. Quenching and sensitizing fullerene photoreactions by natural organic matter. Environmental Science & Technology, v. 47, n. 12, p.6189-6196, 2013.
- MARTIN R.; ALVARO M.; GARCIA. Photoresponsive Covalently-Functionalized Short Single Wall Carbon Nanotubes. Current Organic Chemistry, v. 15, p.1106–1120, 2011.
- OBERDÖRSTER G.; STONE V.; DONALDSON K. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. Nanotoxicology, v. 1, n.1, p. 2-25, 2007.
- ZHANG Y.; PETIBONE D.; XU Y.; MAHMOOD M.; KARMAKAR A.; CASCIANO D.; ALI S.; BIRIS A.S. Toxicity and efficacy of carbon nanotubes and graphene: the utility of carbon-based nanoparticles in nanomedicine. Drug Metabolism Reviews, v.46, nº 2, p. 232-246, 2014.