

## Indução da peroxidação lipídica no cérebro e brânquias do peixe *Cyprinus carpio*(Cyprinidae) exposto a diferentes concentrações de Fulereo (C<sub>60</sub>)

J.L. Ribas Ferreira, P.B. Ramos, R. Socoowski Britto, D.M. Barros, L.A. Geracitano, G. Fillmann, J.M. Monserrat

### Introdução

Os nanomateriais têm sido definidos como materiais que possuem pelo menos uma dimensão com medidas dentro da faixa de 1 a 100 nm (Oberdörster, 2004). Sua utilização em vários processos industriais se deve a sua grande relação superfície/volume, o que favorece sua utilização como catalisadores, como agentes que liberem fármacos e ainda como protetores solares e cosméticos (Colvin, 2003). A carência de informação pode ser considerada no mínimo como grave se levada em conta a ampla distribuição e aplicação dos nanomateriais e a possibilidade de exposição humana ou de outras espécies (Colvin, 2003; Oberdörster, 2005).

A hidrofobicidade destes compostos permite que se associem com membranas biológicas. Trabalhos como o de Sayes et al. (2005) claramente indicam que a citotoxicidade do fulereno é induzida por dano oxidativo em lipídios em três tipos celulares. Ainda no trabalho de Oberdörster (2004) foi observado um aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica cerebral,

Uma vez que a toxicidade do fulereno é devida à indução de dano oxidativo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos tóxicos da exposição *in vitro* de tecidos de carpa utilizando a medição de peroxidação lipídica, um biomarcador clássico de dano oxidativo

### Metodologia

Suspensões de nano-C<sub>60</sub> (C<sub>60</sub> 0,20 µm) foram obtidas por agitação de 200 mg de fulereno em pó SES Research; pureza: 99,9%) em 1 L de água MilliQ durante dois meses sob iluminação constante, e após esse período as suspensões foram centrifugadas a 25.000 x g por uma hora e filtradas por membrana de nylon com poro de 0,20 µm. A concentração foi determinada por análise de conteúdo carbônico total utilizando um analisador de carbono (TOC-V CPH, Shimadzu) e ajustada a 1mg C/L.

Exemplares de carpa (*Cyprinus carpio*,) com peso médio de 27.9 ± 3.8 g foram obtidos de fornecedores locais e mantidos por 2 semanas antes dos experimentos. Para a homogeneização, os animais foram crio-anestesiados e sacrificados. Após isso, foram retirados os cérebros e brânquias e homogeneizados em KCl (1,15%) na proporção de 1:3 (p/v). Os órgãos foram agrupados em *pools* perfazendo um *n*=4.

Os extratos de tecidos foram expostos por 1, 2 e 4 horas a diferentes suspensões de fulereno e posteriormente foi analisado a peroxidação lipídica, determinada pelo método TBARS determinando os níveis de malondialdeído (MDA).

### Resultados e discussão:

Baseado nos níveis de MDA, os resultados mostram que, houve um aumento significativo (*p*<0,05) de lipídios peroxidados, tanto no cérebro quanto em brânquias após 2 horas de exposição. Esse efeito aparenta ter sido atenuado após quatro horas de exposição, sendo similar em ambos os órgãos.

Esse efeito pronunciado apenas após duas horas indica que esse foi o tempo necessário para que houvesse o dano lipídico. O retorno aos níveis basais de lipídios peroxidados em 4 horas pode ser

explicado pela eficiência do sistema de defesa antioxidante que foi capaz de reverter os danos e/ou pela possibilidade do MDA ter sido conjugado, um processo que se sabe é realizado pela enzima glutathiona-S-transferase (GST). Ainda é importante salientar que a exposição foi realizada em condições de iluminação, o que favorece a produção de espécies reativas de oxigênio.

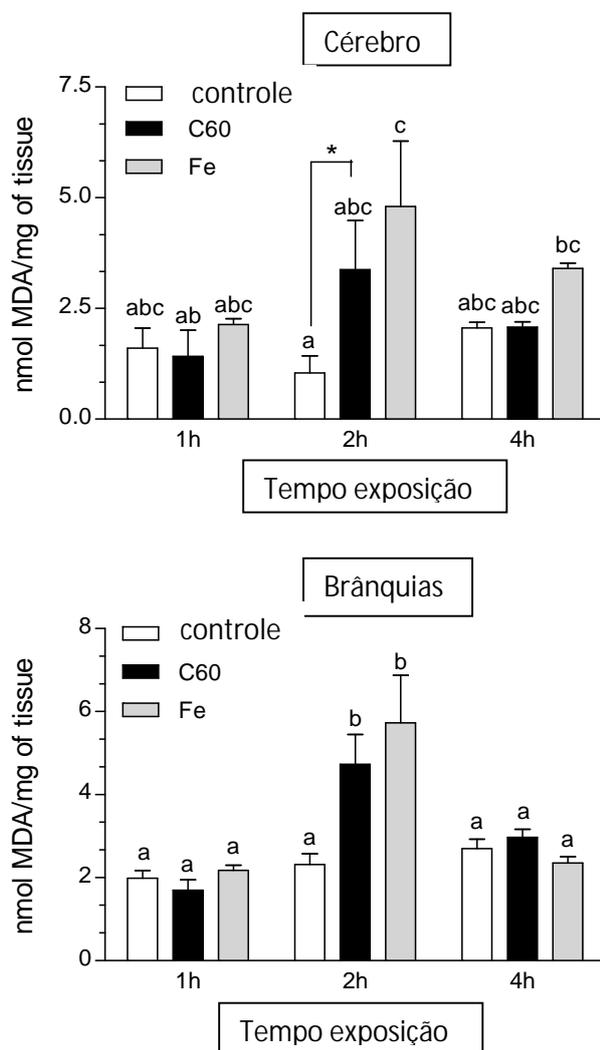


Figura: Valores médios (+ 1 EP) dos níveis de peroxidação lipídica (TBARS) em extratos de cérebro e brânquias de carpa (*Cyprinus carpio*) expostos ao fulereno ou a  $Fe^{3+}$ . Letras iguais indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ). O asterisco indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) por contrastes planejados nos tratamentos indicados pelas linhas.

### Conclusão:

Com base nos resultados, conclui-se que o fulereno foi capaz de induzir estresse oxidativo em termos de peroxidação lipídica em extratos de cérebro e brânquias de carpa. Estudos posteriores são necessários para averiguar os mecanismos envolvidos nesse processo.

### Referência Bibliográfica:

- Colvin V.K. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterial. *Nature Biotechnology* 21: 1166-1170.
- Oberdörster E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes,  $C_{60}$ ) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health Perspectives* 112: 1058-1062.

Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113:823-839.

Sayes C.M., Gobin A.M., Ausman K.D., Mendez J., West J.L., Colvin V.L. (2005). Nano-C<sub>60</sub> cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials* 26: 7587-7595.