

## DANO AO DNA EM CÉLULAS IMUNES PERIFÉRICAS EXPOSTAS IN VITRO AO PARAQUAT<sup>1</sup>

Isadora Kottwitz da Silva<sup>2</sup>, Kelly Silva Rodrigues<sup>3</sup>, Kendra Caroline Grams<sup>4</sup>, Luiza de Oliveira Barcelos<sup>5</sup>, Josiane Woutheres Bortolotto<sup>6</sup>, Mariana Migliorini Parisi<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde, Laboratório de Pesquisa e Experimentação em Saúde, Curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta

<sup>2</sup> Aluna do curso de Biomedicina (Unicruz), bolsista PAPCT/Unicruz, isadorakottwitz@gmail.com, Cruz Alta/RS/Brasil

<sup>3</sup> Aluna do curso de Biomedicina da Unicruz, bolsista PIBIC/CNPQ, kellyrodrigues2704@gmail.com, Cruz Alta/RS/Brasil

<sup>4</sup> Aluna do curso de Biomedicina da Unicruz, bolsista PIBIC/Unicruz, kendra\_grams@hotmail.com, Cruz Alta/RS/Brasil

<sup>5</sup> Aluna do curso de Biomedicina da Unicruz, voluntária de pesquisa, lzbarcelos045@gmail.com, Cruz Alta/RS/Brasil

<sup>6</sup> Professora Colaboradora, Doutora em Biologia Celular e Molecular, Curso de Farmácia (Unicruz), bortolotto@unicruz.edu.br, Cruz Alta/RS/Brasil

<sup>7</sup> Professora Orientadora, Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica), Curso de Biomedicina e Mestrado em Atenção Integral a Saúde (Unicruz), mparisi@unicruz.edu.br, Cruz Alta/RS/Brasil

**Introdução:** O paraquat (dicloreto de N, N'-dimetil-4, 4'-bipiridínio - PQ) é um herbicida não seletivo e sistêmico amplamente usado em manejo de culturas para o controle de ervas daninhas, podendo gerar efeitos tóxicos em humanos e animais. Sua toxicidade é baseada no ciclo redox e na geração de estresse oxidativo (EO), o qual pode ser responsável pela indução de instabilidade genômica através do dano ao DNA. A principal via de sinalização de dano ao DNA em células eucariotas é a ativação do membro X da família da histona H2A (H2Ax), a qual é fosforilada nos sítios de dano afim de sinalizar e recrutar as proteínas de reparo de DNA. Desta forma, a H2AX fosforilada ( $\gamma$ H2AX) é um eficiente marcador biológico de dano ao DNA. **Objetivo:** Determinar se o PQ induz, *in vitro*, em diferentes concentrações, dano ao DNA através da ativação da via H2Ax. **Métodos:** Esse trabalho foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética da Universidade de Cruz Alta, sob o parecer 4.500.955. Foram coletados 20 mL de sangue venoso periférico de 10 indivíduos voluntários, saudáveis, entre 18 e 40 anos. A partir do sangue venoso, foi realizado o isolamento de células mononucleares do sangue periférico (PBMC), através do gradiente de Ficoll Hypaque. As PBMC isoladas foram divididas em 4 grupos de  $3 \times 10^6$  células, as quais foram incubadas com (1) RPMI apenas (controle), (2) RPMI + 200 $\mu$ M de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (como controle positivo de estresse oxidativo), (3) RPMI + 0,1 mM de PQ e (4) RPMI + 1 mM de PQ, por 3 horas a 37°C. Após a incubação, foi realizado o ensaio de detecção de  $\gamma$ H2AX através da técnica de phosflow, a qual foi quantificada por citometria de fluxo. **Resultados:** Conforme o esperado, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induziu significativamente mais fosforilação de H2Ax em relação ao grupo controle ( $p < 0,001$ ), evidenciando que as espécies reativas de oxigênio são potentes indutoras de dano ao DNA. Em relação ao PQ, não houve diferença estatisticamente significativa na fosforilação de H2Ax no grupo de 0,1 mM de PQ em

relação ao grupo controle ( $p > 0,05$ ), mas houve diferença estatisticamente significativa na fosforilação de H2Ax no grupo de 1 mM de PQ em relação ao grupo controle ( $p > 0,05$ ).

**Conclusão:** Os resultados evidenciam que o PQ induz, *in vitro*, na exposição aguda de 3 horas, dano ao DNA em células imunes periférica de forma dose dependente.

**Palavras-chaves:** Estresse oxidativo; Genotoxicidade; Herbicidas;