

## **AValiação de Dano Oxidativo no Cérebro de Camundongos Adultos Expostos à Material Particulado<sup>1</sup>**

**Eloisa Gabriela De Pelegrin Basso<sup>2</sup>, Bethânia Salamoni<sup>3</sup>, Pauline Brendler Goettems<sup>4</sup>,  
Fernanda Giesel Baldissera<sup>5</sup>, Cláudia Ramos Rhoden<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>.**

<sup>1</sup> Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) - Departamento de Ciências da Vida – DCVida/UNIJUI

<sup>2</sup> Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) MEC/SeSU, Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF – UNIJUI. elo\_basso@hotmail.com

<sup>3</sup> Mestranda do PPG Ciências da Saúde - UFCSPA. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF – UNIJUI

<sup>4</sup> Mestranda do PPG Ciências da Saúde - UFCSPA. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF – UNIJUI

<sup>5</sup> Mestranda do PPG Ciências da Saúde - UFCSPA. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF – UNIJUI

<sup>6</sup> PPG Ciências da Saúde da UFCSPA. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF - UNIJUI

<sup>7</sup> Professor do Departamento de Ciências da Vida – DCVida UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF - UNIJUI

### Introdução

A obesidade é considerada um problema atual de saúde pública, apresentando origens complexas, de caráter genético, comportamental, bem como, ambiental. É uma enfermidade causada por fatores endógenos (hereditariedade, fatores congênitos, psicogênicos, neurológicos e endócrinos) e/ou exógenos (alimentação inadequada, sedentarismo e exposição à poluição atmosférica) (Santos et al., 2012).

Os poluentes atmosféricos são constituídos por uma mistura complexa de partículas sólidas e líquidas, de diferentes diâmetros e composições, dentre os quais se destaca, pela toxicidade, o Material Particulado (MP) (Nogueira, 2009). O MP é responsável por diversos efeitos na saúde, que se expressam de formas variadas e que resultam em aumento da morbidade e/ou mortalidade por inúmeras doenças (Gouveia, 2006). Neste sentido, a inalação de MP provoca efeitos adversos à saúde humana, incluindo dificuldades cognitivas e marcadores precoces de doenças neurodegenerativas. Ou seja, a inalação de MP como uma causa de neuro inflamação, via aumento de produção de espécies ativas de oxigênio (EAO) e dano vascular cerebral (Block & Calderón-Garcidueñas, 2009).

Também já foi demonstrado que os efeitos prejudiciais dessas partículas inaláveis são acentuados na presença de diabetes e obesidade (Zanobetti, 2001). Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar a lipoperoxidação no cérebro de camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e inalação de MP<sub>2,5</sub>.

### Metodologia

ANIMAIS: Foram utilizados 52 camundongos machos da linhagem B6129SF2/J (B6), com 21 dias, no período pós-desmame, provenientes do Biotério da UNIJUI. Os animais foram mantidos em

# SALÃO DO CONHECIMENTO

UNIJUI 2013  
Ciência • Saúde • Esporte



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XXI Seminário de Iniciação Científica

gaiolas semi-metabólicas em ambiente com temperatura controlada ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e com ciclos de 12 horas claro/escuro. **GRUPOS EXPERIMENTAIS:** Os animais foram divididos em grupos experimentais sendo: Exposição Precoce à poluição, que receberam intervenção alimentar e exposição ao MP ou salina concomitantemente desde o desmame por 24 semanas, constituindo os grupos: Poluído (P1; n=6), Dieta Hiperlipídica + Salina (D1; n=6), Dieta Hiperlipídica + Poluição (DP1; n=7); Exposição Tardia à poluição, que recebeu intervenção alimentar após o desmame, e ao completar 12 semanas foi exposto ao MP até completar 24 semanas de intervenção, constituindo os grupos: Poluído (P2; n=7), Dieta Hiperlipídica + Salina (D2; n=8) e Dieta Hiperlipídica + Poluição (DP2; n=8). Além destes o grupo Controle (C; n=10) e recebeu ração padrão e salina. **INTERVENÇÃO ALIMENTAR:** Os animais dos grupos D1, DP1, D2 e DP2 receberam dieta hiperlipídica com 60% de gordura, constituída de ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1) com 22% de proteína, 40% de gordura suína 37% de albumina, 14% aminomix (vitaminas e minerais 8%) e 1% de farinha de osso e ostra, já os demais grupos receberam ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1 – 4% de gordura), ambos por 24 semanas. **MATERIAL PARTICULADO:** O poluente utilizado no experimento foi Material Particulado Fino (MP2,5), contido em filtro de policarbonato o qual foi coletado através de coletador gravimétrico, na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo na cidade de São Paulo, Brasil. Os animais receberam 10 $\mu\text{L}$  de suspensão de MP2,5, via intranasal (i.n) na dose de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e os grupos não expostos, receberam 10  $\mu\text{L}$  de solução de salina 0,9%. O procedimento de inalação foi realizado diariamente por 24 semanas (Grupo Exposição Precoce) e 12 semanas (Grupo Exposição Tardia) com auxílio de micropipeta automática. **PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS:** Após as 24 semanas de intervenção os camundongos do Grupo Exposição Precoce e Exposição Tardia foram sacrificados por decaptação e o cérebro foi coletado e homogeneizadas em Tampão Kpi (pH 7,4) contendo inibidores de protease. **AVALIAÇÃO DA LIPOPEROXIDAÇÃO:** A determinação da lipoperoxidação foi realizada por espectrofotometria através da reação com o ácido tiobarbitúrico TBARS (Substâncias Reativas ao Acido Tiobarbitúrico). A concentração de TBARS formada será expressa em nmol MDA/mg Proteína. A dosagem de proteínas foi realizada pelo método de Bradford. **ANÁLISE ESTATÍSTICA:** Foi realizada no programa Graph Pad 3.0. Os resultados foram expressos como médias+DP e analisados por ANOVA, seguida de teste post-hoc de Tukey, considerando nível de significância  $p<0,05$ .

## Resultados e discussão

Conforme os resultados relativos a lipoperoxidação tecidual deste estudo (C=  $1,2\pm 0,2$ ; P1= $1,3\pm 0,2$ ; D1=  $1,4\pm 0,2$ ; DP1 =  $1,6\pm 0,2$ ; P2= $1,5\pm 0,3$ , D2= $1,1\pm 0,2$  e DP2= $1,8\pm 0,2$ /nmol MDA/mg Proteína), não houve dano oxidativo no cérebro dos animais que receberam poluição, dieta ou a associação (P+D), no período de exposição precoce. Entretanto, os animais que receberam dieta após o desmame e a poluição no período adulto, apresentaram aumento na lipoperoxidação ( $P<0,05$ ), indicando que a associação destes fatores eleva a lipoperoxidação no cérebro. Os animais que receberam poluição tardia, somente na vida adulta, apresentaram aumento na lipoperoxidação em comparação aos que receberam poluição precoce ( $P<0,05$ ), desde o período desmame.





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XXI Seminário de Iniciação Científica

Estudos de Stefanovic et al. (2008) descrevem que a obesidade é capaz de induzir o aumento de EAO local e também sistêmica, fator importante ao considerarmos o resultado deste estudo, pois estudos anteriores de nosso grupo demonstram que a dieta hiperlipídica leva ao desenvolvimento da obesidade (aumento de peso corporal e aumento de deposição de gordura abdominal) (Basso et al., 2013). Além disso, a associação entre dieta hiperlipídica e material particulado leva a níveis ainda mais elevados de obesidade (Basso et al., 2013).

Os resultados deste estudo sobre lipoperoxidação podem ser explicados pelo fato de que a exposição à MP, que leva a danos cerebrais, inclui um processo inflamatório crônico, envolvendo primeiramente o trato respiratório, e resultando em uma resposta inflamatória sistêmica, capaz de atingir o cérebro através da formação de EAO, que podem provocar danos neurológicos. O cérebro é o órgão mais sensível ao dano oxidativo devido ao alto consumo de oxigênio e glicose e, baixa capacidade antioxidante (Halliwell e Gutteridge, 1999).

Estudo de Xu et al. (2010), demonstrou efeitos da associação entre os fatores DHL e MP2.5 no início da vida, indicando que grande exposição à MP2,5 é fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina e inflamação no desenvolvimento da obesidade, sendo que o aumento de espécies reativas de oxigênio pode promover esse risco (Xu et al., 2010), o que pode ter caracterizado o aumento de lipoperoxidação no tecido cerebral quando associado estes dois fatores (obesidade e poluição atmosférica) em nosso estudo. Entretanto, diferentemente de Xu et al. (2010) esta associação está relacionada ao dano oxidativo na idade adulta, elevado nos grupos DP2 e P2, mas não em exposição precoce (DP1 ou P1).

### Conclusões

Em camundongos expostos a uma dieta hiperlipídica desde o desmame e expostos à poluição na vida adulta, foi observado um aumento na lipoperoxidação que pode indicar um aumento no dano oxidativo no cérebro. Estes resultados indicam que na idade adulta pode haver mais suscetibilidade a danos neurológicos devido à associação da dieta e poluição.

**Palavras-Chave:** Poluição atmosférica, Obesidade, Estresse Oxidativo, Cérebro

### Referências Bibliográficas

BASSO, E. G. de P. SALAMONI, B. et al. EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA EXPOSIÇÃO À POLUIÇÃO SOBRE O PESO CORPORAL E TECIDO ADIPOSEO DE CAMUNDONGOS. II Congresso Internacional em Saúde: Saúde e Meio Ambiente. Mai, 2013.

BLOCK, M.; CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L. Air Pollution: Mechanisms of Neuroinflammation & CNS Disease. Trends Neurosci. September, v. 32. n. 9, p. 506–516. Sep 2009.

CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, L., MORA-TISCAREÑO, A., Air pollution, cognitive deficits and brain abnormalities: A pilot study with children and dogs. Brain Cogn, v. 68, p. 117–127 2008.



# SALÃO DO CONHECIMENTO

UNIJUÍ 2013  
Ciência • Saúde • Esporte



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XXI Seminário de Iniciação Científica

GOUVEIA, N.C, MAISONET, M. Health effects of air pollution: an overview. World Health Organization. Air quality guidelines. Global Update 2005. Copenhagen: WHO Office for Europe; p.87-103. 2006.

HALLIWELL, B. GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford Science Publications, Oxford, 1999.

SANTOS, A. C. A.; LOPES, A. C. T.; et al ESTUDO BIOMÉTRICO DE RATOS ALIMENTADOS COM DOIS TIPOS DE DIETA. Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão, Presidente Prudente, 2010.

XU, X.; YAVAR, Z. et al. Effect of Early Particulate Air Pollution Exposure on Obesity in Mice: Role of p47phox. Arterioscler Thromb Vasc Biol. v. 30, p. 2518-2527; Sep, 2010.

ZANOBETTI, A; SCHWARTZ J. Are Diabetics More Susceptible to the Health Effects of Airborne Particles? Am J Respir Care Med. v. 164, p. 831-833, 2001.

