

designarabio



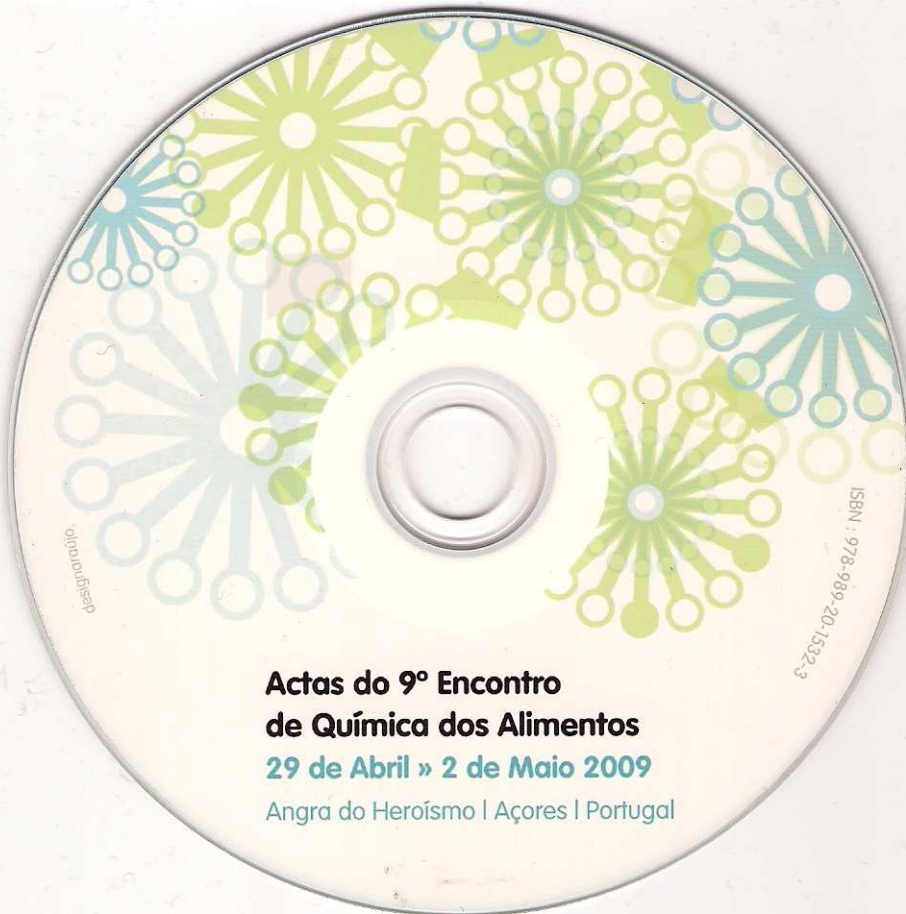
**ENCONTRO
QUÍMICA DOS
ALIMENTOS**

QUALIDADE E SUSTENTABILIDADE
UMA ABORDAGEM INTEGRADA

ISBN : 978-989-20-1532-3

**Actas do 9º Encontro
de Química dos Alimentos**
29 de Abril » 2 de Maio 2009
Angra do Heroísmo | Açores | Portugal

designarabio



ISBN : 978-989-20-1532-3

**Actas do 9º Encontro
de Química dos Alimentos**
29 de Abril » 2 de Maio 2009
Angra do Heroísmo | Açores | Portugal

PRÓPOLIS: EFEITO NA FRAGILIDADE OSMÓTICA DA MEMBRANA ERITROCITÁRIA

Moreira L.L.^{1,2}, Rogão M.³, Pereira A.P.², Costa B.⁴, Pereira E.², Morais M.², Pombo G.¹,
Estevinho L.M.^{2*}

¹CHNE – Centro Hospitalar do Nordeste – Unidade de Bragança; ²CIMO – Centro de Investigação de Montanha do Instituto Politécnico de Bragança; ³Escola Superior de Saúde de Bragança; ⁴Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho

Campus Santa Apolónia – Apartado 1172, 5301-855 Bragança

Tel. +351 273 303 200 Fax +351 273 325 405 e-mail: leticia@ipb.pt

Palavras-chave: própolis; esferocitose hereditária; fragilidade osmótica; membrana eritrocitária.

Resumo: Própolis é uma substância resinosa colhida das plantas, pelas abelhas. A composição do própolis depende da vegetação envolvente, da estação do ano, e da área da qual provém. Este produto da colmeia contém normalmente, uma grande variedade de compostos químicos, tais como polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres), esteróides e aminoácidos.

A esferocitose hereditária (EH) é um tipo de anemia de transmissão hereditária que resulta da presença de eritrócitos microcíticos e hiper Cromias, esféricos e sem palidez central. Clinicamente, os indivíduos apresentam normalmente desde condições assintomáticas até anemias hemolíticas graves.

Os objectivos deste estudo foram avaliar o efeito de dois extractos de própolis, oriundos de diferentes regiões (Bornes – Trás-os-Montes; Fundão – Beira Interior), na fragilidade osmótica da membrana eritrocitária em pacientes com Esferocitose Hereditária.

Para avaliar o efeito do própolis este foi extraído com DMSO (Dimetilsulfóxido), e posteriormente testado no sangue de dois indivíduos, um com esferocitose hereditária e outro sem esta patologia. O sangue utilizado foi obtido por punção venosa com EDTA sódico.

No indivíduo portador da doença procedeu-se aos testes de fragilidade osmótica, tendo-se verificado que ambos os própolis demonstraram efeito sob a membrana do eritrócito, no entanto o efeito do própolis oriundo de Bornes - Trás-os-Montes foi mais acentuado comparativamente com o do Fundão – Beira Interior.

Estes resultados abrem portas a investigações futuras, no sentido de elucidar os mecanismos pelos quais o própolis altera a fragilidade da membrana eritrocitária.

1. INTRODUÇÃO

Própolis é uma substância resinosa colhida das plantas, pelas abelhas. A sua composição depende da vegetação envolvente, da estação do ano, e da área de proveniência [1]. Este produto da colmeia contém normalmente, uma grande variedade de compostos químicos, tais como polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres), esteróides e aminoácidos [2].

A esferocitose hereditária é uma anemia hemolítica congénita, com origem na alteração das proteínas de membrana dos eritrócitos, que leva a uma maior susceptibilidade há hemólise e diminuem a sobre-vida da célula.

A EH é originada por um defeito na membrana eritrocitária, resultando numa instabilidade do citoesqueleto celular. O eritrócito perde superfície, tornando-se esférico e de menor tamanho. Consequentemente, estas células são rapidamente sequestradas da circulação pelo baço.

Existem quatro tipos de anormalidades na proteína da membrana do eritrócito que podem causar a EH: deficiência de espectrina, deficiência de espectrina associada a anquirina, deficiência da banda 3 ou defeitos na proteína 4.2. A deficiência de espectrina é a causa mais comum.

O estudo realizado é do tipo experimental, e teve como objectivos: avaliação do efeito do extracto de própolis na fragilidade osmótica da membrana eritrocitária; avaliação do efeito em pacientes com Esferocitose Hereditária (EH); comparação do efeito de dois própolis provenientes de diferentes regiões (Bornes – Trás-os-Montes; Fundão – Beira Interior).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

Foi testada a fragilidade osmótica dos eritrócitos de dois indivíduos, um com EH, e outro sem este síndrome. Os indivíduos colaboraram voluntariamente neste trabalho e consentiram a publicação dos resultados. Todas as normas de sigilo profissional e de ética foram cumpridas ao longo deste trabalho experimental.

As amostras de própolis tiveram origem em duas regiões de Portugal: Trás-os-Montes e Beira Interior (Figura 1).



Figura 1. Localização da origem das amostras: Bornes (azul) e Fundão (vermelho)

2.2. Fragilidade osmótica

Para a realização deste ensaio utilizou-se sangue colhido por punção venosa heparinizado, de um indivíduo com esferocitose hereditária e outro sem este síndrome, para controlo. O ensaio foi realizado de imediato, de forma a não ultrapassar as duas horas máximas recomendadas, quando a amostra se encontra à temperatura ambiente.

O teste da fragilidade osmótica mede a resistência dos eritrócitos à hemólise por stress osmótico. O teste consiste na exposição de eritrócitos a soluções salinas hipotónicas de concentração decrescente. A quantificação do grau de hemólise foi realizada à temperatura ambiente (15°C a 20°C), por colorimetria. A percentagem de hemólise representou-se através de um gráfico que relacionou a concentração da solução salina com o grau de hemólise. Este normalmente tem a forma sigmoidal.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com este estudo pretendeu-se avaliar a possibilidade de utilizar o própolis como agente farmacológico, que actue ao nível da membrana eritrocitária. Para o efeito, tal como como referido na secção material e métodos, foi recolhido sangue a dois indivíduos, um saudável e outro com a síndrome. Na figura 2 apresenta-se a observação microscópica da morfologia eritrocitária dos dois indivíduos, sendo A o indivíduo com a síndrome e B o indivíduo saudável utilizado como controlo.

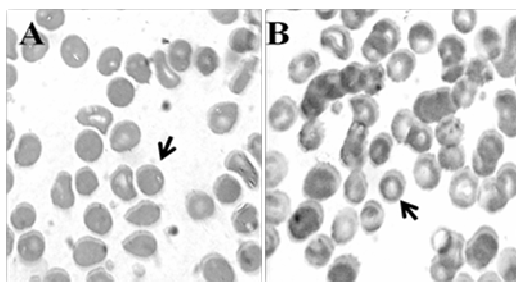


Figura 2. Imagens microscópicas dos eritrócitos do paciente (A) e do controlo (B), a uma ampliação de 1000x.

Com a realização deste estudo, obtivemos os resultados que constam na figura 2 e 3. Assim, pela observação microscópica confirmou-se que o indivíduo com esferocitose hereditária apresenta esferócitos (eritrócitos que perderam a sua elasticidade e por isso adquirem a forma esférica) característicos desta síndrome (Figura 2. A). Quanto ao indivíduo controlo, este apresentou uma morfologia eritrocitária dentro dos padrões normais, ou seja, eritrócitos com forma de disco bicôncavo (Figura 2. B).

O tratamento *in vitro* das células eritrocitárias com própolis alterou a fragilidade osmótica. Como podemos verificar na figura 3 (A, B e C), o própolis diminui a fragilidade das células, sendo o de Bornes (C), mais eficaz comparativamente com o do

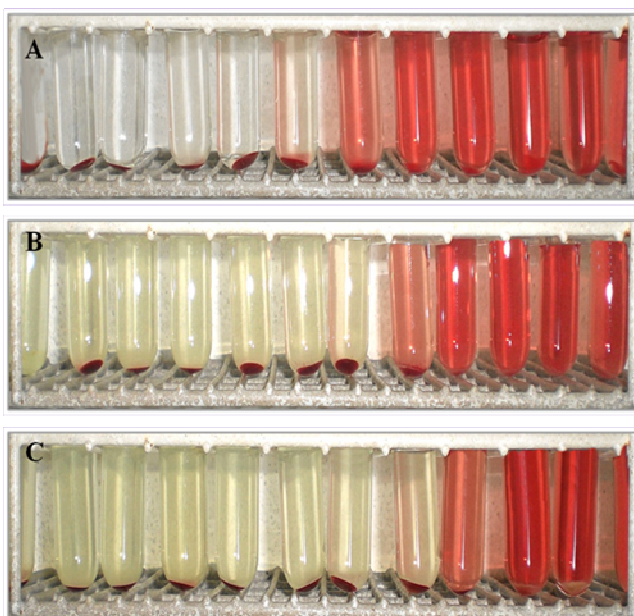


Figura 3. Tubos do teste de fragilidade osmótica: A- Controlo; B-Com própolis do Fundão; C-Com própolis de Bornes

Fundão (B).

Com os resultados obtidos no teste da fragilidade osmótica contraíram-se os gráficos da figura 4 e 5. Da análise dos resultados verificou-se que o própolis afectou a membrana eritrocitária, quer do indivíduo controlo, quer do indivíduo com EH.

No indivíduo com EH, a hemólise sem própolis iniciou-se para a concentração de 5,5 g/L de NaCl, enquanto, na presença de própolis foi de 5,0 g/L e 4,0 g/L, para o própolis do Fundão e de Bornes respectivamente.

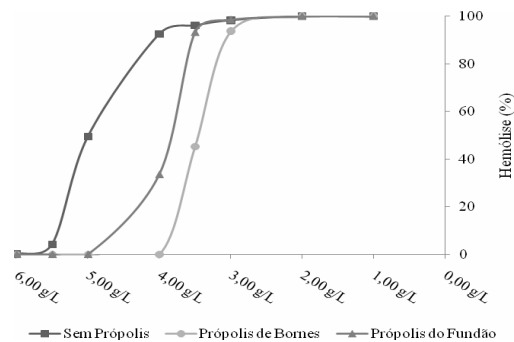


Figura 4. Gráfico comparativo das percentagens de hemólise obtidas no indivíduo controle, com e sem a exposição ao própolis

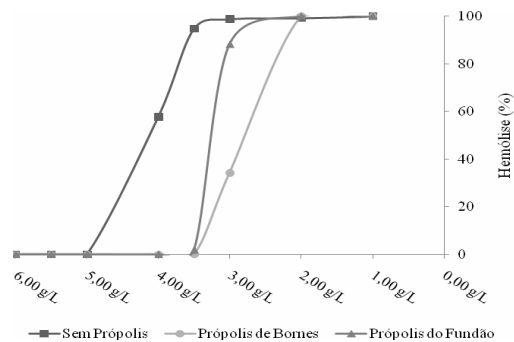


Figura 5. Gráfico comparativo das percentagens de hemólise obtidas no indivíduo com EH, com e sem a exposição ao própolis

Pensa-se que os compostos responsáveis por esta actividade sejam os fenólicos, não havendo no entanto estudos conclusivos.

Dada a importância destes resultados, e uma vez que ainda não existem terapias eficazes para esta doença, a nossa equipa de trabalho irá em estudos posteriores proceder à identificação dos compostos envolvidos nesta actividade, bem como à identificação dos alvos moleculares na membrana eritrocitária.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] – L. Moreira, L. G. Dias, J. A. Pereira, L. Estevinho. *Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal*, Food and Chemical Toxicology, **46** (2008), 3482-3485
- [2] - J.M. Murad, S.A. Calvi, A.M.V.C. Soares, V. Bankova, J.M. Sforcin. *Journal of Ethnopharmacology* **79** (2002). 331-334.