

## **AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS ANTIMICROBIANOS TRICLOSAN E TRICLOCARBAN NA FLUIDEZ DE MEMBRANA DE LIPOSSOMAS DE PALMITOILEOILFOSFATIDILCOLINA**

Sophia Hellen de Assis Domingues (PIBIC/CNPq/UEM), Kellen Brunaldi (Orientadora). E-mail: kbrunaldi@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Ciências Biológicas, Biofísica/Biofísica Molecular

**Palavras-chave:** fluorescência; bicamada lipídica; viscosidade.

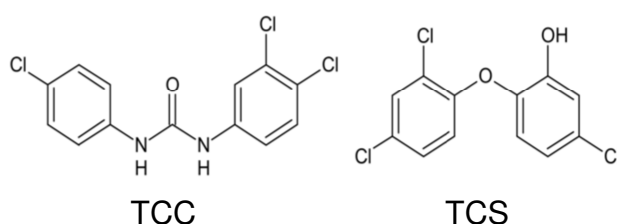
### **RESUMO**

O triclosan (TCS) e o triclocarban (TCC) são antimicrobianos utilizados em produtos de higiene, cosméticos, brinquedos e roupas, que se acumulam na água e no solo, representando riscos à saúde. Por serem hidrofóbicos, seus efeitos tóxicos podem se iniciar na membrana celular. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto do TCS e do TCC na fluidez de membrana de lipossomas por espectroscopia de fluorescência. Lipossomas de palmitoilfosfatidilcolina (POPC), formados pelo método de filme fino seguido de extrusão, foram marcados com as sondas fluorescentes pireno e laurdan, que se ligam em diferentes regiões da bicamada lipídica. Os antimicrobianos causaram uma redução dose-dependente na fluorescência do pireno e do laurdan, indicando ligação à bicamada lipídica. A razão entre a intensidade dos excímeros e monômeros de pireno (E/M) permaneceu inalterada, sugerindo que a fluidez na região das cadeias de ácidos graxos não foi afetada. A razão entre as intensidades das bandas 1 e 3 do pireno foi reduzida, indicando menor polaridade ao redor das moléculas de pireno. A análise da polarização generalizada (GP) do laurdan indicou aumento da fluidez na região da cabeça polar dos fosfolípidios pelo TCC e, redução pelo TCS. Em resumo, o TCS e TCC apresentam efeitos distintos na fluidez de membrana, sugerindo mecanismos de ação e consequências biológicas variadas. Compreender essas diferenças é crucial para avaliar os riscos à saúde associados à acumulação ambiental desses compostos.

### **INTRODUÇÃO**

O triclosan (TCS) e o triclocarban (TCC) são antimicrobianos amplamente empregados em produtos de higiene pessoal, cosméticos, roupas e brinquedos (Figura 1). Contudo, esses compostos se acumulam na água e no solo,

representando um risco à saúde, especialmente por meio de desregulação endócrina. Ainda, dada a elevada hidrofobicidade, postula-se que parte dos efeitos tóxicos do TCC e TCS se devem à interação com a membrana celular (ZHANG; LU, 2023). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do TCC e TCS na fluidez de lipossomas livres de proteínas, um modelo biomimético da membrana celular. Para isso, foram empregadas as sondas fluorescentes pireno e laudan, que se localizam preferencialmente na região das cadeias de ácidos graxos e cabeça polar dos fosfolipídios, respectivamente.



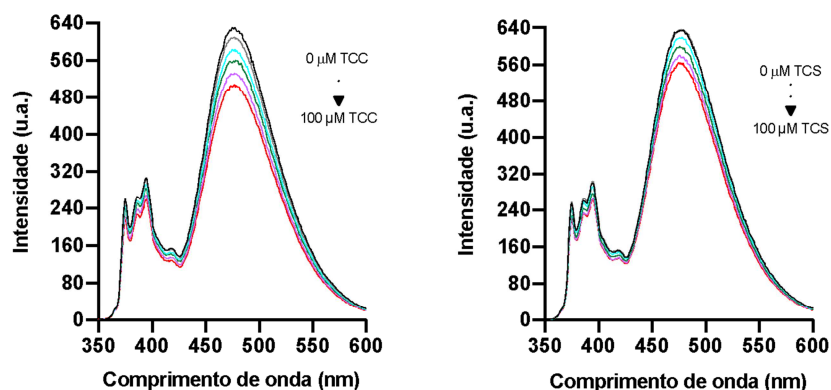
**Figura 1.** Estrutura química do triclocarban e do triclosan, respectivamente.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Lipossomas do tipo LUV (*large unilamellar vesicle*) de palmitoiloleoilfosfatidilcolina (POPC) foram preparados pelo método de filme fino, seguido de extrusão, em tampão trizma base 25 mM e KCl 150 mM (pH 7,4). As LUVs (300  $\mu$ M de POPC) foram incubadas com as sondas fluorescentes pireno (9 mol%) e laurdan (0,7 mol%) por 1 a 3 horas. As medidas de fluorescência no estado estacionário foram obtidas com um fluorímetro Cary Eclipse Varian. O pireno foi excitado em 340 nm e, a partir do seu espectro de emissão, foram calculadas as razões E/M ( $I_{375}/I_{473}$ ) e  $I_1/I_3$  ( $I_{375}/I_{393}$ ), que reportam a fluidez e polaridade da membrana, respectivamente. O laurdan foi excitado em 338 nm. A polarização generalizada (GP) foi calculada como GP:  $(I_{440}-I_{490})/(I_{440}+I_{490})$  (MARTINS, 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O TCC e o TCS reduziram a fluorescência dos monômeros e excímeros de pireno de forma dose-dependente (Figura 2). Embora a razão E/M, que mede a fluidez da membrana, tenha permanecido inalterada, a diminuição na razão  $I_1/I_3$  indica uma redução na polaridade ao redor das moléculas de pireno (Tabela 1). Esses resultados sugerem que os antimicrobianos se ligam à bicamada lipídica sem afetar a fluidez da membrana na região das cadeias de ácidos graxos dos fosfolipídios.



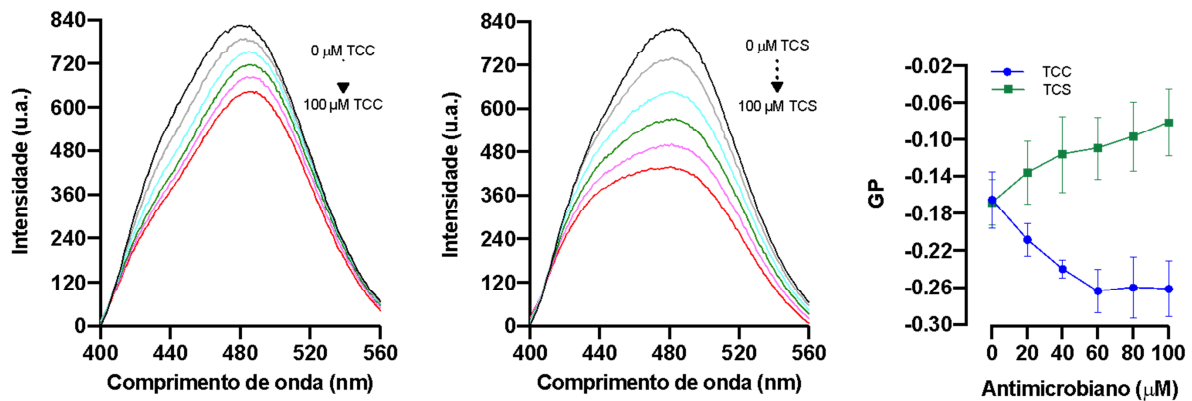
**Figura 2** - Espectro de emissão do pireno. LUVs: 300 µM de POPC e 0,9 mol% pireno. Antimicrobianos: 20, 40, 60, 80 e 100 µM. Exc: 340 nm. Fendas de excitação 2,5 nm e emissão 5 nm.

**Tabela 1** – Razões E/M e  $I_1/I_3$  do pireno em LUVs de POPC.

|        | E/M           |               | $I_1/I_3$       |                |
|--------|---------------|---------------|-----------------|----------------|
|        | TCC           | TCS           | TCC             | TCS            |
| Ctrl   | 2,326 ± 0,138 | 2,402 ± 0,238 | 0,973 ± 0,013   | 0,995 ± 0,028  |
| 20 µM  | 2,295 ± 0,139 | 2,413 ± 0,201 | 0,963 ± 0,008   | 0,968 ± 0,005  |
| 40 µM  | 2,304 ± 0,144 | 2,425 ± 0,288 | 0,957 ± 0,004   | 0,972 ± 0,033  |
| 60 µM  | 2,295 ± 0,153 | 2,508 ± 0,296 | 0,955 ± 0,003   | 0,950 ± 0,007  |
| 80 µM  | 2,295 ± 0,170 | 2,527 ± 0,304 | 0,946 ± 0,008*  | 0,932 ± 0,018  |
| 100 µM | 2,254 ± 0,150 | 2,481 ± 0,250 | 0,954 ± 0,0005* | 0,916 ± 0,056* |

Concentração de POPC: 300 µM. Os valores são a média e o desvio padrão de 3 experimentos independentes. \*diferente do controle (ctr).

O TCC e o TCS reduziram a fluorescência do laurdan de forma dose-dependente (Figura 3). O TCC causou um pequeno deslocamento do pico de emissão para a direita, enquanto o TCS tornou o pico menos definido e deslocado para a esquerda. A polarização generalizada (GP), uma quantificação do deslocamento do espectro de emissão do laurdan, mostrou que o TCC aumentou a fluidez da membrana, enquanto o TCS a reduziu, refletindo efeitos opostos na polaridade e hidratação da bicamada lipídica na região da cabeça polar dos fosfolipídios (Figura 3).



**Figura 3.** Espectro de emissão e GP do laurdan. LUVs: 300 μM de POPC e 0,7 mol% de laurdan. Antimicrobianos: 20, 40, 60, 80 e 100 μM. Exc: 338 nm. Fendas de excitação 5 nm e emissão 10 nm. Os valores de GP correspondem a média de 3 experimentos independentes.

## CONCLUSÃO

O TCS e o TCC, apesar de se ligarem à bicamada lipídica, afetam diferentemente a fluidez da membrana, com o TCC aumentando a fluidez e o TCS a reduzindo. Compreender essas diferenças é crucial para avaliar os riscos à saúde associados à acumulação ambiental desses compostos.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à Fundação Araucária pelo incentivo à pesquisa e concessão da bolsa de iniciação científica.

## REFERÊNCIAS

ZHANG, D.; LU, Shaoyou. A holistic review on triclosan and triclocarban exposure: Epidemiological outcomes, antibiotic resistance, and health risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 872, p. 162114, 2023.

MARTINS, Y. A. **Fluidez e composição de membrana de hemácias de camundongos transgênicos para a apolipoproteína CIII**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, 2019.