

## **AVALIAR O EFEITO DO FOTOSSENSIBILIZADOR ROSA DE BENGALA SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO DA GLICOSE EM CAMUNDONGOS SWISS UTILIZANDO A TÉCNICA DE PERFUSÃO DE FÍGADO *IN SITU*.**

Juliana Maria de Pascoli (PIBIC/CNPq-FA - UEM), Vilma A. F. de Godoi (Orientadora), Maria Montserrat D. Pedrosa (Co-orientadora)  
Email: vafggazola@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Fisiológicas/Maringá, PR.

**Área do conhecimento: Ciências Biológicas; Sub-área do conhecimento: Fisiologia.**

**Palavras-chave:** rosa de bengala, fígado, glicose, camundongo

**Resumo:** O princípio básico da TFD consiste na administração tópica ou sistêmica do fotossensibilizador (FS), excitação do FS com luz de comprimento de onda adequado, geração de oxigênio singlete ou espécies radicalares de oxigênio e morte celular. A utilização de nanopartículas, como as de sílica porosa, para transportar FS tem sido amplamente explorada, com o objetivo de resolver melhorar a solubilidade. Por outro lado, o fígado é o principal órgão envolvido na homeostase glicêmica. A insuficiência desses mecanismos glicorregulatórios predispõe o indivíduo ao estresse oxidativo, hiperglicemia e Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1). A rosa de bengala é um FS com elevada capacidade anti-carcinogênica demonstrada *in vitro*. No entanto, não há relatos na literatura sobre seus efeitos sobre os parâmetros metabólicos do fígado *per se* em modelos *in vivo*. Portanto, esse projeto visa avaliar os efeitos do FS rosa de bengala, sem iluminação, sobre o metabolismo da glicose no fígado íntegro por meio da técnica de perfusão de fígado *in situ*, em modelos experimentais de camundongos Swiss.

### **Introdução:**

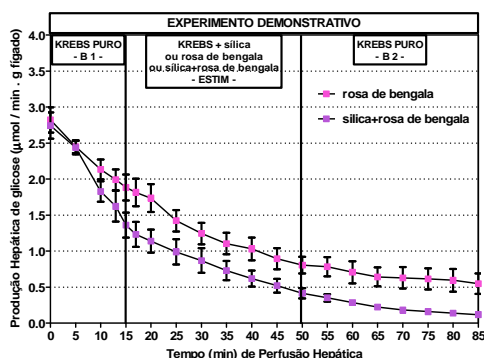
A terapia fotodinâmica (TFD) consiste na administração tópica ou sistêmica de um agente fotossensibilizador (FS), sua excitação com luz, formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais promovem a morte celular com elevada seletividade para o tecido tumoral. A rosa de bengala, é um FS com elevada capacidade anti-carcinogênica *in vitro*, e ensaios de biodistribuição mostraram o fígado como órgão central na captação dessa molécula (PANZARINI et al, 2014, SANABRIA et al, 2013). No entanto, não há relatos na literatura sobre seus efeitos sobre os

parâmetros metabólicos do fígado *per se* em modelos *in vivo*. Portanto, esse projeto visa avaliar os efeitos do FS, encapsulado com nanopartículas de sílica porosa, sobre o metabolismo hepático da glicose em perfusão de fígado *in situ* de camundongos Swiss.

## Materiais e métodos:

**Animais:** 15 camundongos machos adultos (22d/22g) da linhagem Swiss (5445011/2015 CEUA/UEM) do biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas (23°C-25°C, 12h claro/12h escuro) receberam ração padronizada (Nuvital®) e água *ad libitum*. **Perfusão de fígado *in situ*:** Animais alimentados e anestesiados (tiopental 40mg/Kg + lidocaína 10mg/Kg) foram submetidos à laparotomia. Os fígados foram perfundidos com tampão Krebs-Henseleit-Bicarbonato (KH, pH 7,4), aquecido a 37°C e saturado com O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95/5%), da seguinte forma (Figura 1): infusão de 15 min com KH (Basal 1=B1), 30 min com o tampão KH mais substância teste (Estimulado=ESTIM, rosa de bengala 5,00µg/mL; ou sílica na concentração de 36 mg/250 mL; ou sílica + rosa de bengala nas concentrações de 36 mg/250 mL + 5,00 µg/mL.) e 30 min com KH (Basal 2=B2). No perfusado coletado foi mensurado glicose, L-lactato e piruvato; o que permitiu o cálculo da glicogenólise (GG= glicose + (lactato+piruvato/2)), glicólise (Gc= lactato + piruvato/2) e razão NADH/NAD<sup>+</sup> (lactato÷piruvato). Também foi avaliada a lesão hepática pela produção de bilirrubina total (BT), aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP). **Análise estatística:** teste “t” de Student ou análise de variância (ANOVA) empregando-se o programa GraphPad Prism – versão 5.0. Dados apresentados como média ± dp, n=5/grupo, área sob a curva (AUC, µmol/g de fígado, nível de significância de 95%).

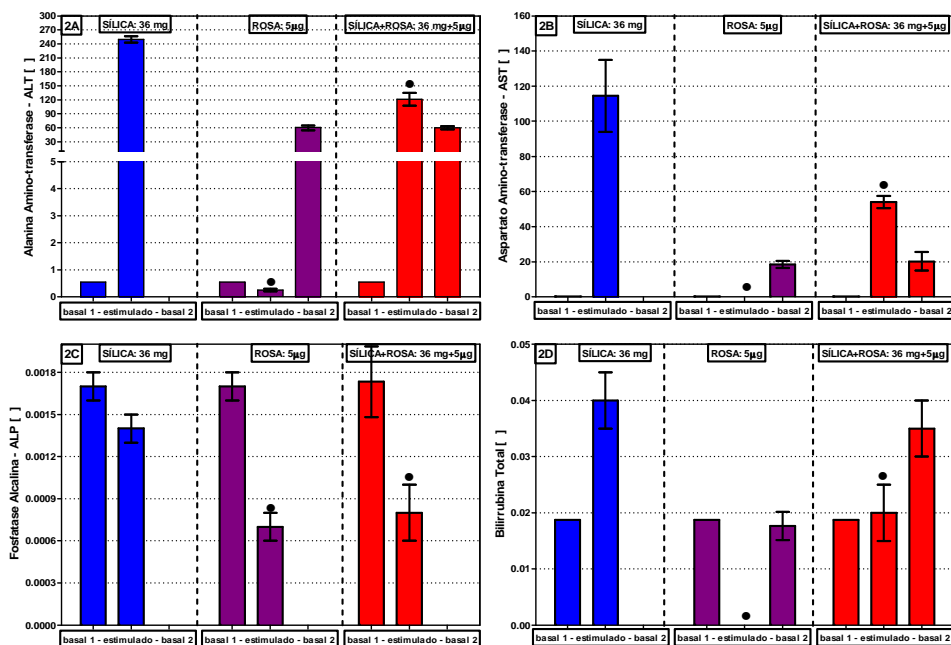
**Figura 1:** Experimento demonstrativo do experimento de perfusão de fígado *in situ* de camundongos Swiss alimentados. Representa a concentração de glicose (µmol/min.g fígado) em função do tempo (min) de perfusão do KH (Basal 1=B1=15 min); KH+estímulo (ESTIM=30 min, rosa de bengala na forma livre ou na forma encapsulada em nanopartícula de sílica); KH (Basal 2=B2=30 min). Os resultados foram apresentados na forma de AUC (µmol/g).



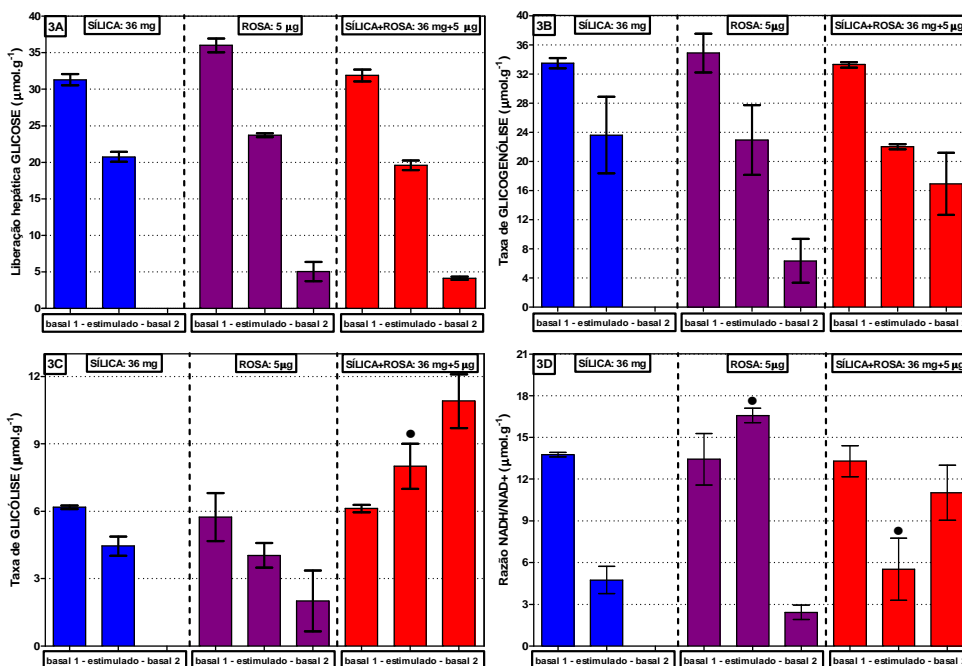
## Resultados e Discussão

A nanopartícula de sílica porosa apresentou AST, ALT, ALP e BT elevados ( $p < 0,05$ ) quando comparada à rosa de bengala. A associação de ambas

aumentou ( $p < 0,05$ ) o nível de ALT, AST e BT comparada à rosa de bengala isolada (Figura 2).



**Figura 2:** Perfusão de fígado *in situ* mostrando a área sob a curva (AUC) da liberação hepática de alanina transaminase (2A-ALT), aspartato transaminase (2B-AST), fosfatase alcalina (2C-ALP) e bilirrubina total (2D-BT) em camundongos Swiss alimentados. ●  $p < 0,05$  vs estimulado sílica 36mg.



**Figura 3:** Perfusão de fígado *in situ* mostrando a área sob a curva (AUC) da liberação hepática de glicose (3A), Glicogenólise (3B-GG), Glicólise (3C-Gc) e Razão NADH/NAD<sup>+</sup> (3D) em camundongos Swiss alimentados. ●  $p < 0,05$  vs estimulado sílica 36 mg e rosa 5 µg.

Com relação aos parâmetros metabólicos, a nanopartícula e a rosa de bengala, isoladas e combinadas, não alteraram ( $p > 0,05$ ) a glicogenólise e a liberação hepática de glicose. No entanto, a rosa de bengala isolada aumentou ( $p < 0,05$ ) a razão NADH/NAD<sup>+</sup>, efeito abolido pela associação da mesma com a nanopartícula. A nanopartícula e a rosa isoladamente não alteraram ( $p > 0,05$ ) a glicólise, mais combinados aumentaram ( $p < 0,05$ ) a mesma (Figura 3).

### Conclusões

Os resultados mostraram que o FS rosa de bengala alterou o potencial redox do citoplasma dos hepatócitos e a taxa glicolítica, ainda, apresentaram índice relativamente baixo de toxicidade hepática. No entanto, a sílica apresentou elevada toxicidade não revertida na presença da rosa de bengala e, portanto, necessita de maiores avaliações.

### Agradecimentos

Ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pelo incentivo à pesquisa.

### Referências

SANABRIA, L. M.; RODRÍGUEZ, M. E.; COGNO, I. S.; VITTAR, N. B. R.; PANSA, M. F.; LAMBERTI, M. J.; RIVAROLA, V. A. Review: Direct and indirect photodynamic therapy effects on the cellular and molecular components of the tumor microenvironment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. v. 1835(1), p 36–45, 2013.

PANZARINI, E.; INGUSCIO, V.; FIMIA, G. M.; DINI, L. Rose Bengal Acetate PhotoDynamic Therapy (RBAC-PDT) Induces Exposure and Release of Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) in Human HeLa Cells. *PLoS ONE* 9(8): e105778, 2014.