

EFEITOS COMPARATIVOS DO TRIÓXIDO DE ARSÊNIO E DO ÁCIDO CACODÍLICO SOBRE A GLICONEOGÊNESE HEPÁTICA

Amanda Pagliarini da Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Adelar Bracht, Nairana Mithieli de Q. Eskuarek Melo (Co-orientadora), Lívia Bracht (Orientadora). E-mail: lbracht@uem.br.

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

Ciências Biológicas/Bioquímica

Palavras-chave: arsenicais; fígado; produção de glicose.

RESUMO

A atividade tóxica do arsênio pode afetar várias enzimas e induzir alterações patológicas nos tecidos. Há poucas investigações detalhando as ações de curto prazo destes compostos sobre os fluxos metabólicos. No presente trabalho, foram investigadas as ações do trióxido de arsênio e do ácido cacodílico sobre a gliconeogênese a partir de lactato no fígado perfundido isolado de rato. Os experimentos revelaram que o trióxido de arsênio, em concentrações de até 25 μM , inibiu a gliconeogênese em graus menores. No entanto, a partir da concentração de 100 μM , quase aboliu a gliconeogênese a partir de lactato. A inibição da captação de oxigênio ocorreu paralelamente à inibição da gliconeogênese. Já o ácido cacodílico, na faixa de até 10 mM, não afetou a gliconeogênese nem a captação de oxigênio. Pode-se concluir que, em relação ao metabolismo de carboidratos, o trióxido de arsênio é muito mais tóxico do que o ácido cacodílico.

INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um metaloide altamente tóxico presente no solo, no ambiente e até mesmo nas águas subterrâneas, sendo considerado um preocupante poluente ambiental (Deng et al., 2021).

É importante ressaltar, que os arsenicais orgânicos, além de estarem presentes no ambiente pela ação humana, surgem nos organismos em virtude da própria biotransformação dos arsenicais inorgânicos. Os efeitos tóxicos destes compostos arsenicais podem ser observados em diferentes sistemas do organismo, pois a exposição prolongada pode causar doenças cardiovasculares, neurológicas, diabetes mellitus e até mesmo câncer em regiões como fígado, pele e bexiga (Liu et al., 2006).

O composto organoarsenical ácido cacodílico, é utilizado na agricultura fazendo parte da composição de herbicidas utilizados para o controle de ervas daninhas e para desfolha do algodão, por exemplo. Sua toxicidade aguda apesar de baixa quando comparada com outros compostos, é atribuída à rápida excreção urinária que acontece na maioria das espécies com exceção dos ratos, onde este composto é eliminado lentamente segundo estudos previamente publicados (Deng et al., 2021).

O objetivo geral do projeto foi realizar um estudo sistemático e comparativo sobre os efeitos de compostos arsenicais orgânicos e inorgânicos sobre a gliconeogênese a partir de lactato no fígado, visando esclarecer melhor os efeitos que estes compostos exercem sobre o metabolismo hepático e sobre o tecido como um todo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 200-250g, obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e mantidos sob condições laboratoriais padrão. Para o procedimento de remoção do fígado, os ratos foram anestesiados por injeção intraperitoneal de Cetamina (70mg/kg) + Xilazina (7mg/Kg). Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo número CEUA 5386010223).

A técnica de perfusão

O sistema experimental básico foi o fígado em perfusão isolada. A perfusão com líquido livre de hemoglobina foi feita no modo não-recirculante de acordo com a técnica descrita em Bracht *et al.* (2003). O líquido de perfusão foi o tampão Krebs-Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de oxigênio e dióxido de carbono (95:5) através de um oxigenador de membrana com ajuste simultâneo de temperatura a 37 °C. O substrato lactato (2,0mM) foi dissolvido no líquido de perfusão de acordo com cada protocolo específico. Os compostos arsenicais utilizados foram diretamente dissolvidos no líquido de perfusão e infundidos em concentrações diferentes. Amostras do líquido de perfusão efluente foram coletadas em intervalos de 2 ou de 4 minutos e analisadas pelos seus teores de glicose.

A glicose foi dosada enzimaticamente pela técnica da glicose oxidase de (Bergmeyer, 1974). A concentração de oxigênio no perfusado efluente foi monitorada continuamente por polarografia (Bracht e Ishii-Iwamoto, 2003).

Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos em gráficos e tabelas como médias \pm erros-padrão das médias. A análise estatística foi feita utilizando Software GraphPad Prism versão 5.0. A significância estatística dos dados foi avaliada por ANOVA ONE-

WAY com post-hoc teste de Newman-Keuls. O nível de 5% ($p < 0.05$) foi adotado como critério de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos realizados com trióxido de arsênio são ilustrados na Figura 1, que mostra o transcurso de tempo da produção de glicose e o consumo de oxigênio pelo fígado. As condições foram alteradas pela infusão de lactato aos 10 minutos e da introdução do trióxido de arsênio dos 36 aos 58 minutos. A introdução de lactato aumentou progressivamente a produção de glicose e o consumo de oxigênio até atingir o estado estacionário após os 20 minutos.

A súbita introdução de trióxido de arsênio causou uma progressiva inibição da produção de glicose. Nas concentrações de 100 a 500 μM esta inibição foi total a ponto de praticamente atingir os níveis basais no final do período de infusão ($p \leq 0,05$). Nas concentrações de 10 e 25 μM , no entanto, a inibição foi menor, embora ainda significativa ($p \leq 0,05$). O consumo de oxigênio também foi inibido. Inibição máxima foi observada nas concentrações de 250 e 500 μM ; também houve inibição, embora menor, com a concentração de 100 μM , que mostrou uma clara tendência em inibir a gliconeogênese, mas o efeito aparentemente foi transitório, quer dizer, houve um retorno aos níveis basais antes do encerramento da infusão do trióxido de arsênio. Já nas concentrações menores (10 e 25 μM) não houve inibição do consumo de oxigênio. A inibição observada pelo trióxido de arsênio é plenamente comparável com a de outros arsenicais como o arsenito de sódio, cujo IC_{50} para a inibição da neoglicogênese é igual a 25 μM (Melo et al., 2024).

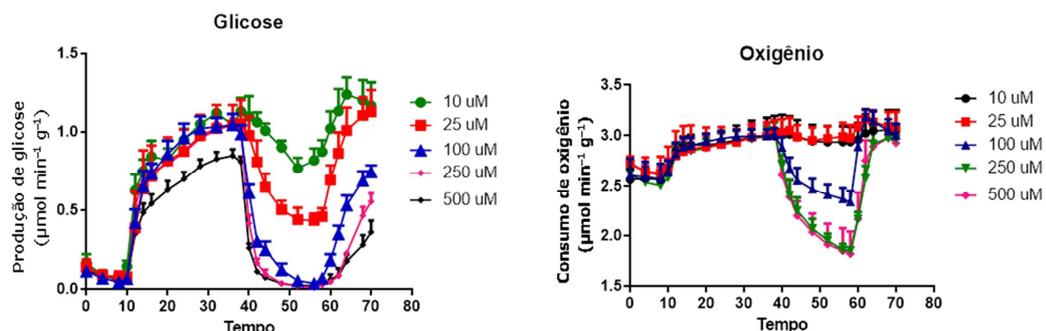


Figura 1. Produção de glicose e consumo de oxigênio durante a infusão de lactato e trióxido de arsênio pelo fígado de rato em perfusão isolada. Os procedimentos de perfusão estão descritos em Materiais e Métodos. A infusão de lactato foi iniciada aos 10 minutos e continuada até o final. A introdução do trióxido de arsênio foi iniciada aos 36 minutos e interrompida aos 58 minutos. Os pontos experimentais são média \pm erro padrão da média de ao menos 3 experimentos.

Adicionalmente, pode-se verificar ainda que a inibição da produção de glicose e do consumo de oxigênio começaram a ser revertidas após o encerramento da infusão do trióxido de arsênio. Os efeitos do trióxido de arsênio foram, portanto, reversíveis, quer dizer, ao menos no curto espaço de 20 minutos não houve danos irreversíveis ao sistema de síntese de glicose, que envolve um cross-talking complexo entre citosol e mitocôndrias.

Conforme previsto, experimentos similares aos mostrados na Figuras 1 foram feitos com ácido cacodílico 0,5 e 1 e 10 mM. Em nenhum dos casos houve qualquer alteração no consumo de oxigênio ou na gliconeogênese.

CONCLUSÕES

Conclui-se, portanto, que o trióxido de arsênio inibe a gliconeogênese a partir de lactato no fígado, enquanto o ácido cacodílico não apresenta esse efeito. A inibição da neoglicogênese promovida pelo trióxido de arsênio, por outro lado, pode ser considerada como sendo bastante efetiva.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio do CNPq pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

BERGMEYER, H. U. **Methods of enzymatic analysis**. London: Verlag Chemie-Academic Press, 1974.

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E. L. **Métodos de laboratório em bioquímica**. Barueri: Manole, 2003.

DENG, S. *et al.* Toxicity assessment of earthworm exposed to arsenate using oxidative stress and burrowing behavior responses and an integrated biomarker index. **Science of the Total Environment**, v. 800, p. 149479, 2021.

LIU, Z. *et al.* Mammalian glucose permease GLUT1 facilitates transport of arsenic trioxide and methylarsonous acid. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 351, p. 424-430, 2006.

MELO, N.M.Q. *et al.* Short-term effects of sodium arsenite (AsIII) and sodium arsenate (AsV) on carbohydrate metabolism in the perfused rat liver. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 107, p. 104397, 2024.