

EFEITOS DO TRIÓXIDO DE ARSÊNIO SOBRE A GLICÓLISE EM ERITRÓCITOS ISOLADOS

Amanda Pagliarini da Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Nairana Mithieli de Queiroz Eskuarek Melo (Co-orientadora), Adelar Bracht, Lívia Bracht (Orientador).
E-mail: amandapagliarinidasilva@gmail.com.

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

Ciências Biológicas/Bioquímica

Palavras-chave: metabolismo; arsenicais; hemácias.

RESUMO

O trióxido de arsênio (As_2O_3) é utilizado no tratamento da leucemia promielocítica aguda, mas apresenta efeitos tóxicos relevantes. Em meio fisiológico, adquire uma estrutura semelhante à glicose, competindo pelo transportador GLUT1 e afetando o metabolismo energético. Este estudo avaliou os efeitos do As_2O_3 sobre a via glicolítica de eritrócitos isolados de ratos. Os eritrócitos foram incubados em tampão Krebs-Henseleit com glicose (2 mM) e diferentes concentrações de As_2O_3 , sendo a produção de lactato mensurada enzimaticamente. No grupo controle, verificou-se aumento progressivo de lactato, refletindo a atividade glicolítica normal, ao passo que, na presença de 50 μM de As_2O_3 , os valores permaneceram próximos ao controle, indicando apenas uma discreta interferência. Entretanto, concentrações de 500 μM e 1 mM reduziram significativamente a produção de lactato, revelando inibição importante da via. Esse efeito pode estar associado à interação do arsênio com intermediários fosforilados e à inibição de enzimas-chave. Assim, conclui-se que o trióxido de arsênio inibe a glicólise de maneira dose-dependente nos eritrócitos.

INTRODUÇÃO

O trióxido de arsênio (As_2O_3) é um composto sólido e anidro amplamente reconhecido por sua aplicação clínica no tratamento da leucemia promielocítica aguda (LPA) (Shigeno et al., 2005). Apesar dos resultados terapêuticos promissores do As_2O_3 , particularmente no tratamento de neoplasias hematológicas, sua aplicação clínica exige cautela, uma vez que os seus efeitos tóxicos já foram amplamente demonstrados (Douer e Tallman, 2005).

O trióxido de arsênio em pH fisiológico altera sua estrutura para $(\text{As}(\text{OH})_3)$, e se assemelha estruturalmente à glicose, o que permite que ele entre nas células através dos transportadores de glicose, especialmente o GLUT1. Essa competição com a glicose pelos sítios de ligação do transportador é um dos mecanismos pelos quais o trióxido de arsênio exerce sua toxicidade (Liu et al., 2006).

Os eritrócitos de mamíferos dependem exclusivamente da glicólise anaeróbica para gerar ATP e outras moléculas essenciais à sua função. A glicose sanguínea é captada pela célula por meio do transportador GLUT1, de alta afinidade, permitindo transporte eficiente mesmo em baixas concentrações. Quando a glicose entra no eritrócito, a hexocinase a converte em glicose-6-fosfato, que fica retida na célula e pode seguir dois caminhos: glicólise ou via das pentoses fosfato. Na glicólise, a primeira fase, que consome ATP, transforma a glicose-6-fosfato em frutose-1,6-bisfosfato. Em seguida, essa molécula é dividida, e o gliceraldeído-3-fosfato entra na segunda fase, a de "pagamento", que é mais rápida e gera ATP e NADH. As etapas finais da glicólise produzem ATP e convertem o fosfoenolpiruvato em piruvato. Finalmente, a enzima lactato desidrogenase converte o piruvato em lactato, regenerando o NAD^+ , o que é essencial para manter o processo glicolítico ativo (Chatzinikolaou et al, 2024).

Considerando que nosso grupo de pesquisa já investigou os efeitos de outros arsenicais sobre esta mesma via (Melo *et al.*, 2024) e a importância fundamental da glicólise para as células sanguíneas, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do trióxido de arsênio (As_2O_3) sobre o metabolismo glicolítico em eritrócitos isolados de ratos, a fim de entender melhor como a via glicolítica é afetada na presença deste composto arsenical.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos (300–450 g), provenientes do Biotério Central da UEM, mantidos em condições-padrão e alimentados *ad libitum* com dieta padrão (Nuvilab[®]). O trióxido de arsênio e as enzimas e coenzimas utilizadas nos ensaios enzimáticos foram adquiridas da Sigma-Aldrich Co (St. Louis, EUA). Para o procedimento de retirada do sangue, os ratos foram anestesiados por injeção intraperitoneal de cetamina (70 mg/kg) + xilazina (7 mg/kg) + fentanil (um opioide, 0,06 mg/kg).

Todos os procedimentos seguiram as diretrizes do Conselho Brasileiro de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram já aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (CEUA 5386010223).

2. Dosagens enzimáticas

O lactato foi dosado enzimaticamente. O método utilizado foi espectrofotométrico, utilizando um comprimento de onda de 340 nm.

3. Glicólise em eritrócitos

Os eritrócitos foram isolados de animais previamente anestesiados. O sangue foi obtido da veia cava inferior utilizando uma seringa contendo EDTA. A obtenção foi seguida de centrifugação a 4000 rpm por 15 minutos, e o processo foi repetido três vezes. Após cada centrifugação, o sobrenadante foi descartado e os eritrócitos foram lavados com PBS gelado.

Para a incubação, os eritrócitos foram suspensos em tampão Krebs-Henseleit com glicose (2 mM) e trióxido de arsênio em diferentes concentrações. A mistura foi incubada em um banho com agitação a 37 °C por 7 horas. Amostras foram coletadas a cada hora, centrifugadas e armazenadas em geladeira para neutralização e posterior dosagem de lactato conforme já descrito anteriormente.

4. Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos em gráficos 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 teste post-hoc de Newman-Keuls. O nível de 5% ($p < 0.05$) foi adotado como critério de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra os perfis de produção de lactato quando eritrócitos de rato foram incubados com 2 mM de glicose como substrato, na ausência (controle) e na presença de trióxido de arsênio (As_2O_3). Os resultados demonstram que o trióxido de arsênio (As_2O_3) exerce efeito inibitório sobre a produção de lactato de forma dependente da concentração. No grupo controle, observou-se aumento progressivo da concentração de lactato ao longo do período de incubação, refletindo o metabolismo glicolítico normal.

Na presença de As_2O_3 em baixa concentração (50 μM), a produção de lactato apresentou valores próximos ao controle, sugerindo uma interferência inicial do arsênio na via glicolítica. Por outro lado, a concentração de 500 μM promoveu redução mais evidente no acúmulo de lactato, indicando comprometimento significativo da via glicolítica. Esse efeito pode estar associado à inibição de enzimas-chave relacionadas à via em questão e à interação do arsênio inorgânico com intermediários fosforilados, prejudicando a regeneração de NAD^+ e a produção de ATP.

Por outro lado, a incubação com As_2O_3 em alta concentração (1 mM) promoveu diminuição significativa da produção de lactato, evidenciando um bloqueio significativo da glicólise.

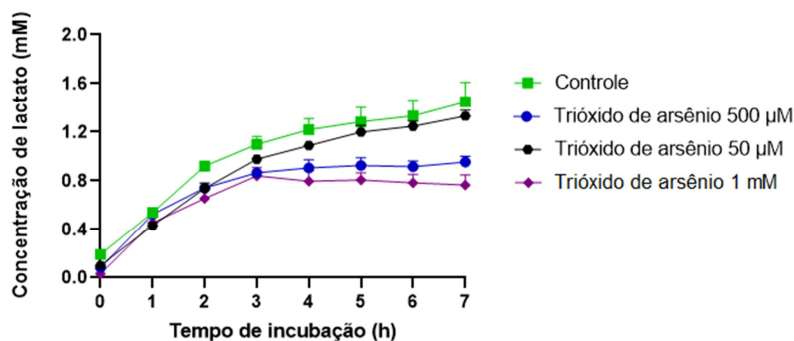


Figura 1. Efeitos do trióxido de arsênio na glicólise em eritrócitos de rato. Eritrócitos isolados de rato foram suspensos a 5% de hematócrito em tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4). A suspensão foi agitada em ar, usando um agitador Dubnoff a 37 °C. As concentrações de trióxido de arsênio estão indicadas em ordem crescente: Controle, 50 µM, 500 µM e 1 mM. A concentração inicial de glicose foi de 2 mM. O lactato foi medido em alíquotas desproteinizadas em diferentes tempos.

Esse efeito pode estar associado à substituição competitiva do fosfato pelos compostos arsenicais durante a geração de intermediários fosforilados, levando à formação de compostos instáveis e consequente redução na produção de ATP.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que o trióxido de arsênio inibe a produção de lactato de maneira dose-dependente, sendo esse efeito mais evidente nas concentrações de 500 µM e 1 mM. Tais achados indicam que o As_2O_3 compromete a glicólise, possivelmente por interferência em enzimas-chave e na geração de intermediários energéticos.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da CAPES. A realização desta pesquisa também não seria possível sem a colaboração e o suporte do Laboratório de Metabolismo Hepático (LMH-UEM).

REFERÊNCIAS

CHATZINIKOLAOU, P. N. *et al.* Erythrocyte metabolism. **Acta Physiologica**, [S.l.], v. 1, p. 1–49, 2024. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apha.14081>. Acesso em: 19 ago. 25.

DOUER, D.; TALLMAN, M. S. Arsenic trioxide: new clinical experience with an old medication in hematologic malignancies. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, p. 2396–2410, 2005.

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 *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.

SHIGENO, K. *et al.* Arsenic trioxide therapy in relapsed or refractory Japanese patients with acute promyelocytic leukemia: updated outcomes of the phase II study

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

and postremission therapies. **International Journal of Hematology**, v. 82, p. 224–229, 2005.