EFEITOS DO BISFENOL A SOBRE A GLICONEOGÊNESE HEPÁTICA NO FÍGADO DE RATO EM PERFUSÃO

Caio Augusto Freitas Bizerra (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lívia Bracht (Orientador). E-mail: lbracht@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Bioquímica / Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: BPA; metabolismo hepático; produção de glicose.

RESUMO

O Bisfenol A (BPA), um composto orgânico sintético, é capaz de atuar como um desregulador endócrino ambiental, responsável por afetar a homeostase metabólica hepática. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos agudos do BPA sobre a gliconeogênese a partir de três substratos distintos: lactato, alanina e glicerol. Foram utilizados fígados de ratos Wistar machos em jejum de 12 a 16 horas, submetidos à técnica de perfusão hepática isolada não-recirculante. O BPA foi infundido nas concentrações de 20, 50, 100 e 200 µM. A produção de glicose e o consumo de oxigênio foram quantificados no perfusado efluente. O BPA provocou inibição concentração-dependente da síntese de glicose a partir de todos os precursores, acompanhada da redução no consumo de oxigênio; a sensibilidade da via gliconeogênica variou conforme o substrato: a gliconeogênese a partir de lactato apresentou maior vulnerabilidade ao BPA (IC50=41 µM) seguida pela alanina (IC50=98 µM) e pelo glicerol (IC50=124 µM). A maior susceptibilidade do lactato correlaciona-se ao aumento da razão NADH/NAD^+ citosólica e ao elevado custo energético (6 ATPs por glicose). A conversão da alanina, em contrapartida, prescinde da etapa dependente do estado redox da lactato desidrogenase, enquanto o glicerol contorna os passos das mitocôndrias e consome menor quantidade de energia (4 ATPs), resultando em menor inibição. Conclui-se que o BPA compromete agudamente a gliconeogênese hepática, com efeito dependente do ponto de entrada do substrato, do custo energético e da alteração redox citosólica.

INTRODUÇÃO

O bisfenol A (2,2-bis(4-hidroxifenil)propano) é um monômero orgânico sintético largamente utilizado na síntese de policarbonatos e resinas epóxi presentes em embalagens alimentícias e recipientes plásticos. A lixiviação do BPA para alimentos e corpos d'água tem levantado sérias preocupações de saúde pública, visto que a substância atua como desregulador endócrino e indutor de estresse oxidativo (HUANG et al., 2012).

O fígado desempenha papel central na homeostase metabólica e no processamento de xenobióticos. Embora os efeitos crônicos do BPA sobre a esteatose e a lesão hepática sejam conhecidos (DAS et al., 2024), seus impactos agudos diretos sobre fluxos metabólicos vitais como a via gliconeogênica permanecem pouco elucidados. Visto que a integridade da transdução de energia mitocondrial é indispensável para suportar tais vias anabólicas, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos agudos do BPA sobre o metabolismo energético tecidual e a função respiratória em modelo de perfusão isolada de fígado de rato.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos machos Wistar (180–220 g) submetidos a jejum prévio de 12 a 16 horas para exaustão das reservas de glicogênio hepático. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da instituição (CEUA nº 9564190624).
Os animais foram anestesiados com cetamina (90 mg/kg) e xilazina (9 mg/kg) via intraperitoneal para posterior procedimento cirúrgico de canulação das veias porta e cava. Empregou-se a técnica de perfusão hepática isolada não-recirculante, livre de hemoglobina (BRACHT; ISHII-IWAMOTO, 2003).
O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit bicarbonato (pH 7,4), mantido a 37 ºC e saturado com mistura carbogênica (95% O□ e 5% CO□) sob fluxo constante entre 30 e 32 mL/min. Substratos gliconeogênicos foram infundidos individualmente nas seguintes concentrações: lactato (2 mM), alanina (2,5 mM) ou glicerol (2 mM).
O BPA foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) e infundido no sistema em quatro concentrações finais (20, 50, 100 e 200 µM). O efluente perfusado foi coletado em intervalos regulares para determinação quantitativa espectrofotométrica dos níveis efluentes de glicose, piruvato e lactato por métodos enzimáticos específicos. O consumo de oxigênio pelo tecido hepático foi monitorado continuamente utilizando eletrodo de platina revestido por teflon. As concentrações capazes de promover 50% de inibição da resposta máxima (IC□□) foram obtidas por interpolação matemática. A análise estatística foi realizada por ANOVA um via com pós-teste de Dunnett ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A infusão de Bisfenol A (BPA) promoveu inibição concentração-dependente da taxa de gliconeogênese no fígado isolado de rato para os três substratos testados, acompanhada por redução paralela no consumo de oxigênio tecidual. Os efeitos do BPA sobre a gliconeogênese a partir de lactato podem ser observados na figura 1. É importante ressaltar, todavia, que a magnitude do efeito inibitório variou de acordo com o precursor empregado.

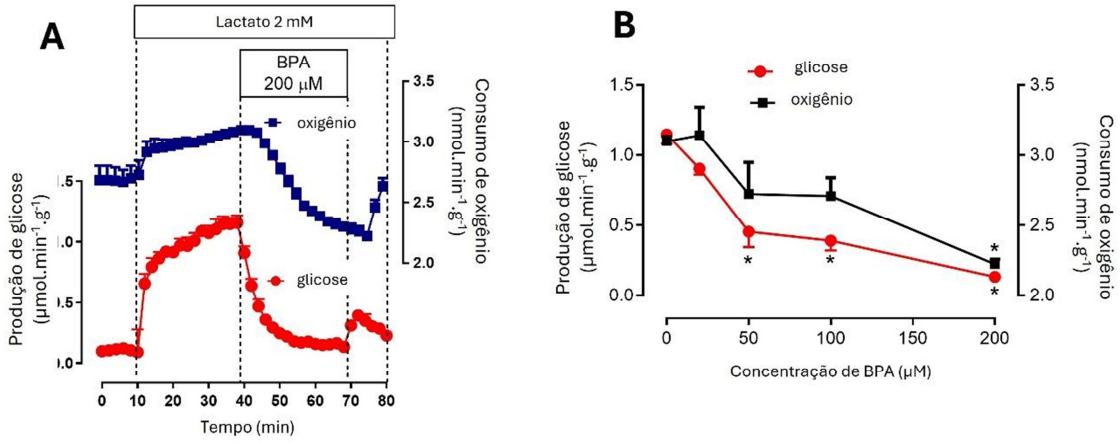


Figura 1: Efeitos do BPA sobre a gliconeogênese a partir de lactato. Painel A: Decurso temporal dos experimentos de perfusão com BPA na concentração de 200 µM. Painel B: Efeitos dependentes da concentração de BPA sobre o consumo de oxigênio e a produção de glicose a partir de lactato. O mesmo protocolo experimental representado no painel A foi utilizado para todas as concentrações de BPA. Valores dos parâmetros ao final do período de infusão do BPA (68 min) foram apresentados. Asteriscos (*) indicam diferença significativa (p≤0,05) em relação à ausência de BPA (concentração 0).

Para a gliconeogênese a partir do lactato, a inibição da síntese de glicose foi observada de maneira estatisticamente significativa a partir de 50 µM de BPA, atingindo um valor de IC□□ de 41 µM. A infusão de 200 µM de BPA inibiu drasticamente tanto a produção de glicose quanto o consumo de oxigênio hepático. A elevada vulnerabilidade da síntese de glicose a partir do lactato pode ser atribuída a dois fatores convergentes: o alto custo energético (6 ATPs por glicose) e a estrita dependência do estado redox citosólico. A etapa inicial de conversão do lactato a piruvato é catalisada pela lactato desidrogenase (LDH) e modulada diretamente pela razão NADH/NAD⁺ citosólica. O BPA promove um aumento da razão NADH/NAD⁺ citosólica, como demonstrado em experimentos anteriores, deslocando o equilíbrio da reação da LDH no sentido desfavorável à formação de piruvato e restringindo a sequência anabólica. Quando a alanina foi empregada como substrato, a inibição da produção de glicose iniciou-se de forma significativa na concentração de 20 µM de BPA, resultando em um IC□□ de 98 µM. A conversão da alanina a piruvato via alanina aminotransferase (ALT) introduz os carbonos na via sem exigir a etapa dependente de NADH da LDH. Dessa forma, embora a via exija o mesmo montante energético (6 ATPs) que o lactato para contornar a piruvato quinase (pela piruvato carboxilase e PEPCK), a ausência de impedimento redox direto explica a menor sensibilidade da alanina ao BPA quando comparada ao lactato (IC□□ de 98 µM *versus* 41 µM) (NELSON; COX; HOSKINS, 2022).

No estudo da gliconeogênese a partir do glicerol, observou-se diminuição significativa da síntese de glicose a partir da concentração de 20 µM, apresentando o maior valor de IC□□ entre os substratos analisados (124 µM). O glicerol ingressa na via gliconeogênica por meio da sua fosforilação inicial pela gliceroquinase e subsequente oxidação a di-hidroxiacetona-fosfato. Este percurso contorna as etapas mitocôndrio-dependentes da carboxilação do piruvato e requer apenas 4 moléculas de ATP para cada molécula de glicose produzida. A menor demanda por ATP explica a menor suscetibilidade do glicerol à restrição energética provocada pelo BPA em relação aos substratos de entrada mais complexa.

CONCLUSÕES

O BPA inibe a gliconeogênese hepática a partir de lactato, alanina e glicerol de forma concentração-dependente. A sensibilidade metabólica à inibição exercida pelo BPA é fortemente influenciada pelo ponto de entrada do substrato na via, apresentando maior intensidade sobre o lactato devido ao efeito sinérgico da demanda energética e da alteração do estado redox citosólico.

AGRADECIMENTOS

Ao contribuinte brasileiro, à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio institucional, financeiro e concessão de bolsa de iniciação científica. Também agradeço à minha orientadora, Dr. Lívia Bracht, pela dedicação e confiança em meu trabalho, conjuntamente de meus companheiros de LMH com quem pude compartilhar as alegrias e aflições da pesquisa.

REFERÊNCIAS

BRACHT A., E.L. Ishii-Iwamoto, C.L. Salgueiro-Pagadigorria, O estudo do metabolismo energético em mitocôndrias isoladas de tecido animal. In: A. Bracht, E.L. Ishii Iwamoto (Eds.), **Métodos de Laboratório em Bioquímica**, São Paulo: Manole, 2003, pp. 227-260.

DAS, S.; MUKHERJEE, U.; BISWAS, S.; BANERJEE, S.; KARMAKAR, S.; MAITRA, S. Unravelling bisphenol A-induced hepatotoxicity: insights into oxidative stress, inflammation, and energy dysregulation. **Environmental Pollution**, v. 362, p. 124922, 2024.

HUANG, Y. Q. *et al.* Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. **Environment International**, v. 42, n. 1, p. 91–99, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; HOSKINS, A. A. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2022.