

EFEITO DE LONGO TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO GLYOXAL EM ARTÊMIA SALINA

Priscila Carrazoni dos Santos ¹

Lara Pedroso da Fontoura ²

Eduarda Acunha Scheeren ³

Caroline Siqueira Lena ⁴

Paulo Rogério Correa de Almeida ⁵

Daniel Henrique Roos ⁶

Resumo:

O glioxal (GO) é um oxaldeído envolvido na glicação de proteínas e enzimas, quando em altas concentrações tem potencial de causar dano à saúde. Sabe-se que o GO é um precursor de produtos de glicação avançada (AGEs), além disso, está envolvido no estresse oxidativo. Assim, esse estudo preliminar, tenta avaliar quais são os danos a longo prazo na viabilidade de Artêmias salina (AS). Após a eclosão dos cistos foi realizado o tratamento com GO, dois meios de cultura foram realizados: 1º com (Sacarose 5 mM) mais fermento biológico 0,01g/mL. 2º com (Frutose 5 mM) mais fermento biológico 0,01g/mL. Esses tratamentos foram realizados para verificar a adaptação a alimentação das AS com frutose ou sacarose. 10 AS foram separadas para cada grupo: (Controle; GO 0,5 mM; GO 1 mM; GO 5 mM; GO 10 mM; GO 25 mM; GO 50 mM) e colocadas em meios de cultura contendo 5 mL de sacarose/fermento ou Frutose/fermento. Durante 3 dias o número de AS vivas foram contadas. Para o cálculo da LC50 foi utilizada regressão linear e para a diferença estatística foi realizada ANOVA de uma via seguido de *post hoc*-Tukey. Os resultados demonstraram que a viabilidade das AS na presença de GO (0,5-50 mM) por 3 dias no meio de cultura 1 Sacarose/fermento). A LC50 calculada do GO para o primeiro dia foi de 25,17 mM; A LC50 calculada do GO para o segundo dia foi de 14,04 mM; A LC50 calculada do GO para o terceiro dia foi de 5,39 mM; Não foi possível observar diminuição significativa da viabilidade dos controles de cada dia comparados entre si, além disso, a viabilidade das AS na presença de GO (0,5-50 mM) por 3 dias no meio de cultura 2 (Frutose/fermento). A LC50 calculada do GO para o primeiro dia foi de 25,42 mM; A LC50 calculada do GO para o segundo dia foi de 14,15 mM; A LC50 calculada do GO para o terceiro dia foi de 3,74 mM; Após o terceiro dia foi possível observar uma diminuição significativa entre os controles de cada dia. O GO foi capaz diminuir significativamente a viabilidade da AS dependente da concentração e do tempo de exposição. Os efeitos tóxicos do GO podem estar relacionados a vários fatores, dentre eles a formação de AGEs. Os AGEs podem por sua vez diminuir ou inativar proteínas importantes causando diversos tipos de danos celulares. Outro importante resultado observado neste trabalho se deve ao fato das artemias sobreviverem melhor a um meio contendo sacarose do que contendo glicose. Esse resultado pode contribuir na manutenção da cultura por longos períodos de tempo o que pode contribuir para experimentos toxicológicos crônicos. Assim, concluímos com este estudo preliminar, que a AS pode ser um bom modelo experimental para avaliar a toxicologia do GO em períodos longos de exposição.

Palavras-chave: Artêmia; toxicidade; Glyoxal.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

EFEITO DE LONGO TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO GLYOXAL EM ARTÊMIA SALINA

¹ Aluno de graduação. prika.carrazoni@gmail.com. Autor principal

² Outro. larapedrosof@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de graduação. acunhaeduarda@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de graduação. carolinesiqueiralena@gmail.com. Co-autor

⁵ Aluno de graduação. rogeriolaboratorio501@gmail.com. Co-autor

⁶ Docente. danielvarzeano@yahoo.com.br. Orientador



EFEITO DE LONGO TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO GLIOXAL EM ARTÊMIAS SALINA

1. INTRODUÇÃO

O glioxal (GO) é um oxialdeído envolvido na glicação de proteínas e enzimas. Quando em altas concentrações tem potencial de causar dano à saúde (Rabbani e Xue, 2016). Dano no tecido de indivíduos diabéticos estão relacionados a presença de alta concentração de oxialdeídos entre eles o GO, o qual é um precursor de produtos de glicação avançada (AGEs). Estudos também sugerem um envolvimento do estresse oxidativo causado pelos AGEs em complicações em indivíduos diabéticos (Beisswenger *et al.*, 2003). A presença de GO na urina de diabéticos também tem sido relacionada como um marcador da doença em humanos (Belta *et al.*, 2016).

Assim, esse estudo preliminar, tenta avaliar quais são os danos a longo prazo na viabilidade de Artêmias salina (AS).

2. METODOLOGIA

Artêmias salina (AS) são micro crustáceos de água salgada amplamente utilizados em ensaios toxicológicos, devido a facilidade de manutenção em laboratório. Para eclosão dos cistos de AS foram pesados 0,33g de cistos e adicionado 20 mL de hipoclorito e 150 µL de NaOH 20% até atingirem uma coloração dourada. Após, os cistos foram lavados abundantemente em água da torneira. Em seguida, os cistos foram colocados em 500 mL de água do mar artificial com 2-3 gotas de anti cloro, onde permaneceram com forte aeração e temperatura controlada de 28 ° C por 24h. Após este período as AS já estão eclodidas em estágio larval L1.

Para o tratamento com GO, dois meios de cultura foram realizados: 1º com (Sacarose 5 mM) mais fermento biológico 0,01g/mL. 2º com (Frutose 5 mM) mais fermento biológico 0,01g/mL. Esses tratamentos foram realizados para verificar a adaptação a alimentação das AS com frutose ou sacarose. 10 AS foram separadas para cada grupo: (Controle; GO 0,5 mM; GO 1 mM; GO 5 mM; GO 10 mM; GO 25 mM; GO 50 mM) e colocadas gentilmente aos meios de cultura contendo 5 mL de sacarose/fermento ou Frutose/fermento. Durante 3 dias o número de AS vivas foram contadas para cada grupo respectivamente. Para o cálculo da LC₅₀ foi utilizada regressão linear e para a diferença estatística foi realizada ANOVA de uma via seguido de *post-hoc* Tukey. Para ambos os cálculos estatísticos foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism.

3. RESULTADOS

A figura 1 mostra a viabilidade das AS na presença de GO (0,5-50 mM) por 3 dias no meio de cultura 1 (Sacarose/fermento). A LC₅₀ calculada do GO para o primeiro dia foi de 25,17 mM; A LC₅₀ calculada do GO para o segundo dia foi de 14,04 mM; A LC₅₀ calculada do GO para o terceiro dia foi de 5,39 mM; Não foi possível observar diminuição significativa da viabilidade dos controles de cada dia comparados entre si. (figura 1).

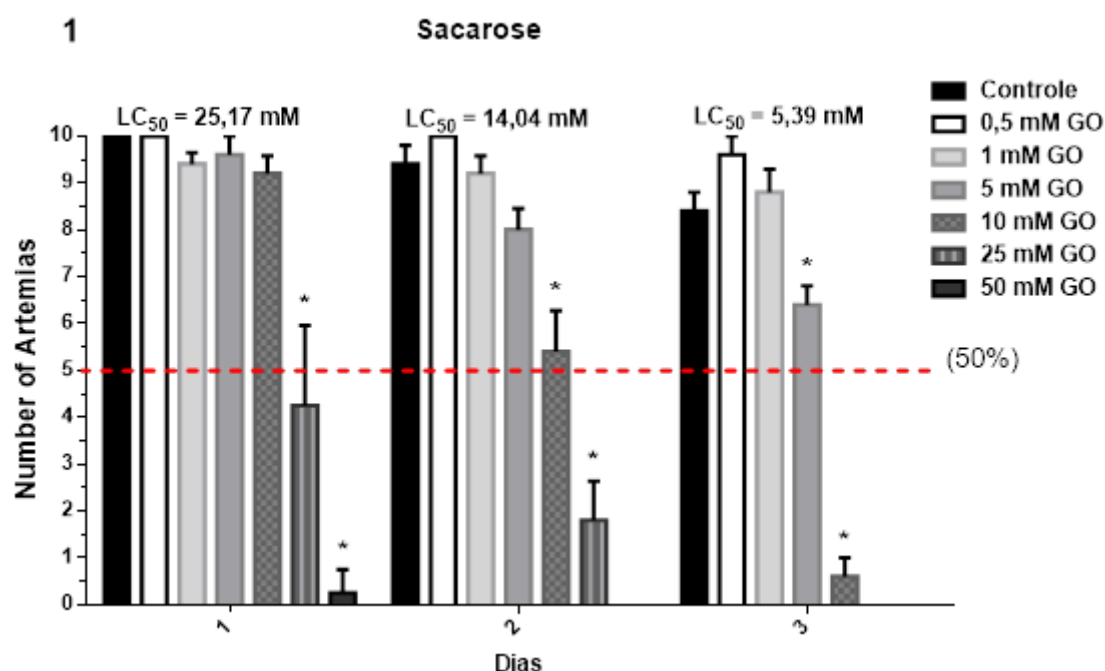


Figura 1. Efeito da exposição do GO por três dias em meio de cultura contendo 5Mm de Sacarose. N = 4. * indica diferença ao controle de cada dia. $P < 0,05$.

A figura 2 mostra a viabilidade das AS na presença de GO (0,5-50 mM) por 3 dias no meio de cultura 2 (Frutose/fermento). A LC_{50} calculada do GO para o primeiro dia foi de 25,42 mM; A LC_{50} calculada do GO para o segundo dia foi de 14,15 mM; A LC_{50} calculada do GO para o terceiro dia foi de 3,74 mM; Após o terceiro dia foi possível observar uma diminuição significativa entre os controles de cada dia (figura 2).

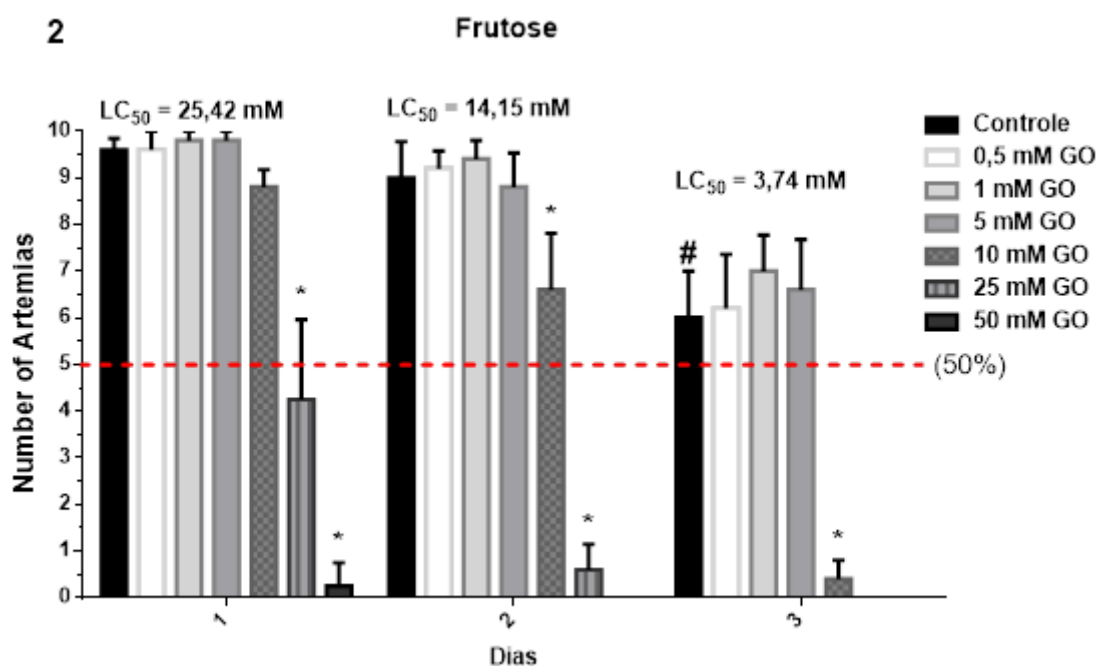


Figura 2 – Efeito da exposição ao GO por três dias em meio de cultura contendo 5Mm DE Frutose. N = 5. * indica diferença ao controle de cada dia. # indica diferença ao controle do primeiro dia. $P < 0,05$.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O GO foi capaz diminuir significativamente a viabilidade da AS dependente da concentração e do tempo de exposição. De fato, alguns trabalhos mostram que em pessoas saudáveis os níveis de GO podem chegar a uma concentração de 230 nM e em diabéticos a concentração pode alcançar 470 nM (Lapolla *et al.*, 2003). Todavia, a literatura mostra que em alguns tecidos de rato a concentração de GO alcançar micromolar (Lapolla *et al.*, 2003). Os efeitos tóxicos do GO podem estar relacionados a vários fatores, dentre eles a formação de AGEs. Os AGEs podem por sua vez diminuir ou inativar proteínas importantes causando diversos tipos de danos celulares (Beisswenger *et al.*, 2003).

Outro importante resultado observado neste trabalho se deve ao fato das artemias sobreviverem melhor a um meio contendo sacarose do que contendo glicose. Esse resultado pode contribuir na manutenção da cultura por longos períodos de tempo o que pode contribuir para experimentos toxicológicos crônicos.

Assim, concluímos com este estudo preliminar, que a AS pode ser um bom modelo experimental para avaliar a toxicologia do GO em períodos longos de exposição.

5. REFERÊNCIAS

BEISSWENGER, P. J.; HOWELL, S. K.; NELSON, R. G.; MAUER, M.; SZWERGOLD, B. S.; Oxaldehyde metabolism and diabetic complication, *Biochem. Soc. Trans.* 31, p. 1358-1363, 2003.

BELTA, M. P.; GARCÍA, F. A. J.; CAMPILLO, N.; CÁRCELES, P. M. D.; MOTAS, M.; CÓRDOBA, H. M.; VIÑAS, P. Glyoxal and methylglyoxal as urinary markers of diabetes. Determination using a dispersive liquid - liquid microextraction procedure combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1509, p. 43-49, 2017.

LAPOLLA, A.; FLAMINI, R.; VEDOVA, A.D.; SENESI A.; REITANO, FEDELE, D.; BASSO, E.; SERAGLIA, R.; TRALDI, P.; Glyoxal and methylglyoxal levels in diabetic patients: quantitative determination by a new GC/MS method, *Clin. Chem. Lab. Med.* 41, p. 1166-1173, 2003.

RABBANI, N. M.; XUE, P.J. Thornalley, Dicarbonyls and glyoxalase in disease mechanisms and clinical therapeutics, *Glycoconj. J.* 33, p. 513-525, 2016.