

EFFECTO DEL As SOBRE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN CEREBRO DE RATA EMPLEANDO UN MODELO IN VIVO Y UN MODELO EX VIVO

Julián G. Bonetto, Edda Villaamil Lepori, Susana Puntarulo
Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL), Universidad de Buenos Aires
(UBA)- CONICET. Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956
(C1113AAD), Buenos Aires, Argentina. E-mail: jbonetto@ffyba.uba.ar

Introducción:

El arsénico (As) es un metaloide presente en el ambiente de forma natural y antropogénica. La mayor fuente de As es usualmente el agua de bebida y alimentos, principalmente los de origen marino, arroz, hongos y aves de corral [1,2]. Existen otras fuentes de exposición como pueden ser los colorantes presentes en los cosméticos [3], el arsenito de galio presente en los circuitos eléctrico y los tradicionales preparados chinos de hierbas con fin terapéutico, lo que también puede representar un serio problema para la salud humana [4]. Actualmente el estrés oxidativo es un factor aceptado como parte del mecanismo de la intoxicación por As pero aún se desconoce numerosos aspectos mecanísticos [5]. Se propone que el As genera especies reactivas del oxígeno (ROS) tales como anión superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($\cdot OH$), peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y radical piróxilo ($ROO\cdot$) pero aún no han sido identificados unívocamente. Se ha descrito que el As interacciona con los grupos tioles, causando un bloqueo en los grupos sulfhidrilos esenciales de las proteínas y enzimas [6], y una disminución de la capacidad antioxidante no enzimática, ya que afecta el contenido de GSH [7]. El objetivo del presente trabajo es estudiar el componente oxidativo del As empleando un modelo de intoxicación *in vivo* y un modelo *ex vivo* para determinar el compromiso de las funciones metabólicas previas sobre la generación de radicales lipídicos ($RL\cdot$) en cerebro.

Metodología:

Ensayos *ex vivo*: se realizaron homogenizados de cerebro de ratas control preparados en buffer fosfato de potasio 100 mM pH: 7,4 con 40 mM de α -piridil-1-óxido-N-terbutilnitrona (POBN) como atrapador de $RL\cdot$. Luego se incubó a 37° C durante 20 min en presencia de arsenito de sodio. La determinación de $RL\cdot$ fue realizada según Lai y col. [8] y Buettner y Jurkiewicz [9] utilizando un equipo de espectrofotometría de resonancia paramagnética electrónica (EPR).

Ensayos *in vivo*: Tratamiento con As y recolección de la muestra: Ratas Albino Wistar adultas (200 ± 20 g) fueron inyectadas i.p. con solución salina (grupo control), o con arsenito de sodio en el rango de 0,3 a 5,8 mg As/kg de peso. Sangre entera fue obtenida por punción cardíaca y el cerebro completo fue removido bajo cámara de CO_2 a las 24 h pos-inyección. Las muestras fueron pulverizadas con N_2 y la determinación de $RL\cdot$ fue realizada según Lai y col. [8] y Buettner y Jurkiewicz [9], utilizando un equipo de EPR.

Cuantificación de As: El contenido de As en tejidos fue estimado a partir de generación de hidruros acoplado a absorción atómica utilizando un generador de hidruros VGA77 y un espectrofotómetro de absorción atómica Varian Spectra AA 200 siguiendo los métodos descriptos según Navoni y col. [10].

XXXI Congreso Argentino de Química

25 al 28 de Octubre de 2016 Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749 – Ciudad de Buenos Aires – Argentina

The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) January – December 2016 ISSN: 1852 -1207

Anales de la Asociación Química Argentina AAQAE 095 - 196

Resultados:

Los resultados muestran una dependencia del contenido de As en sangre y cerebro con la dosis administrada (Tabla 1). La velocidad de generación de RL* en las membranas del cerebro es significativamente mayor frente a la administración de dosis superiores a 3 mg As/kg de peso que conduce a [As] en cerebro superior a 0,13 µg/g, con respecto a los controles. Empleando el modelo de exposición ex vivo a As la velocidad de generación de RL* resultó significativamente mayor en presencia de [As] superiores a 0,1 µg/g.

Dosis (mg As/kg peso)	Modelo <i>in vivo</i>			Modelo <i>ex vivo</i>	
	Contenido de As Sangre (µg/l)	Cerebro (µg/g)	RL* (pmol/g PF/min)	[As] (µg/g tejido)	RL* (pmol/g PF/min)
0	451 ± 45	ND	2710 ± 266	0	1537 ± 229
0,3	2836 ± 383	ND	2853 ± 433	0,1	2980 ± 382 *
1	5775 ± 494	0,071 ± 0,009	2480 ± 787	0,15	3125 ± 55 *
3	15988 ± 956	0,127 ± 0,025	4903 ± 530 *	0,25	3155 ± 111 *
5,8	29263 ± 1156	0,271 ± 0,095	6010 ± 653 *	0,30	3100 ± 100 *

*Significativamente distinto de los valores controles. Test student $p < 0.05$

Conclusión:

Los resultados obtenidos indican que la exposición a As tanto *in vivo* como *ex vivo* conduce a la generación de RL* en cerebro de rata. Dicha generación resulta significativamente mayor a la observada en tejidos controles, empleando ambos modelos, cuando la [As] supera los 0,1 µg/g de tejido. De esta forma, es posible sugerir que el daño peroxidativo no requiere pasos metabólicos previos que modifican la naturaleza química del As para que se produzca el efecto descripto.

Referencias:

- [1] F. T. Jones, Poultry Sci. 86 (2007) 2-14.
- [2] P. L. Smedley, D. G. Kinniburgh, Appl. Geochem. 17 (2002) 517-568.
- [3] E. L. Sainio, R. Jolanki, E. Hakala, L. Kanerva, Contact. Dermat. 42 (2000) 5-10.
- [4] M. J. Martena, E. J. Koning, Food Addit. Contam. Part a Chem. Anal. Control Expos. Risk Assess. 27 (2010) 190-205
- [5] Bonetto JG, Villaamil Lepori E, Puntarulo S, Curr top in toxicol 2014.
- [6] Rodríguez, V. M., Jiménez-Capdeville, M. E. and Giordano, M. 2003, Toxicol. Lett., 145, 1.
- [7] Thomas, D. J., Styblo, M. and Lin, S. 2001, Toxicol. Appl. Pharmacol., 176, 127.
- [8] Buettner GR, Jurkiewicz BA., Free Radic Biol Med (1993) 14:49-55.
- [9] Lai EK, Crossley C, Sridhar R, Misra HP, Janzen EG, McCay PB., Arch Biochem Biophys (1986) 244:156-160.
- [10] Navoni et al., (2010) Acta Toxicologia Argentina. 18 (2):29-38.

Sección: 07) Química Biológica