



Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
Departamento de Ciências Biológicas

Vanessa Teixeira Pinto

Danos de DNA induzidos por Arsênio: uma revisão sistemática



Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
Departamento de Ciências Biológicas

Vanessa Teixeira Pinto

Danos de DNA induzidos por Arsênio: uma revisão sistemática

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Camila Carrião Machado Garcia

Co-orientadora: Ms. Lorrana Cachuite Mendes Rocha

Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como pré-requisito para obtenção do título de bacharela em Ciências Biológicas.

Ouro Preto – MG

Novembro/2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

P659d Pinto, Vanessa Teixeira.
Danos de DNA induzidos por Arsênio [manuscrito]: uma revisão sistemática. / Vanessa Teixeira Pinto. - 2022.
46 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Camila Carrião Machado Garcia.
Coorientadora: Ma. Lorrana Cachuite Mendes Rocha.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas .

1. Arsênio. 2. Danos no DNA. 3. Oxidação de bases. 4. Crosslinks. 5. Carcinogênese. I. Garcia, Camila Carrião Machado. II. Rocha, Lorrana Cachuite Mendes. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 574

Bibliotecário(a) Responsável: Luciana De Oliveira - SIAPE: 1.937.800



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Vanessa Teixeira Pinto

Danos de DNA induzidos por Arsênio: uma revisão sistemática

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovada em 03 de novembro de 2022

Membros da banca

Profa. Dra. Camila Carrião Machado Garcia (orientadora), Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto

Ms. Lorrana Cachuite Mendes Rochas (co-orientadora), Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto

Dr. Gustavo Satoru Kajitani, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto

Dra. Angélica Bianchini Sanchez, Department of Entomology, Cornell University

[Profa Dra. Camila Carrião Machado Garcia , orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 07/11/2022



Documento assinado eletronicamente por **Camila Carrião Machado Garcia, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 07/11/2022, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0422920** e o código CRC **2F030694**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.014935/2022-84

SEI nº 0422920

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35402-163
Telefone: 3135591672 - www.ufop.br

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, por todo incentivo, apoio, confiança, reconhecimento e amor incondicional, sem eles não chegaria onde cheguei. Ao meu irmão e exemplo, obrigada por existir, me mostrar as maravilhas do viver, ser a melhor das companhias e me fazer ficar encantada com a ciência.

Aos meus amigos, presentes nos momentos mais incríveis e nos mais tenebrosos, por acreditarem e enxergarem o meu potencial, sem eles teria desistido.

À todas as mulheres que tive a honra de conhecer e ter ao meu lado, por mostrar que feminilidade é força, garra e compaixão. O mundo é nosso.

Aos meus colegas da biologia, por todas as risadas, estudos intensos e manifestações em prol dos nossos direitos. Quem constrói e difunde conhecimento junto cria um laço inegável.

Agradeço a Prof.^a Dr.^a Camila Carrião por ter aceitado me orientar, mesmo eu não fazendo ideia do que eu gostaria de pesquisar e muito menos do que fazer da vida. Muito obrigada por me acolher e agraciar com direcionamentos e choques de realidade.

À Lorrana, pela empatia, todo o conhecimento compartilhado, paciência e suporte, muito obrigada por estar comigo nessa jornada. Sem você esse trabalho não seria concretizado.

Ao LabDNA, pelos momentos de convivência, trocas de experiência, desabafos e incentivos, trazendo leveza e risadas para esse momento tão importante na minha vida.

Obrigada UFOP, FAPEMIG e CNPq pelo financiamento e possibilidade de realização desse projeto e a todos os meus professores e professoras da graduação, obrigada pelo ensino público de qualidade e sabedorias compartilhadas.

RESUMO

O arsênio (As) é um semi-metal de alta toxicidade danoso ao meio ambiente e aos seres humanos. Ele é classificado como um carcinógeno humano de grupo I podendo levar ao surgimento de cânceres de pulmão, pele, bexiga, entre outros. Diversos mecanismos explicam a toxicidade do As: reação com grupos sulfidríla ($\bullet\text{SH}$) de proteínas, substituição do fosfato em moléculas, substituição do zinco em proteínas e indução de espécies reativas (ERs). Estes mecanismos em conjunto desencadeiam danos no DNA e promovem a disfunção das vias de reparo de DNA. A proposta deste estudo foi investigar através de uma revisão sistemática os danos no DNA induzidos por As e suas consequências. Para tal, foram feitas buscas que abordaram o tema na plataforma PubMed, na qual foram encontrados 2689 artigos e 30 destes foram selecionados através dos critérios de filtragem. Os danos mais mencionados, em ordem decrescente de resultados, foram: oxidação de bases, quebras simples, quebras duplas, *crosslinks* e metilações. Os estudos foram conduzidos *in vivo*, *in vitro* ou ambos, de forma que os estudos *in vivo* medem as concentrações de As de amostras coletadas ou presentes na água consumida pelos indivíduos e os estudos *in vitro* fazem o tratamento das células com arsenito de sódio, trióxido de arsênio e ácido dimetilarsínico. Nenhum estudo abordou com detalhes a ação ou uso de arsenato. Há também uma observação mediante o tempo de exposição, sendo crônico ou agudo. Diante disso, concentrações mais altas de As promovem um maior acúmulo de danos, porém exposições crônicas, além do maior acúmulo de danos, geram impactos mais severos, não só nas células, mas no organismo todo, e podem ser impulsionados em baixas concentrações. Já exposições agudas demonstram maiores danos apenas em concentrações altas e culminam em uma maior chance de reversão dos impactos após o organismo não ser mais exposto ao As. A capacidade de metilação do As e espécies metiladas trivalentes parecem possuir um papel fundamental para a carcinogênese acelerada pelo semi-metal, levando a um maior número de danos no DNA. Estes danos no DNA são causados, principalmente, pela capacidade dos compostos de As induzirem a geração de ERs, seguido por alterações estruturais de grupos químicos de enzimas e outras proteínas, o que leva à mudanças de conformação e inativação destas. Muitas dessas enzimas e outras proteínas estão ligadas à manutenção da integridade do DNA, como aquelas atuantes nas vias de reparo, o que leva ao acúmulo dos danos por gerá-los e não repará-los. Assim, o As tem sua toxicidade explicada por mecanismos multifatoriais, gerando danos no DNA por diversas vias que podem atuar conjuntamente e diferem pelo no tipo organismo e linhagem celular. Os resultados apontam que o desequilíbrio entre promoção e reparo de danos no DNA gera acúmulos de danos que culminam em atrasos no ciclo celular, clastogênese, mutagênese e carcinogênese.

PALAVRAS-CHAVE: Arsênio, danos no DNA, ERs, oxidação de bases, metilações, quebras simples, quebras duplas, *crosslinks*, carcinogênese.

ABSTRACT

Arsenic (As) is a semi-metal of high toxicity that harms the environment and living beings. It is classified as a group I human carcinogen and can lead to lung, skin, and bladder cancers, among others. Several mechanisms explain the toxicity of As: reaction with sulfhydryl groups (\bullet SH) of proteins, the substitution of phosphate in molecules, substitution of zinc in proteins, and induction of reactive species (ERs). These mechanisms together trigger DNA damage and promote dysfunction of DNA repair pathways. This study aimed to investigate through a systematic review the DNA damages induced by As and its consequences. Thereby, searches were made that addressed the topic on the PubMed platform, in which were founded 2689 articles e 30 of them were selected through filtering criteria. The most mentioned damages, in descending order of results, were: base oxidation, single-strand breaks, double-strand breaks, crosslinks, and methylations. The studies were conducted *in vivo*, *in vitro*, or both. The *in vivo* studies measured the As concentrations of samples collected or present in the water consumed by the individuals. The *in vitro* studies treated the cells with sodium arsenite, arsenic trioxide, and dimethylarsinic acid. No studies addressed in detail the action or use of arsenate. There is also an observation based on the exposure time, whether chronic or acute. Therefore, higher concentrations of As promote more significant accumulation of damage, but chronic exposure, in addition to greater accumulation of damage, generate more severe impacts, on cells, and the whole organism, and can be boosted at low concentrations. On the other hand, acute exposures demonstrate greater damage only at high concentrations and culminate in a greater chance of reversing the impacts after the organism is no longer exposed to As. The methylation capacity of As and trivalent methylated species seems to play a key role in the accelerated carcinogenesis of the semi-metal, leading to more DNA damage. Those DNA damages are mainly caused by the ability of As compounds to induce the generation of ERs, followed by structural changes in chemical groups of enzymes and other proteins, which leads to conformational changes and inactivation of these. Many of these enzymes and other proteins are linked to the maintenance of DNA integrity, such as those acting in repair pathways. This leads to the accumulation of damage by generating them and not repairing them. Thus, As has its toxicity explained by multifactorial mechanisms, causing DNA damage by several pathways that can act together and differ by the type of organism and cell type. The results indicate that the imbalance between DNA damage promotion and repair generates accumulations of damage that culminate in cell cycle delays, clastogenesis, mutagenesis, and carcinogenesis.

KEY-WORDS: Arsenic, DNA damage, Reactive Species, base oxidation, methylation, simple-strand breaks, double-strand breaks, crosslinks, carcinogenesis.

LISTA DE ABREVIATURAS

- 6-4 PPs – fotoprodutos 6-4 pirimidina-pirimidona
- 8-oxo-gua - 8-oxo-7,8-dihidro-guanina, marcador de lesão no DNA induzida por ERs
- 8-oxo-dG - 8-oxo-7,8-dihidro-2'deoxiguanosina, marcador de lesão no DNA induzida por ERs
- As – Arsênio
- As₂O₃ – Arsênico ou Trióxido de Arsênio
- As³⁺ - Arsenito
- As⁵⁺ - Arsenato
- As3MT - Arsenito metiltransferase
- BER – Reparo por Excisão de Bases, do inglês Base Excision Repair
- CAT – Catalase, enzima do sistema antioxidante
- CPDs – Dímeros de pirimidina ciclobutano
- CTE – Cadeia Transportadora de Elétrons
- cre - Creatinina
- DMA – Ácido Dimetilarsínico
- DMI - Iodeto de Dimetilarsina
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- ERs – Espécies Reativas
- FA – Fanconi Anemia, via de reparo de DNA
- FPG - DNA-formamidopirimidina glicosilase, enzima da Via de Reparo por Excisão de Base
- GGR – Via de Reparo do Genoma Global, subvia de NER, do inglês Genome Global Repair
- GSH – Glutathiona reduzida, enzima do sistema antioxidante
- H₂O – Água
- H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
- HR - Reparo por Recombinação Homóloga, do inglês Homologous Recombination
- iAs – Arsênio inorgânico
- L - Litro
- mg – Miligrama
- mM - Milimolar

- MMA – Ácido Monometilarsônico
- MMR – Reparo de Pareamento Errôneo, do inglês Mismatch Repair
- NaAsO₂ - Arsenito de Sódio
- NADPH - Enzima Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Fosfato
- NER – Reparo por Excisão de Nucleotídeos, do inglês Nucleotide Excision Repair
- NHEJ - Via de reparo por União de Extremidades Não Homólogas, do inglês Non Homologous End Joining
- nM - Nanomolar
- NO· - Óxido nítrico
- NOX – Enzima NADPH Oxidase
- O₂ – Oxigênio molecular
- O₂⁻ - Ânion Superóxido
- OH - Radical hidroxila
- QF – Quadrilátero Ferrífero
- ROS – Espécies reativas de oxigênio, do inglês Reactive Oxygen Species
- SAM – S-adenosilmetionina
- SH – Radical sulfidríla
- SOD – Superóxido dismutase, enzima do sistema antioxidante
- TFIID – Fator geral de Transcrição
- ug – Micrograma
- uM - Micromolar
- UV – Radiação Ultravioleta
- WT – tipo selvagem, do inglês *Wild Type*
- XP - Xeroderma Pigmentosum, doença autossômica recessiva
- XPA – Xeroderma Pigmentosum tipo A, proteína da subvia de GGR de NER
- XPB – Xeroderma Pigmentosum tipo B, proteína da subvia de GGR de NER
- XPC – Xeroderma Pigmentosum tipo C, proteína da subvia de GGR de NER
- XPD – Xeroderma Pigmentosum tipo D, proteína da subvia de GGR de NER
- XPE – Xeroderma Pigmentosum tipo E, proteína da subvia de GGR de NER
- XPF – Xeroderma Pigmentosum tipo F, proteína da subvia de GGR de NER
- XPG – Xeroderma Pigmentosum tipo G, proteína da subvia de GGR de NER
- XPV – Xeroderma Pigmentosum tipo Variante

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Bioconversão do arsenato (iAs) em ácido dimetilarsínico trivalente (DMA III).

Figura 2 - Resumo dos danos no DNA e suas principais causas.

Figura 3 - Fluxograma exemplificando a metodologia e como as tabelas foram feitas através da filtragem utilizada.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade de artigos encontrados no PubMed de acordo com os termos pesquisados.

Tabela 2 - Resumo dos danos no DNA associados à exposição ao arsênio, modelo experimental e metodologia utilizados.

Tabela 3 - Resumo das concentrações dos estudos *in vivo* de oxidações associados ao tipo da amostra e forma química do As.

Tabela 4 - Resumo das concentrações dos estudos *in vitro* de oxidações associados à forma química do As.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL.....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. METODOLOGIA	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. Oxidação de bases.....	21
4.1.1. Concentrações e tempos de tratamento com As <i>in vivo</i>	21
4.1.2. Concentrações e tempos de tratamento com As <i>in vitro</i>	25
4.1.3. Panorama geral sobre a oxidação de bases induzidas por As.....	28
4.2. Metilações	29
4.3. Crosslinks	30
4.4. Quebras duplas	32
4.5. Quebras simples.....	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

1. INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um dos 20 elementos químicos mais abundantes da Terra (IARC, 2012). É um semimetal que possui uma alta toxicidade, sendo danoso ao meio ambiente (RATNAIKE, 2003) e para os seres humanos (REHMAN *et al.*, 2018). Inúmeras doenças estão associadas à exposição ao arsênio como anemias graves, lesões cutâneas, diabetes e comprometimento cognitivo (USEPA, 2000; OMS, 2018; HU *et al.*, 2020). Tal metal pesado é classificado como um carcinógeno humano de grupo I pela Internacional Agency for Reserach on Cancer, podendo levar ao surgimento de cânceres de pulmão, pele, bexiga, entre outros (IARC, 2012).

A principal forma de intoxicação humana por arsênio, é através do consumo de água e alimentos contaminados (RATNAIKE, 2003; REHMAN *et al.*, 2018). No entanto, este também pode ser inalado ou absorvido através da pele (LAUWERYS & HOET, 2001). O As, após entrar em contato com o corpo e/ou ser ingerido, é preferencialmente acumulado na pele, cabelo e unhas (RAZA *et al.*, 2018).

Apesar do As estar distribuído naturalmente por todo o planeta, algumas regiões o possui em maiores concentrações (RAVENSCROFT, 2007). O As pode ser encontrado tanto em formas orgânicas quanto inorgânicas (IRGOLIC, 1994), nesta última formando principalmente compostos sulfetados junto a metais como ferro, prata, cobre e ouro (IARC, 2012). E por ser bastante solúvel em água, altos níveis de contaminação são observados (CHUNG *et al.*, 2014), pelas formas inorgânicas (iAs) de arsenito (As^{3+}) e arsenato (As^{5+}).

No Brasil, o As está amplamente distribuído pelo território, sendo o Quadrilátero Ferrífero (QF), no estado de Minas Gerais, uma região que merece destaque pela alta concentração e risco toxicológico do semi-metal (ALDERETE, 2020). O intemperismo e as atividades antrópicas são as maiores fontes de contaminação por As. A erosão das rochas ricas em minerais com arsênio irá disponibilizar o elemento para o ambiente de forma natural, podendo ser acelerado por atividades humanas (RIOS *et al.*, 2010) como o uso de pesticidas, agrotóxicos e a mineração (RIOS *et al.*, 2010; HUGHES, 2011), esta última bastante expressiva no QF.

A toxicidade do As está relacionada com os diversos mecanismos acionados pelo composto ao entrar em contato com as células, estes que podem ser diferentes de acordo com a forma química ao qual o organismo foi exposto (MOLIN *et al.*, 2015). De maneira geral, o arsenito e as espécies orgânicas trivalentes reagem com grupos sulfidríla ($\bullet SH$) de proteínas (NURCHI *et al.*, 2020; HU *et al.*, 2020). Já o arsenato pode substituir o fosfato em

várias moléculas (HU *et al*, 2020). Outros mecanismos estão relacionados à metilação do DNA, ou seja, mudanças epigenéticas (MARTIN e FRY, 2018) e substituição do átomo de zinco em moléculas de forma direta ou indireta (ZHOU *et al*, 2021).

Ao entrar em contato com o corpo humano o iAs será bioconvertido em As orgânico (HUGHES, 2002). A metabolização do composto ocorre nas células hepáticas da seguinte forma (Figura 1): o iAs^{5+} é reduzido com o auxílio da molécula glutaciona reduzida (GSH) para iAs^{3+} , em seguida o arsenito será metilado com o auxílio das enzimas S-adenosilmetionina (SAM) e arsenito metiltransferase (As3MT), sendo transformado nas formas orgânicas ácido monometilarsônico (MMA) e o ácido dimetilarsínico, (DMA) pentavalentes e trivalentes (com atividade de GSH), estas últimas são altamente cito e genotóxicas (DROBNA, STYBLO & THOMAS, 2009). A ordem de toxicidade das formas químicas é: $iAs^{3+} > iAs^{5+} > As^{3+}$ orgânico $> As^{5+}$ orgânico. Ao final do processo, além de serem usadas enzimas antioxidantes gerando um desequilíbrio enzimático no organismo, espécies reativas (ERs) são geradas (VAHTER 2009; WU *et al*, 2001).

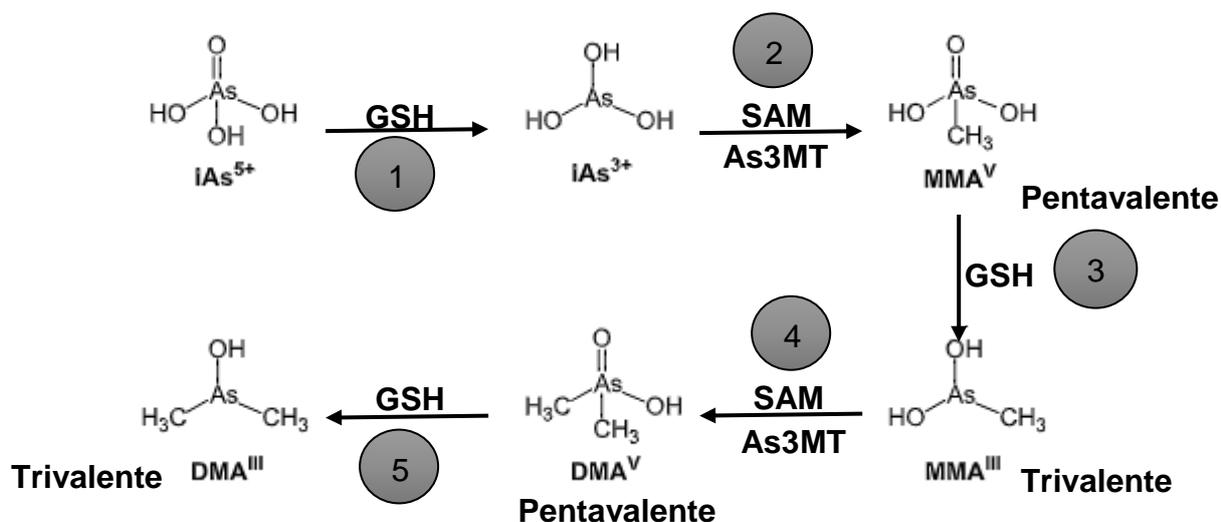


Figura 1. Bioconversão do arsenato (iAs) em ácido dimetilarsínico trivalente (DMA III). **(1)** O arsenato absorvido é reduzido em arsenito pela doação de elétron da molécula glutaciona reduzida (GSH). **(2)** Em seguida o arsenito é metilado com o auxílio das enzimas S-adenosilmetionina (SAM) e arsenito metiltransferase (As3MT) formando o ácido monometilarsônico pentavalente (MMA v). **(3)** Molécula glutaciona reduzida (GSH) reduz a molécula pentavalente em ácido monometilarsônico trivalente (MMA III). **(4)** As enzimas SAM e As3MT irão metilar o recém-formada MMA III em ácido dimetilarsínico pentavalente (DMA V). **(5)** Por fim, a GSH irá reduzir o DMA V em ácido dimetilarsínico trivalente (DMA III) concluindo a bioconversão. **Fonte:** Imagem adaptada de TAM, PRICE & WANG, 2020.

Espécies reativas (ERs) são elementos ou moléculas que possuem elétrons desemparelhados nas suas estruturas que resultam em alta reatividade (AUGUSTO, 2006). Exemplos comuns são o ânion radical superóxido ($\bullet O_2^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2),

óxido nítrico ($\bullet\text{NO}^-$), radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e metais de transição (JACOB *et al*, 2013), categoria na qual o As está inserido. A produção de ERs pode ter origem endógena, a partir da respiração celular na cadeia transportadora de elétrons (CTE), ou em processos de sinalização celular e vias inflamatórias (AUGUSTO, 2006; JACOB *et al*, 2013). Elas também podem ter origem exógena, por exposição a agentes químicos, radiação ionizante, radiação ultravioleta (UV), fumaça de cigarro e poluentes (AUGUSTO, 2006; JACOB *et al*, 2013).

O As induz a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) por diversas vias como: produção direta de ânions superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (TAM, PRICE e YANG, 2020); ativação da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase (NOX) associada à membrana (ELLINSWORTH, 2015); inibição da enzima succinato desidrogenase na cadeia transportadora de elétrons (CORSINI *et al*, 1999), evidenciando uma perturbação na atividade mitocondrial; uso de moléculas antioxidantes, como as glutatonas, para a própria bioconversão do composto ao entrar no organismo (AHMAD, KITCHIN e CULLEN, 2000), entre outros. Desta forma, o conjunto de todos esses mecanismos, e outros ainda não totalmente compreendidos, evidenciam o potencial tóxico do As, implicando em disfunções moleculares que impactam todo o organismo.

As ERs podem danificar várias biomoléculas essenciais pela alteração química destas (GERSCHMAN *et al.*, 1954; HARMAN, 1956). Proteínas que passam por oxidação podem sofrer *crosslinks* ou serem transformadas em proteínas carboniladas (JACOB *et al* 2013), causando uma perda de função ou funcionamento incorreto (VICTOR *et al.*, 2009). Lipídeos são lesionados através da peroxidação lipídica iniciada pela reação com o radical hidroxila, processo que pode promover o rompimento de membranas plasmáticas (AUGUSTO, 2006). O DNA é alvo recorrente de ERs (AMES *et al*, 1993), seja por ação direta de oxidação de bases ou indireta pelas proteínas disfuncionais e co-produtos da peroxidação lipídica, gerando danos no DNA (AUGUSTO, 2006; VICTOR *et al*, 2009; JACOB *et al*, 2013).

Portanto, ERs podem levar ao comprometimento do genoma e aumento dos efeitos deletérios, caso não ocorra a neutralização dessas (RAMOS *et al*, 2009). Este comprometimento pode culminar em mutações, disfunção das vias de reparo de DNA e desequilíbrio entre a expressão de proto-oncogenes e genes supressores de tumor, que evidenciam o potencial carcinogênico do As (TAM, PRICE & WANG, 2020).

No entanto, os organismos possuem um sistema de enzimas antioxidantes capazes de combater as ERs. Esse sistema é composto por enzimas do tipo catalases (CAT), glutatonas e superóxido dismutases (SOD), que em conjunto irão converter o ânion radical superóxido

($\bullet\text{O}_2^-$) em água (H_2O). Além do sistema antioxidante, para manter a integridade do genoma, as células contam com vias de reparo de DNA. Estas irão identificar e reparar lesões no DNA com a atuação de diversas proteínas. As vias se diferem pelo tipo da lesão que reconhecem e pelo mecanismo utilizado para o reparo (JACKSON e BARTEK, 2010).

Existem diversos tipos de lesões que podem comprometer o DNA, podendo ser tanto de origem endógena quanto exógena (CHATTERJEE e WALKER, 2017). Elas são classificadas em: oxidação de bases, quebras simples, quebras duplas, sítios abásicos, transversões, ligações covalentes entre bases adjacentes e *crosslinks* (JACKSON e BARTEK, 2009). Estes danos podem ser originados a partir de ataques de ERs (endógenas ou exógenas), erros de replicação, agentes químicos (ação direta ou por meio da geração de ERs), radiação ultravioleta (UV) e poluição (hidrocarbonetos, aldeídos) (CHATTERJEE e WALKER, 2017; CARUSILLO e MUSSOLINO, 2020). Um compilado dos danos e suas principais causas estão na figura abaixo (2).

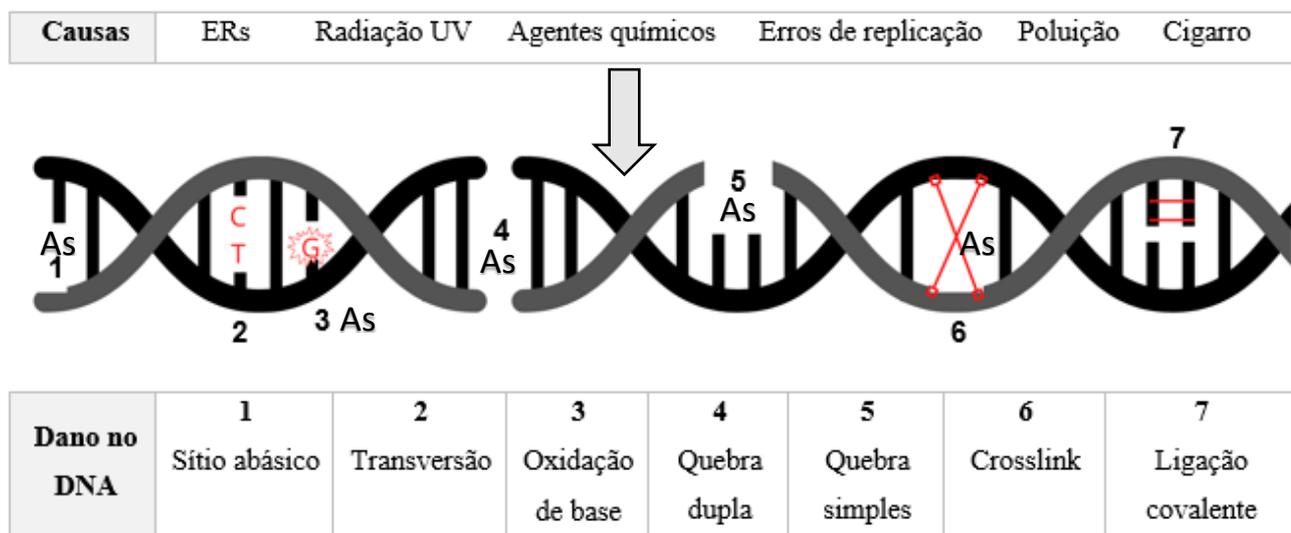


Figura 2. Resumo dos danos no DNA e suas principais causas. A seta indica a ação das causas sobre a dupla fita de DNA e os números indicam qual é o dano. O As na imagem indica quais os danos causados por arsênio.

Visto que há muitos danos possíveis, também existem diversos tipos de vias de reparo. Em eucariotos as mais estudadas e conhecidas são: o Reparo de Pareamento Errôneo (MMR), Reparo de Quebras de Fita Dupla, Reparo por Excisão de Bases (BER) e Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER) (HOEIJMAKERS, 2001). MMR repara pareamentos incorretos e BER repara sítios abásicos e oxidações de bases, estas que possuem marcadores como 8-oxo-7,8-dihidro-guanina (8-oxo-gua) e 8-oxo-7,8-dihidro-2-desoxiguanosina (8-oxo-dG). O reparo de *crosslinks* é realizado pela via de reparo Fanconi Anemia (FA), que ainda precisa ser melhor estudada (CARUSILLO e MUSSOLINO, 2020).

Já existem duas possíveis vias de reparo de quebras duplas: a via de reparo por União de Extremidades Não Homólogas (NHEJ) e a via de reparo por Recombinação Homóloga (HR) (Vítor *et al*, 2020).

A via de NER é acionada quando há identificação de lesões que distorcem a dupla hélice do DNA (SCHARER, 2013) e bloqueiam a transcrição da RNA polimerase (HOEIJMAKERS, 2001). Os substratos para que essa identificação ocorra podem ser: dímeros de pirimidina ciclobutano (CPDs) e fotoprodutos 6-4 pirimidina-pirimidona (6-4 PPs), gerados por radiação ultravioleta (UV), e também adutos gerados por agentes químicos e ciclopurinas resultantes de oxidações no DNA (COSTA *et al.*, 2003).

Estudos anteriores já revelaram que o arsênio desregula a via de NER através de perturbações na expressão gênica das proteínas XPA, XPB, XPC, XPD, XPE, XPF, XPG e TFIIH, estas que são as principais atuantes no mecanismo (NOLLEN *et al*, 2009; TAM, PRICE & WANG, 2020). Outras perturbações envolvem a interação com os grupos químicos na estrutura das proteínas, como por exemplo, a substituição do zinco no domínio de dedos de zinco das proteínas XPA e XPC (ZHOU *et al*, 2011).

Em vista de todos os possíveis danos que a molécula de DNA pode sofrer e dos mecanismos de toxicidade do As, é possível perceber porque a exposição a este semi-metal deve ser tratada com atenção. Vários estudos avaliando os riscos do As na saúde humana, no meio ambiente e sobre as biomoléculas podem ser encontrados na literatura, mas faltam trabalhos de revisão que associam os mecanismos de toxicidade do composto aos danos específicos no DNA, nos diferentes modelos experimentais já testados e as metodologias utilizadas para estas avaliações. Portanto, este trabalho visa auxiliar o preenchimento dessas lacunas, trazendo mais conhecimento sobre os mecanismos de ação do As sobre o DNA e como isso pode ser avaliado experimentalmente de diferentes formas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar através de uma revisão sistemática os efeitos da exposição ao arsênio sobre os mecanismos de indução de danos no DNA.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

I – Analisar os possíveis danos de DNA induzidos direta e indiretamente por As.

II – Comparar as metodologias, doses e modelos utilizados para todos os danos encontrados.

3. METODOLOGIA

A revisão sistemática foi realizada através de buscas por artigos científicos na plataforma on-line PubMed. Foram utilizadas palavras-chave para que a pesquisa pudesse ser feita como: “Arsenic DNA damage”, “Arsenic DNA lesion”, “DNA damage arsenite” e “DNA damage arsenate”.

De todos os resultados encontrados, foi feita uma filtragem para que o foco da pesquisa fosse atendido, primeiramente utilizando o *Display* da busca para mostrar a ordem dos artigos como *best match* (melhor combinação com os termos digitados), limitando até a 10ª página de busca, sendo usados somente artigos por busca direta e, em seguida, utilizando artigos apenas em inglês, que abordavam especificamente sobre danos no DNA, excluindo: outros impactos pelo arsênio e artigos que não especificaram os danos ou que não estavam disponíveis para serem lidos por completo. O critério de avaliação de qualidade dos artigos foi feito através da própria plataforma de busca, na PubMed os artigos são publicados em revistas científicas que realizam revisão por pares.

Os dados encontrados foram reunidos e listados para expor os danos no DNA associados à exposição ao arsênio. E não foi feita filtragem por ano de publicação. A metodologia e filtragem de buscas são mostradas no fluxograma abaixo (Figura 3).

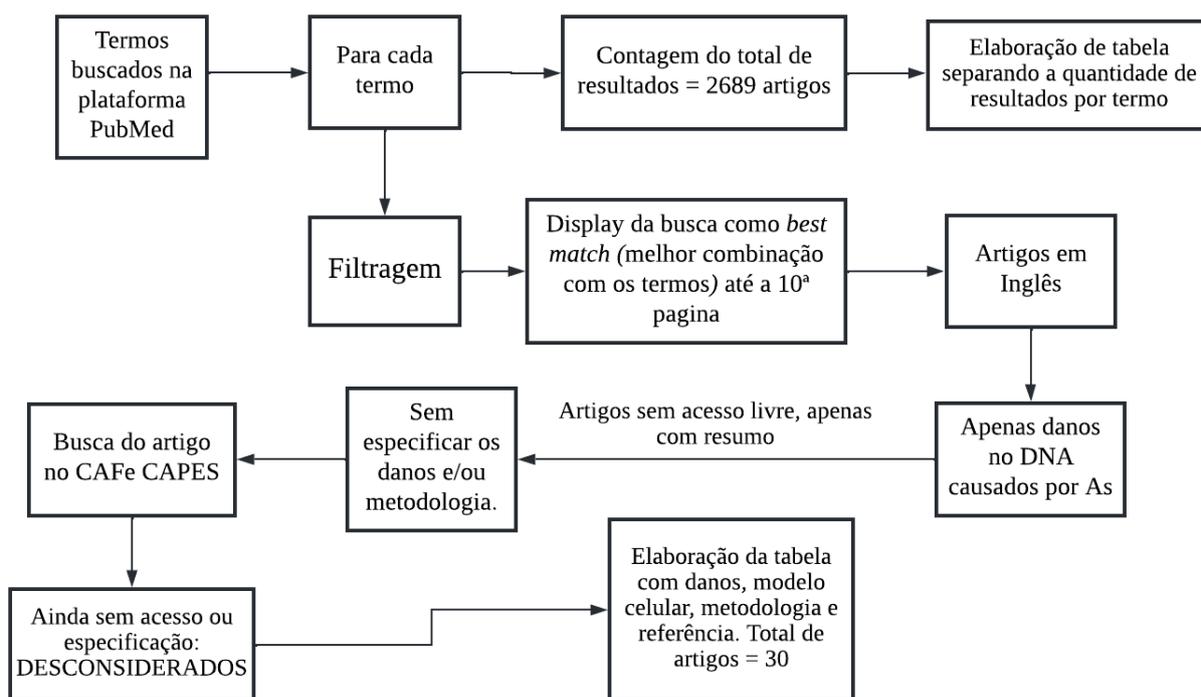


Figura 3. Fluxograma delineando a metodologia e como as tabelas foram feitas através da filtragem utilizada.

Assim, foram averiguados quais os impactos moleculares podem ser causados pelo arsênio, quais as respostas para esses danos e a obtenção de um maior conhecimento sobre as consequências tanto na célula quanto no organismo como um todo geradas pelo composto.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantidade de artigos encontrados na plataforma PubMed, conforme os 4 termos chaves utilizados para a realização do trabalho, estão sintetizados na tabela abaixo (1). Dentre todos eles, pode-se observar uma prevalência de artigos em que os estudos ocorrem no continente asiático, onde a concentração de As em águas subterrâneas é a mais elevada comparada com os outros continentes (AMEN *et al*, 2020; YADAV *et al*, 2021).

Tabela 1. Quantidade de artigos encontrados no PubMed de acordo com os termos pesquisados.

Termos	Número de resultados
Arsenic DNA damage	1074
Arsenic DNA lesion	130
DNA damage arsenite	410
DNA damage arsenate	1075

No geral, os termos de busca foram satisfatórios para o propósito do trabalho. Porém, é válido ressaltar que os resultados do termo “Arsenic DNA lesion” tiveram uma relação baixa com o intuito do uso da palavra “lesion”, que seria encontrar lesões no DNA. Isso pode ser explicado pela palavra “lesão” estar mais relacionada com um impacto macroscópico no organismo, ou seja, lesões teciduais. Portanto, o uso do termo “lesão” não é totalmente adequado para se tratar de danos no DNA.

Ao total foram encontrados 2689 artigos, destes 30 foram selecionados para realizar o trabalho através dos critérios de filtragem. Com a realização destes para cada termo, foi feito um compilado dos danos no DNA causados por arsênio, separados pelo tipo de dano, levando em consideração qual foi o modelo experimental utilizado, a metodologia realizada para a caracterização de cada tipo (tabela 2) e também as a espécie química de arsênio e as dosagens de tratamento.

Tabela 2. Resumo dos danos no DNA associados à exposição ao arsênio, modelo experimental e metodologia utilizados. Os números sobrescritos estão associando qual modelo está em qual referência. Os números em vermelho estão associando referências já citadas em danos anteriores.

Danos no DNA	Modelo	Metodologia	Referências
Crosslinks	Células epiteliais alveolares embrionárias humanas (L-132) ¹	Ensaio Filter-binding	Kato <i>et al</i> , 1994 ¹ ; Schaumlöffel e Gebel, 1998 ² ; Ramírez <i>et al</i> , 2000 ³ ; Mourón, Golijow e Dulout, 2001 ⁴ ; Hornhardt <i>et al</i> , 2006 ⁵ ; Mourón <i>et al</i> , 2006 ⁶ .
	Linfócitos extraídos do sangue de humanos de 25-35 anos ²	Ensaio cometa com proteinase-K	
	Célula hepática fetal humana (WRL-68) ³	Isolamento e precipitação de DPC (DNA-protein crosslinks)	
	Fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) ⁴	Ensaio Cometa	
	Linfoblastos humanos (TK6) ⁵	Ensaio K-SDS e Cometa com proteinase-K	
	Fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) ⁶	Ensaio Cometa com proteinase-K	
Metilação de bases	Urina de mulheres grávidas (28-38 semanas de gestação) ⁷	Quantificação de N ⁷ -MeG por cromatografia líquida e espectrometria de massa	Chou <i>et al</i> , 2014 ⁷ ; Tsai <i>et al</i> , 2021 ⁸
	Urina de pessoas de 20 a 58 anos (variação devido 20 anos de estudo) ⁸	Quantificação de N ⁷ -MeG por cromatografia líquida e espectrometria de massa	
Oxidação de bases	Reação direta DMI (iodeto de dimetilarsina) e timina ⁹	Detecção de <i>cis</i> -timina glicol por cromatografia gasosa e espectrometria de massa	Yamanaka <i>et al</i> , 2003 ⁹ ; Yamauchi <i>et al</i> , 2004 ¹⁰ ; Basu <i>et al</i> , 2005 ¹¹ ; Piao <i>et al</i> , 2005 ¹² ; Qin <i>et al</i> , 2008 ¹³ ; Kojima <i>et al</i> , 2009 ¹⁴ ; Ruiz-Ramos, 2009 ¹⁵ ; Hinhumpatch <i>et al</i> , 2013 ¹⁶ ; Litwin <i>et al</i> , 2013 ¹⁷ ; Chou <i>et al</i> , 2014 ⁷ ; Qu e Waalkes, 2015 ¹⁸ ; Chayapong <i>et al</i> , 2017 ¹⁹ ; Navasumrit <i>et al</i> , 2019 ²⁰ ; Tsai <i>et al</i> , 2021 ⁸ ; Cooper <i>et al</i> , 2022 ²¹ .
	Urina de crianças e adultos (até 69 anos) ¹⁰	Quantificação de 8-OHdG por ELISA	
	Linfócitos humanos ¹¹	Ensaio Cometa + enzima FPG (DNA-formamidopirimidina glicosilase)	
	Camundongos do tipo IRC ¹²	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e imunohistoquímica	
	Queratinócitos humanos (HaCat) ¹³	Detecção de 8-OHdG por ensaio de imunocitoquímica	

Tabela 2 (continuação). Resumo dos danos no DNA associados à exposição ao arsênio, modelo experimental e metodologia utilizados. Os números sobrescritos estão associando qual modelo está em qual referência. Os números em vermelho estão associando referências já citadas em danos anteriores.

Células epiteliais de fígado de camundongo (TRL1215), Células epiteliais da próstata humana deficientes em metilação (RWPE-1), células uroteliais humanas (UROtsa) e UROtsa/F35 (UROtsa que expressam As3MT) ¹⁴	IST e ELISA	
Adenocarcinoma humano (MCF-7) - Câncer de mama ¹⁵	Detecção de 8-OHdG por ensaio fluorimétrico (OxyDNA)	
Saliva, unha e urina de crianças ¹⁶	Quantificação de 8-OHdG por HPLC	
Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Saccharomyces pombe</i> ¹⁷	Detecção de 8-OHdG por ELISA	
Camundongos transgênicos (MT-null) e Linhagem parental (WT) ¹⁸	Immuno-spin trapping (IST) e ELISA	
Fibroblastos de pele de camundongo (m5S) ¹⁹	Quantificação de 8OHdG por ensaio de imunocoloração	
Mulheres Grávidas (entre 20 e 40 anos) ²⁰	Quantificação de 8-OHdG e 8-nitroguanina por ELISA	
Queratinócitos neonatais humanos (HEKn) e camundongos ²¹	Quantificação de 8OHdG por imunohistoquímica	
Urina de mulheres grávidas (28-38 semanas de gestação) ⁷	Quantificação de 8-OHdG por cromatografia líquida e espectrometria de massa	

Tabela 2 (continuação). Resumo dos danos no DNA associados à exposição ao arsênio, modelo experimental e metodologia utilizados. Os números sobrescritos estão associando qual modelo está em qual referência. Os números em vermelho estão associando referências já citadas em danos anteriores.

	Urina de pessoas de 20 a 58 anos (variação devido 20 anos de estudo) ⁸	Quantificação de 8-OHdG por cromatografia líquida e espectrometria de massa	
Quebras duplas	Ovários de Hamster Chinês: WT-(CHO-K1), xrs-5 (mutante em Ku80) e irs-20 (mutante em DNA-PKcs) ²²	Ensaio CHEF (Eletroforese de Campo elétrico homogêneo fixado por contorno)	Okayasu, 2003 ²² ; Litwin <i>et al</i> , 2013 ¹⁷ ; Jiménez-Villarreal <i>et al</i> , 2017 ²³ ; Cooper <i>et al</i> , 2022 ¹⁹ ; Nail <i>et al</i> , 2022 ²⁴ ; Okamura <i>et al</i> , 2022 ²⁵ ; Volk <i>et al</i> , 2022 ²⁶ .
	Leucócitos humanos extraídos do sangue ²³	Ensaio Cometa duplo	
	Queratinócitos humanos (HaCaT e Ker-CT) ²⁴	Ensaio Cometa	
	Hepatócito humano (LX-2) ²⁵	Deteção de γ-H2AX por Western Blotting	
	Queratinócitos neonatais humanos (HEKn) ²⁶	Ensaio Cometa	
	Leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Saccharomyces pombe</i> ¹⁷	Ensaio Cometa + PFGE (eletroforese em gel de campo pulsado)	
	Queratinócitos neonatais humanos (HEKn) e camundongos ¹⁹	Quantificação de PH2AX por ensaio imunohistoquímico	
Quebras simples	Machos de camundongos do tipo ICR ²⁷	Ensaio Cometa	Kato <i>et al</i> , 1994 ¹ ; Yamanaka e Okada, 1994 ²⁷ ; Schaumlöffel e Gebel, 1998 ² ; Mourón, Golijow e Dulout, 2001 ⁴ ; Palus <i>et al</i> , 2005 ²⁸ ; Mourón <i>et al</i> , 2006 ⁶ ; Jasso-Pineda <i>et al</i> , 2011 ²⁹ ; Flora <i>et al</i> , 2012 ³⁰ ; Jiménez-Villarreal <i>et al</i> , 2017 ²³ ; Navasumrit <i>et al</i> , 2019 ²⁰ ; Volk <i>et al</i> , 2022. ²⁵
	Leucócitos extraídos do sangue de homens trabalhadores de indústria fundidora de cobre ²⁸	Ensaio Cometa + FPG	
	Urina de crianças (até 7 anos) residentes em região de mineração ²⁹	Ensaio Cometa	

Tabela 2 (continuação). Resumo dos danos no DNA associados à exposição ao arsênio, modelo experimental e metodologia utilizados. Os números sobrescritos estão associando qual modelo está em qual referência. Os números em vermelho estão associando referências já citadas em danos anteriores.

Machos de camundongos do tipo Swiss ³⁰	Ensaio Cometa e TUNEL	
Células epiteliais alveolares embrionárias humanas (L-132) ¹	Ensaio cometa	
Linfócitos extraídos do sangue de humanos de 25-35 anos ²	Ensaio cometa	
Fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) ⁴	Ensaio Cometa	
Fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) ⁶	Ensaio Cometa	
Mulheres Grávidas (entre 20 e 40 anos) ²⁰	Ensaio Cometa	
Leucócitos humanos extraídos do sangue ²³	Ensaio Cometa duplo	
Queratinócitos neonatais humanos (HEKn) ²⁵	Ensaio Cometa	

Os estudos foram conduzidos *in vivo*, *in vitro* ou ambos. Para os ensaios *in vivo*, observamos que, em geral, inicialmente foi feita uma caracterização da forma química pela qual os modelos foram expostos, seja uma exposição crônica ou aguda, e uma medição da concentração de As. Em seguida foram feitas coletas de amostras de sangue, urina e/ou unhas, assim como a quantificação da concentração de As presente, e uma medição direta de marcadores de danos no DNA ou a extração do DNA para que os métodos possam ser aplicados. Para os estudos *in vitro*, foram feitos tratamentos com As nas linhagens celulares utilizadas, podendo ser com sais inorgânicos de arsenito, DMA, DMI (iodeto de dimetilarsina), MMA e TMA (trimetilarsina). Não foram encontrados tratamentos com formas orgânicas ou inorgânicas de arsenato. Os tratamentos nos estudos revisados utilizaram tanto uma única espécie química de As quanto várias, para fins comparativos.

Entre todos os resultados, apenas um artigo teve como objetivo avaliar danos diretos do As ao DNA (Yamanaka *et al*, 2003). Neste estudo, autores apontam que a reação química

direta entre DMI e timina promove a oxidação desta base nitrogenada, formando *cis*-timina glicol, que poderia ser usado como marcador de intoxicação por DMI e talvez outras espécies de As. Ainda assim, há uma lacuna sobre os danos diretos no DNA induzidos pelo semi-metal que ainda precisam ser mais investigados, como Nail *et al* (2022) pontua.

4.1. Oxidação de bases

A maior parte dos danos encontrados são de origem oxidativa. A oxidação de bases é majoritariamente avaliada por quantificação do marcador 8-OHdG (tabela 2). Mas há também a detecção da base oxidada 8-nitroguanina (Navasumrit *et al*, 2019) e adutos de nitrona (Kojima *et al*, 2009). Para além dos marcadores, Basu *et al* (2005) detecta a oxidação de bases com o auxílio da enzima DNA-formamidopirimidina glicosilase (FPG), atuante em BER e responsável por reconhecer purinas oxidadas.

A condução das pesquisas variou entre o uso de modelos *in vivo*, *in vitro* ou de ambos. A maioria dos estudos realizados somente *in vitro* (Qin *et al*, 2008; Kojima *et al*, 2009; Ruiz-Ramos, 2009; Litwin *et al*, 2013; Qu e Waalkes, 2015) realizaram os tratamentos com arsenito de sódio (NaAsO₂), com exceção de Chayapong *et al* (2017) que utilizou o Trióxido de arsênio (As₂O₃). O estudo de Yamanaka *et al* (2003), já mencionado, destaca-se por ser o único, dentre todos os artigos encontrados, que realiza uma reação química direta do As com o DNA, utilizando a espécie de lodeto de dimetilarsina (DMI) e a base nitrogenada timina.

No geral, as concentrações de As variam muito entre os estudos e são medidas de maneiras diferentes entre os estudos *in vivo* e *in vitro*. Além disso, os tempos de exposição também diferem. Geralmente os ensaios com modelos *in vitro* são de exposição aguda ao As, exceto para o trabalho de Kojima *et al* (2009). Já aqueles com modelos *in vivo* são de exposição crônica ao As, mas Yamauchi *et al* (2004) e Cooper *et al* (2022) averiguaram ambas exposições crônica e aguda em seus estudos. A exposição aguda compreende um tempo de contato com elemento potencialmente tóxico por um período de até 24h e a crônica o contato contínuo, geralmente à pequenas doses, por um longo período de tempo (INCA, 2022).

4.1.1. Concentrações e tempos de tratamento com As *in vivo*

Algumas das pesquisas realizadas com modelos *in vivo*, possuíam uma etapa de caracterização das formas químicas do As a partir das amostras coletadas ou da fonte de exposição (Yamauchi *et al*, 2004; Hinhumpatch *et al*, 2013; Chou *et al*, 2014; Tsai *et al*,

2021), identificando-as em As_3^+ , As_5^+ , MMA e DMA. Dois estudos identificaram também outras formas químicas, como a arsenobetaina (AB), metabólito de baixa toxicidade associado ao metabolismo de organismos marinhos e ao consumo de frutos do mar (Hinhumpatch et al, 2013) e trimetilarsina (TMA) (Yamauchi et al, 2004). Porém, outros estudos não fizeram distinção das espécies de As e conduziram os experimentos classificando o As como As total (Basu et al, 2005; Navasumrit et al, 2019).

Já Piao et al (2005) conduziram seus trabalhos contaminando a água de camundongos com As_2O_3 . E Cooper et al (2022) além de contaminar a água de camundongos com As_3^+ , também faz o tratamento com o mesmo composto em linhagens de células humanas (etapa *in vitro*), mas em diferentes concentrações.

As concentrações de As foram quantificadas de amostras de urina, unhas e/ou saliva (Basu et al, 2005; Hinhumpatch et al, 2013; Chou et al, 2014; Navasumrit et al, 2019; Tsai et al, 2021) ou de água e alimentos contaminados (Yamauchi et al, 2004). Como acima mencionado, Piao et al (2005) e Cooper et al (2022) contaminaram água consumida por camundongos, em doses conhecidas.

As concentrações são particulares de cada estudo pois dependem de como o indivíduo foi exposto, em que nível, por quanto tempo e o estilo de vida dos mesmos. Além disso, conforme o tipo da amostra, as concentrações são designadas em diferentes unidades de medidas: para urina foram utilizadas ug/gcre (micrograma por grama de creatinina) (Hinhumpatch et al, 2013; Chou et al, 2014; Tsai et al, 2021) e ug/L (Basu et al, 2005); para unhas ug/g (Navasumrit et al, 2019); saliva ug/L (Hinhumpatch et al, 2013); água mg/L (Yamauchi et al, 2004; Cooper et al, 2022) e ppm (Piao et al, 2005); e para alimentos em mg (Yamauchi et al, 2004). As concentrações avaliadas em cada estudo associadas ao tipo da amostra e a forma química do As estão reunidas na tabela abaixo (3).

Tabela 3. Resumo das concentrações dos estudos *in vivo* de oxidações associados ao tipo da amostra e forma química do As. Os valores das concentrações são as médias das amostras, exceto para os valores marcados com * (concentração fixa para tratamento) e “ (mínimo e máximo).

Referência	Tipo da amostra	Forma química	Concentração
Tsai et al, 2021	Urina	iAs (As_3^+ + As_5^+)	9.65ug/g cre
		MMA	8.96ug/g cre
		DMA	83.26ug/g cre

Tabela 3 (continuação). Resumo das concentrações dos estudos *in vivo* de oxidações associados ao tipo da amostra e forma química do As. Os valores das concentrações são as médias das amostras, exceto para os valores marcados com * (concentração fixa para tratamento) e “ (mínimo e máximo).

Hinhumpatch et al, 2013	Urina	As total {iAs (As ₃ ⁺ + As ₅ ⁺) + MMA + DMA + AB}	118.64ug/g cre
	Saliva		2.23ug/L.
Chou et al, 2014	Urina	As ₃ ⁺	0.30ug/g cre
		As ₅ ⁺	0.21ug/g cre
		MMA	0.46ug/g cre
		DMA	20.01ug/g cre
Basu et al, 2005	Urina	As total	259.75 ug/L
Navasumrit et al, 2019	Unhas	As total	Grupos separados em <0.5ug/g, 0.5ug/g, 1ug/g e >1ug/g
Cooper et al, 2022	Água	As ₃ ⁺	5mg/L*
Piao et al, 2005	Água	As ₂ O ₃	1ppm e 2ppm*
Yamauchi et al, 2004	Água	As total	0.13 a 0.20mg/L”
	Alimentos		23 até 49mg” (crianças) e 26 até 56mg” (adultos)

Como citado anteriormente, os tempos de exposição são majoritariamente crônicos, passando por 28 dias (Cooper et al, 2022), 40 dias (Piao et al, 2005), a partir de 1 ano (Navasumrit et al, 2019), 5 anos (Basu et al, 2005), 10 anos (Hinhumpatch et al, 2013) e 40 anos (Tsai et al, 2021). Chou et al (2014) não especifica o tempo de exposição e os participantes do estudo não residiam em áreas naturalmente contaminadas por As. Yamauchi et al (2004) também não especifica o tempo da exposição crônica, mas pontua que os indivíduos participantes do estudo são residentes de uma região naturalmente contaminada. Este trabalho também avaliou os efeitos de uma intoxicação aguda acidental, pelo consumo de alimentos contaminados. Após 24h da ingestão da comida contaminada, com concentração de 23 até 56mg de As, 4 pessoas faleceram. Este resultado ressalta a toxicidade e periculosidade do semi-metal.

Hinhumpatch *et al* (2013) observou que crianças expostas ao As desde o útero, apresentaram maiores concentrações de As na saliva e na urina comparado com crianças expostas ao As depois do nascimento e com o grupo controle. Também foram encontradas maiores concentrações de 8-OHdG e um menor reparo de bases oxidadas, avaliado pela expressão da enzima hOGG1. Portanto, crianças expostas desde o útero ao As possuem risco de danos induzidos por oxidação persistentes no DNA, por conta do mau funcionamento de BER, evidenciando que a toxicidade deste semi-metal também está relacionada com a disfunção de vias de reparo de DNA.

Mediante esses dois fatores, foi observado que maiores concentrações e maiores tempos de exposição ao As induzem um maior acúmulo de danos no DNA. Nos estudos que havia diferentes concentrações (Piao *et al*, 2005; Chou *et al*, 2014; Navasumrit *et al*, 2019; Tsai *et al*, 2021), foi observado que a o acúmulo de 8-OHdG é dependente do aumento de concentração de As, ou seja, maiores doses de As geram um maior número de bases oxidadas.

Através dos estudos *in vivo* fica nítido que para além da concentração, o tempo de exposição é crucial para o maior acúmulo de danos, que gera consequências severas para o organismo. A partir de 5 anos de exposição as pessoas apresentaram lesões na pele, hiper e hipopigmentação e hiperqueratose (Yamauchi *et al*, 2004; Basu *et al*, 2005). Piao *et al* (2005) sugere que as ERs induzidas por As ocasionam a oxidação de bases, que são responsáveis por mudanças patológicas no tecido cerebral, evidenciando a neurotoxicidade do composto.

O estudo de Tsai *et al* (2021) relacionou diretamente a constante exposição ao arsênio ao câncer de bexiga, mediante altos níveis de 8-OHdG na urina. Basu *et al* (2005) pontua que o acúmulo de oxidação de bases induzidas por As pode estar relacionado com a alta incidência de câncer na região do estudo, West Bengal na Índia, naturalmente contaminada pelo composto. Navasumrit *et al* (2019) observou a formação de micronúcleos nas células de recém-nascidos, o que pode levar a uma maior propensão ao desenvolvimento de câncer. Mesmo diante desses impactos, o estudo demonstrou que os efeitos podem ser reversíveis se a exposição ao composto não for contínua.

Yamauchi *et al* (2004) observou que mediante exposição aguda, os níveis de 8-OHdG tiveram sua detecção máxima 30 dias após a contaminação (23.2ng/g cre), e depois de 180 dias os níveis retornaram ao normal. Para a exposição crônica foi observada uma alta correlação entre a concentração de As e alta concentração de 8-OHdG detectada,

principalmente para exposição ao DMA. Também foi observado que os danos no DNA podem ser reduzidos após 1 ano sem exposição ao As e há uma melhora nos sintomas da pele. No entanto, vale destacar que mesmo que os níveis de danos diminuam com o tempo, a mutagênese induzida durante a exposição não pode ser revertida, o que não exclui consequências deletérias após o término da exposição, como o aparecimento de tumores.

4.1.2. Concentrações e tempos de tratamento com As *in vitro*

Nos estudos que avaliaram a formação de bases oxidadas usando modelos *in vitro*, as concentrações dos tratamentos com As variaram de 0,25uM até 500uM e os tempos de 2h a 24h (exposição aguda). Uma exceção foi o estudo de Kojima *et al* (2009) que foi conduzido por 30 semanas (exposição crônica). A maioria dos estudos utilizou pelo menos duas concentrações diferentes de As para avaliar os danos resultantes, exceto Cooper *et al* (2022) e Yamanaka *et al* (2003) que usaram apenas uma concentração, 1uM e 5uM, respectivamente. Na tabela abaixo (4) estão reunidas as concentrações e formas químicas utilizadas para os ensaios *in vitro*.

Tabela 4. Resumo das concentrações dos estudos *in vitro* de oxidações associados à forma química do As.

Referência	Forma química	Concentração
Yamanaka <i>et al</i> (2003)	DMI + Timina	5uM (DMI) para 1uM (timina)
Qin <i>et al</i> (2008)	$NaAsO_2$	1uM, 5uM, 10uM, 20uM e 40 uM
Kojima <i>et al</i> (2009)	$NaAsO_2$	0.25uM, 0.5uM e 1uM (TRL1215, UROtsa e UROtsa/F35) 1uM, 2.5uM e 5uM (RWPE-1)
Ruiz-Ramos (2009)	$NaAsO_2$	0.5uM, 2uM, 5uM, 10uM e 50 uM
Litwin <i>et al</i> (2013)	$NaAsO_2$	50uM, 100uM, 250uM e 500uM
Qu e Waalkes (2015)	$NaAsO_2$	1uM e 5uM
Chayapong <i>et al</i> (2017)	As_2O_3	100uM e 500uM
Cooper <i>et al</i> (2022)	As_3^+	1uM

Chayapong *et al* (2017) tratou células de camundongo com 100uM e 500uM com As_2O_3 durante 18h e observou o aumento nos níveis de ERs de acordo com o aumento da

concentração de As. A mesma relação foi observada para os níveis de 8-OHdG, gerando atrasos no ciclo celular.

Apesar dos impactos do trióxido de arsênio, há estudos comprovando o seu uso terapêutico no combate ao câncer. Chen *et al* (2021) observa que a habilidade dessa forma química do As de se ligar às cisteínas, resgata a conformação estrutural da proteína p53 e, portanto, a sua função de supressora de tumor. Mas pontua que essa modulação não é feita à nível de transcrição, assim são necessários maiores estudos sobre a interação do composto com o DNA para saber como esse equilíbrio entre supressão de tumor e indução ao tumor é estabelecido.

Ruiz-Ramos (2009) utilizou diversas concentrações de NaAsO₂ (0.5uM, 2uM, 5uM, 10uM e 50 uM) para tratar linhagem de células tumorais e analisou seus impactos em diferentes tempos de exposição aguda (2h, 4h, 6h, 12h e 24h). Foi observado que mesmo as menores concentrações de As usadas, induziram a oxidação de bases para todas as faixas de tempo. Conforme a concentração aumentou, o acúmulo de danos também aumentou. Os autores também destacaram que a oxidação de bases se deu pela alta produção de ERs induzidas pelo composto.

Qin et al (2008) tratou células HaCat com concentrações de 1uM, 5uM, 10uM, 20uM e 40uM de NaAsO₂ por 24h. Foi observado que em concentrações acima de 10uM, os níveis de 8-OHdG aumentaram exponencialmente, mas nas concentrações abaixo de 5uM não houve danos significativos. Como aqui as células tratadas eram não-tumorais, este estudo evidencia que células que já possuem mutações são mais suscetíveis a danos no DNA, como observado por Ruiz-Ramos (2009). Ainda assim, nas doses mais baixas (até 5uM) foi observado que o As foi capaz de inibir a atividade de PARP-1, uma proteína com 2 domínios dedos de zinco, atuante na via de BER. Mas ao realizar o tratamento com zinco a atividade da proteína foi restaurada e os níveis de 8-OHdG diminuíram, mostrando que o maior acúmulo de danos por oxidação de bases está relacionado com disfunção das proteínas da via de BER para além da produção de ERs. Este pode ser um fator significativo para os mecanismos de toxicidade do As.

Cooper et al (2022) também observou disfunção da proteína PARP-1, porém com o estudo *in vivo* e com exposição crônica de 28 dias, explicada pela modulação de NOX induzindo a produção de ERs. Além disso, ao tratar HEK293T com 1uM de arsenito por 24h observou-se que o As sozinho não foi capaz de gerar bases oxidadas de forma significativa.

O acúmulo de danos de bases oxidadas só ocorreu mediante a exposição conjunta com radiação UV.

Qu e Waalkes (2015) tratou células de camundongo com 1uM e 5uM de NaAsO₂ também por 24h, observando que células da linhagem WT que possuíam a proteína MTF-1 (Fator 1 de Transcrição ativado por metal), mostraram um aumento não significativo dos danos por oxidação (5uM). Já nas células da linhagem MT-null, que não possuíam MTF-1, houve um aumento dos níveis de danos oxidativos dependente da concentração de As e mesmo com 1uM, os danos foram significativos. Para essa linhagem, ao tratá-las com MTF-1 os resultados se assemelharam com aqueles da linhagem WT, mostrando que a proteína tem ação importante no controle da toxicidade do As, porém não se sabe ao certo se MTF-1 atua como antioxidante ou se sequestra o composto e impede a sua interação molecular. Também houve um aumento dependente da concentração de As da expressão de 2 genes marcadores de estresse oxidativo, HO-1 e GSTα2, evidenciando uma indução da produção de ERs para ambas as linhagens. Diante desse resultado, fica claro que células que já possuem algum tipo de desregulação de proteínas são mais suscetíveis a danos por As.

Kojima et al (2009) também têm resultados semelhantes, porém mediante uma exposição crônica com arsenito de sódio, na qual as linhagens celulares TRL1215, UROtsa e UROtsa/F35 foram tratadas com concentrações de 0.25uM, 0.5uM e 1uM, e a linhagem RWPE-1 com 1uM, 2.5uM e 5uM. Para esta última, não houve oxidação de bases significativa em nenhuma das concentrações testadas. Mas para a linhagem TRL1215, os níveis de oxidação de bases aumentaram após 5 semanas de exposição de forma dependente da concentração de As, na qual 1uM mostrou a maior quantidade de danos na marca no tempo de 16 semanas. Ambas as linhagens adquiriram fenótipo cancerígeno, para TRL1215 na marca de 18 semanas e para RWPE-1 no tempo de 30 semanas.

A aquisição do fenótipo cancerígeno sem a formação de bases oxidadas foi associada a outros mecanismos de toxicidade do As que não foram avaliados no estudo. Porém, foi observado que a capacidade de metilação parece ser obrigatória para a formação de danos por oxidação de bases e acelera o processo de formação de tumor, isso foi corroborado através dos experimentos com as linhagens UROtsa e UROtsa/F35, a primeira sem a enzima arsenito metiltransferase (As3MT) e a segunda com a enzima ativa. UROtsa/F35 mostrou um número muito maior de danos do que UROtsa bem como formação de tumor mais rápida. De qualquer forma houve fenótipo cancerígeno em todas as linhagens, mostrando que a carcinogênese induzida por As é multifatorial, na qual a velocidade depende do número de

mecanismos de toxicidade ativos ao mesmo tempo. Portanto, sugere-se que formas metiladas do As são fatores chave para a carcinogênese induzida pelo composto.

Yamanaka et al (2003) ao realizar a reação direta da forma metilada DMI com a base timina, observa a formação de uma espécie reativa intermediária, o peróxido de arsênio. Este modifica a base nitrogenada através de oxidação em cis-timina-glicol e não foi observada formação de ânion superóxido ou peróxido de hidrogênio. O estudo conclui que formas metiladas trivalentes de As podem ter um papel chave na carcinogênese através da oxidação de bases, o que corrobora em parte com o que foi proposto por Kojima et al (2009).

Litwin et al (2013) expôs leveduras à 50uM, 100uM, 250uM e 500uM de arsenito de sódio por 2h e detectou baixos níveis de 8-OHdG, mesmo na maior concentração. No entanto, foi possível observar que o processo de replicação é perturbado. Os autores pontuam, que diferentemente de mamíferos, para leveduras, o mecanismo de toxicidade do As pode não estar tão ligado à oxidação de bases e sim a outros fatores. Assim, em organismos diferentes o As impacta de formas diferentes, mas parece que o ciclo celular é afetado independente da espécie.

4.1.3. Panorama geral sobre a oxidação de bases induzidas por As

Com base nestes resultados é evidente que diferentes tipos de células reagem de maneiras diferentes à exposição de As. Mas podemos observar uma tendência: quanto maior a concentração e tempos de exposição ao As, maiores serão os níveis de oxidação de bases. O acúmulo de bases oxidadas tem relação com a disfunção de vias de reparo de DNA, principalmente BER, através da inibição ou modulação das proteínas e enzimas atuantes no processo.

Um das principais causas da oxidação de bases é através da ação de ERs. Kojima et al (2009) e Yamanaka et al (2003) pontuam que para que isso ocorra a capacidade de metilação e as formas metiladas do As são cruciais para a formação de ERs. Em contrapartida, Hinhumpatch et al (2013) observa que a capacidade de metilar o As é menor em crianças expostas, o que pode levar ao aumento de danos em resposta ao As. Tal discordância pode estar relacionada tanto ao tempo de exposição quanto ao tipo do ensaio, visto que estudos *in vivo* possuem fatores que interferem nas análises e podem culminar em resultados diferentes.

Por fim, caso os danos não sejam reparados, há uma propensão de formação de quebras no DNA, simples ou duplas (Litwin *et al*, 2013; Navasumrit *et al*, 2019; Cooper *et al*, 2022).

Aumentando a possibilidade de atraso no ciclo celular e replicação errônea, o que pode levar ao acúmulo de mutações caso a célula sobreviva. Em muitos casos as células entram em apoptose, o tipo mais comum de morte celular impulsionada por acúmulo de danos no DNA (Kaina, 2003).

4.2. Metilações

Ambos os artigos encontrados que abordam este tipo de dano em decorrência da exposição ao As (tabela 2) conduziram as pesquisas com modelos *in vivo*. Foram analisadas amostras de urina. As espécies químicas de As presentes foram identificadas, apontando a presença de As^{3+} , As^{5+} , MMA e DMA, e quantificadas na unidade de ug de AS por g de creatinina.

Chou *et al* (2014) encontraram 0.30ug/g cre, 0.21ug/g cre, 0.46ug/g cre e 20.01ug/g cre de As^{3+} , As^{5+} , MMA e DMA respectivamente. Já Tsai *et al* (2021) encontraram concentração 9.65ug/g cre para as formas inorgânica de As e 8.96ug/g cre para MMA e 83.26ug/g cre para DMA. Pode-se observar que a dosagens de DMA está muito elevada em comparação às outras espécies de As, e os autores sugerem que este aumento pode estar ligado ao consumo regular de frutos do mar. Para averiguar os danos no DNA, foi medida a concentração do marcador N7-metilguanina (N^7 -MeG), formado pela metilação de bases nitrogenadas, em ambos os estudos. Foi observada que quanto maiores as doses de As encontradas, maiores também foram as concentrações de N^7 -MeG, indicando uma correlação diretamente proporcional à exposição ao composto e metilação do DNA.

Chou *et al* (2014) fizeram a coleta de urina de gestantes entre 28 e 38 semanas de gestação. Foi observado que as espécies inorgânicas em comparação às espécies orgânicas produziram uma maior concentração do marcador. Isso pode ser explicado pelo fato das espécies inorgânicas serem bioconvertidas nas espécies orgânicas. Aqui os impactos da metilação de bases foram averiguados na qualidade do parto, este que foi impactado pela alta concentração de N^7 -MeG. Os autores também propuseram que para danos de bases nitrogenadas em mulheres grávidas, N^7 -MeG é um marcador mais sensível do que 8-OHdG, visto que impacta o processo de nascimento ao reduzir a qualidade do parto.

O estudo conduzido por Tsai *et al* (2021) teve uma duração de aproximadamente 20 anos. A população que fez parte da pesquisa consumiu água contaminada por As por cerca de 40 anos, as coletas de urina foram feitas na época em que eram jovens, por volta de 20 anos de idade, e depois com aproximadamente 55 anos de idade. Como pontuado anteriormente no tópico de danos por oxidação de bases, muitos participantes

desenvolveram câncer de bexiga e o marcador de dano no DNA que tem relação com o câncer não foi N⁷-MeG e sim 8-OHdG, este que também foi medido nas duas pesquisas e é originado a partir da ação das ERs. Para Tsai et al (2021) a metilação de bases não levou a danos destrutivos à nível celular, mas pode ter auxiliado os impactos na oxidação do DNA.

Vale ressaltar que entre as duas pesquisas, as concentrações gerais de As medidas por Tsai et al (2021) são mais altas do que as medidas por Chou et al (2014), por conta do tempo e concentração de exposição ao As ser maior. As mulheres grávidas que participaram do estudo de Chou et al (2014) não estavam consumindo regularmente água contaminada, inclusive o estudo aponta que a área não tinha alta incidência de As. Em suma, pouco foi encontrado sobre danos no DNA por metilações causadas por As. Pode ser que os termos buscados pouco se correlacionam com a categoria de danos por metilações, estes associados às mudanças epigenéticas (Smith et al, 1992), necessitando de uma busca mais aprofundada sobre o assunto.

4.3. Crosslinks

Todos os estudos que avaliaram a formação de *crosslinks* (tabela 2) foram conduzidos *in vitro* e a forma química do As mais utilizada foi o arsenito de sódio (NaAsO₂). No trabalho de Hornhardt et al (2006), além do NaAsO₂ também é utilizado o trióxido de arsênio (As₂O₃) conhecido como arsênico. Apenas Kato et al (1994) faz uso da forma metilada DMA.

As concentrações variaram bastante entre os estudos, indo desde 1nM até 25uM e apenas Kato et al (1994) e Hornhardt et al (2006) utilizam 10mM. Mas há um consenso entre todos eles: nas doses mais altas de (a partir de 10uM) há uma maior formação de crosslinks demonstrando mais uma vez que a indução de danos no DNA, e conseqüentemente a toxicidade do As, é dose dependente (Schaumlöffel e Gebel, 1998; Ramírez et al, 2000; Mourón, Golijow e Dulout, 2001; Mourón et al, 2006).

Apenas um tempo de tratamento foi utilizado para quase todos os estudos, mas que variam ao compará-los. São eles 2h (Mourón, Golijow e Dulout, 2001), 16h (Ramírez et al, 2000), 22h (Hornhardt et al, 2006) e 24h (Schaumlöffel e Gebel, 1998). Apenas Kato et al (1994) avaliou diferentes tempos, sendo 6h, 8h, 10h e 12h, demonstrando também que o tempo de exposição auxilia no efeito tóxico do composto, visto que a formação dos danos só foi observada a partir de 8h de exposição na dose de 10mM. Vale ressaltar que Kato et al (1994) também testou diferentes doses para corroborar que a toxicidade do As também é dependente da concentração. As células foram tratadas por 12h, sendo utilizadas as doses

de tratamento 5mM, 7.5mM e 10mM. Para todas houve formação de crosslinks, mas a maior quantidade foi vista na concentração de 10mM.

Hornhardt et al (2006) pontua que, mesmo que o NaAsO₂ tenha levado a formação de mais crosslinks que o As₂O₃, ao analisar os danos estatisticamente, não houve diferença significativa de ambos os tratamentos em relação ao controle. Isso pode estar ligado ao longo tempo de tratamento e as células possuírem vias de reparo de DNA para mitigar os efeitos a longo prazo.

No estudo de Kato *et al* (1994) foi observada a formação de sítios abásicos (AB), através de eletroforese em gel de agarose, antes do tempo em que os crosslinks fossem detectáveis. Este resultado sugere que a formação de AB podem ser precursores da formação de crosslinks e de quebras simples, que também foram avaliadas neste estudo. Esses AB são provavelmente originados da extração de uma base nitrogenada oxidada pelas ERs geradas na metabolização do DMA, evidenciando a interação indireta do As com o DNA através de oxidações.

De maneira geral, a formação de *crosslinks* pela exposição ao As também está correlacionada com a conseguinte formação de quebras simples no DNA. Isso foi visto em todos os estudos, exceto os de Ramírez *et al* (2000) e Hornhardt *et al* (2006), pois não avaliaram experimentalmente este dano e nem propuseram essa possibilidade nas suas pesquisas. Também foi visto que a formação de crosslinks pode mascarar as quebras simples no Ensaio Cometa, reduzindo o tamanho da cauda, principalmente no tratamento de 10uM de NaAsO₂, onde há maior dano por *crosslinks* comprovado com o uso da proteinase-K. Ramírez *et al* (2000) avalia também a capacidade de reparo após a formação dos crosslinks, apenas após a retirada do As em concentrações muito baixas (1nM).

Sendo isso possível, provavelmente demonstra que o acúmulo de danos é causado por não ou mal funcionamento das vias de reparo de DNA. Os danos por *crosslinks* são considerados muito citotóxicos, caso não sejam reparados. Além de quebras e fragmentação do DNA, podem ser causados atrasos no ciclo celular, erros de replicação e ao final, caso a célula não morra ou entre em apoptose. Caso a célula não morra, pode haver erros na separação das cromátides irmãs (Mourón et al, 2006) e formação de micronúcleos (Schaumlöffel e Gebel, 1998), levando ao acúmulo de mutações e possível tumorigênese.

4.4. Quebras duplas

Quase todas as pesquisas que avaliam a formação de quebras duplas foram conduzidas *in vitro*. Jiménez-Villarreal et al (2017) e Cooper et al (2022) também realizam ensaios *in vivo* com o consumo de água contaminada. A forma química do As mais utilizada é o NaAsO₂, com exceção de Jiménez-Villarreal et al (2017) que não caracteriza as formas de As e mede as concentrações como As total.

As concentrações avaliadas nos estudos *in vivo* variam entre 11.2ug/L até 17.4ug/L (Jiménez-Villarreal et al, 2017) e 5mg/L e 1uM (*in vitro*) (Cooper et al, 2022). Para ambos os estudos o tempo de exposição é crônico. Enquanto o primeiro avalia os efeitos do composto de 1 até 4 anos, o segundo os observa em 28 dias e também 24h. Os efeitos do As para a formação de quebras duplas avaliados por Cooper et al (2022), são os mesmos discutidos anteriormente no tópico de oxidações, portanto quebras duplas são acumuladas mediante a exposição conjunta do As com radiação UV em baixas doses e, a disfunção da enzima de via de reparo leva ao acúmulo os danos numa exposição crônica.

Jiménez-Villarreal et al (2017) pontua que, mediante uma exposição crônica, a fragmentação do DNA foi maior em pessoas expostas ao composto do que o controle, mas não houve diferenças significativas nos tratamentos com diferentes concentrações de As. Ou seja, o acúmulo de danos não foi dose dependente. Foi observado que houve um maior acúmulo de danos do tipo quebras duplas do que quebras simples. Isso pode ser explicado pelas quebras simples prontamente induzirem as quebras duplas e os autores sugerem que é necessário fazer uma caracterização das espécies de As e suas concentrações acumuladas nas células para obter um maior conhecimento da indução de quebras duplas, bem como o seu reparo pode ser modulado.

Para os estudos *in vitro*, apenas em Nail *et al* (2022) o tratamento foi feito com a concentração de 100nM NaAsO₂, a menor dentre as outras pesquisas, e mediante uma exposição crônica de 7 semanas (linhagem HaCat) e 8 semanas (linhagem Ker-CT). Neste trabalho, foi observado que a exposição crônica a uma baixa concentração de iAs culminou num acúmulo de quebras duplas. Este dano foi relacionado com a supressão da fosforilação da proteína ATM (ataxia telengectasia mutated) tornando-a inativa. A proteína ATM é responsável por ativar uma transdução de sinal que irá recrutar proteínas responsáveis por iniciar a via de reparo por recombinação homóloga (HR), uma das vias responsável por reparar quebras duplas. Com isso, há uma nova descoberta de mecanismo molecular induzido pelo iAs associado à clastogênese (alteração na estrutura dos cromossomos), por acúmulo de quebras duplas. Ainda não fica claro como o iAs modula a escolha da célula em

ativar cada via de reparo de quebras duplas, HR ou NHEJ, sendo necessário uma maior investigação desse novo mecanismo.

Em vários estudos realizados com diferentes concentrações de As, foi observado que o acúmulo de quebras duplas foi diretamente proporcional à concentração de As. Okayasu (2003) tratou células da linhagem xrs-5 por 2,5h com 0,2mM, 0,4mM, 0,6mM, 0,8mM e 1mM de arsenito de sódio e observou uma grande formação de quebras duplas, visto que esta linhagem é deficiente em ku80 (proteína da via de reparo NHEJ) e acumula os danos ao não os reparar.

Litwin et al (2013) pontua que o As induz a formação de quebras duplas através de quebras simples não reparadas, e que as quebras duplas são dependentes de replicação e também de forma independente da replicação e transcrição. As concentrações utilizadas nos experimentos foram de 50uM, 100uM, 250uM e 500uM num tratamento de 2h. Como pontuado anteriormente no tópico de oxidações, para leveduras não foram detectados níveis de 8-OHdG significativos, assim o mecanismo de danos no DNA induzidos por As para esse organismo não é impulsionado pela produção de ERs e sim pela produção direta de quebras duplas. Os autores sugerem que isso ocorre devido a uma oxidação *in situ* do DNA pelo composto, gerando quebras simples e logo em seguida quebras duplas.

Okamura et al (2022) ao realizar os tratamentos com 2uM, 5uM e 7,5uM de arsenito de sódio nos tempos de 24h, 72h e 144h, e foi observado que o número de quebras duplas aumentaram conforme o aumento da concentração de As e com tempo de exposição. Diferenças significativas em relação ao controle foram observadas nos tempos de 72h e 144h a partir de 5uM de As e mesmo depois de cessar o tratamento com As, após 72h, ainda havia marcadores de danos por quebras duplas, mostrando que os impactos por esse dano podem ser persistentes, caso a via de reparo também esteja disfuncional. Nessa pesquisa também há evidências de que uma das vias de indução de carcinogênese por As é através da aceleração da senescência celular.

Volk et al (2022) utilizou duas concentrações, 1uM e 5uM, no período de 24h e observa que ambas demonstraram acúmulos de quebras duplas, porém apenas conjuntamente com radiação UV, o As sozinho não promoveu acúmulo de quebras duplas, mas sim de quebras simples. Também foi avaliado que houve supressão da proteína Rad18, importante para o equilíbrio da síntese de translesão (TLS), mecanismo de tolerância à danos no DNA que impede o colapso da forquilha de replicação, portanto desequilibra o mecanismo promovendo um maior acúmulo de quebras simples e duplas.

As quebras duplas são os danos no DNA mais deletérios que podem gerar consequências graves, como o rearranjo de cromossomos (Vitor *et al*, 2020). Em muitos estudos é demonstrado que boa parte do acúmulo está ligado ao impacto do As nas vias de reparo de quebras duplas. Além disso, foi visto que altas concentrações geram um maior acúmulo, porém baixas doses aplicadas de forma crônica também geram acúmulos significativos e com uma maior dificuldade de reversão do dano depois de cessar a exposição.

4.5. Quebras simples

Os resultados encontrados para quebras simples envolveram estudos que também avaliaram outros tipos de danos, como crosslinks, oxidação de bases e quebras duplas (Tabela 2). Assim, os resultados das concentrações e tempos utilizados foram semelhantes aos observados para os outros danos. Kato *et al* (1994), Schaumlöffel e Gebel (1998), Mourón, Golijow e Dulout (2001), Mourón *et al* (2006) e Navasumrit *et al* (2019) observaram uma relação dose dependente do As para quebras simples. Kato *et al* (1994) sugere que a formação destas é devido à indução de ERs pelo DMA, que gera a oxidação de bases, seguido de AB e estes formam as quebras simples. Mourón, Golijow e Dulout (2001) ainda pontuam que a cauda do Cometa na maior dose não mostrou diferença significativa com o controle e isso pode ser explicado pela maior formação de crosslinks mascarando as quebras.

Jiménez-Villarreal *et al* (2017) pontua que há uma maior formação de quebras duplas do que quebras simples. Isso pode estar ligado ao fato das quebras simples induzirem as quebras duplas ou então das quebras simples serem reparadas mais rapidamente. Navasumrit *et al* (2019) observa uma associação entre o acúmulo dos diferentes danos no DNA a impactos no nascimento. Volk *et al* (2022) associa a formação de quebras duplas em baixas concentrações de As apenas com ação conjunta de radiação UV e que o maior acúmulo de danos gerados pela radiação UV foi acelerado pela supressão da proteína Rad18 pelo As.

O restante dos estudos que abordaram apenas sobre quebras simples (tabela 2) foram conduzidos de forma *in vivo*, com a avaliação de uma concentração e por exposição crônica, exceto Yamanaka e Okada (1994) que induziram uma exposição aguda. Palus *et al* (2005) conduz o estudo no maior tempo de exposição, trabalhadores de uma indústria fundidora de cobre foram expostos a vapores e poeira com presença de As durante aproximadamente 18 anos. No estudo as formas químicas não foram caracterizadas e a média da concentração

de exposição foi de 57ug/L. Um alto nível de danos foi observado e quebras simples foram formadas, e após o uso de FPG as quebras aumentaram, indicando que parte dos danos no DNA foram impulsionados por oxidação de bases. Os autores ressaltam que o nível de exposição ao As não tem alta correlação com os danos no DNA, evidenciando que esses danos não são somente advindos do As mas também de possíveis outros contaminantes no ambiente de trabalho. Importante pontuar que após 3h de incubação das células *in vitro* houve uma diminuição dos danos, mas mesmo assim eles permaneceram altos com relação ao controle, evidenciando que as vias de reparo de DNA estavam ativas, porém impactadas.

Jasso-Pineda *et al* (2011) conduziu o estudo com crianças residentes de 3 comunidades diferentes por aproximadamente 6 anos, cada comunidade apresentava um nível de exposição diferente, o que foi corroborado pela concentração de As total na urina das crianças. Na comunidade "A" a média da concentração foi de 44.5ug/g cre, na "B" 16.8ug/g cre e na "C" 12.8ug/g cre. Crianças da comunidade A, que possuíam a maior concentração de As na urina, foram as que apresentaram o maior acúmulo de quebras simples. Após 3h do período de reparo com incubação das células *in vitro*, as crianças da comunidade A ainda apresentavam altos danos no DNA em comparação às comunidades B e C, nas quais os danos diminuíram bastante, evidenciando o impacto do As também nas vias de reparo de DNA.

Flora *et al* (2012) observou danos maciços identificados pelo tamanho da cauda do Cometa. A exposição crônica de 28 semanas com 50mg/L em camundongos mostrou que há uma perda na integridade do DNA pela formação de quebras simples e que o aumento da produção de ERs e do desbalanço enzimático impulsionados pelo arsenito de sódio auxiliaram nas lesões teciduais do fígado e do cérebro. Nesta pesquisa também foi feita uma co-exposição com fluoreto, a formação do complexo Arsênio+fluoreto apresentou menor número de danos no DNA, que pode ser explicado pelo complexo ser pouco absorvido pelas células. Ainda assim, o As apresentou uma toxicidade mais alta do que o fluoreto com um maior número de quebras simples.

O estudo realizado por Yamanaka e Okada (1994) traz informações que complementam estudos anteriores de Yamanaka *et al* (2003), que realiza a reação direta do As com o DNA. Ao utilizar DMA na concentração de 1500mg/kg, na água dos camundongos, por 9h, 12h, 15h e 24h, foi observado que as quebras simples surgiram apenas nos pulmões. O surgimento ocorreu após 12h da exposição e nos tempos de 15h e 24h foi observado reparo dos danos, visto que houve diminuição da cauda do cometa. Os autores pontuam que as quebras não foram causadas por ação direta do composto e sim pela produção do radical

peróxido dimetilarsínico, sugerindo que essa espécie reativa tem papel fundamental no desenvolvimento de câncer de pulmão, visto que além dos danos também foi observada uma aglomeração da heterocromatina.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os 2689 resultados encontrados para os termos de busca utilizados, 30 foram selecionados para a elaboração dessa revisão sistemática. Desses 30, 15 abordavam sobre oxidações de bases, mostrando o quanto as oxidações têm papel importante sobre os danos de DNA induzidos por arsênio.

Até então, os danos no DNA causados por As são impulsionados principalmente pela capacidade do composto de gerar de ERs, seguido por alterações estruturais de grupos químicos de enzimas e proteínas através da substituição do zinco, por exemplo, o que leva a mudanças de conformação e inativação destas. Muitas dessas enzimas e proteínas estão ligadas à manutenção da integridade do DNA, como aquelas atuantes nas vias de reparo, o que leva ao acúmulo dos danos por gerá-los e não os reparar.

Concentrações mais altas de As promovem um maior acúmulo de danos, porém o tempo de exposição ao composto tem papel importante para impulsionar ou retardar o processo. Exposições crônicas além do maior acúmulo de danos, geram impactos mais severos, não só nas células, mas no organismo todo, e podem ser impulsionados em baixas concentrações. Já exposições agudas demonstram maiores danos apenas em concentrações altas e culminam em uma maior chance de reversão dos impactos após o organismo não ser mais exposto ao composto.

A capacidade de metilação e espécies metiladas trivalentes parecem possuir um papel fundamental para a carcinogênese acelerada pelo semi-metal, impulsionando maiores danos ao DNA. Porém uma maior investigação nesse quesito deve ser feita, apenas um estudo evidencia esse fator através de uma reação direta do As com o DNA.

A formação de tumores, também conhecida como tumorigênese, é impulsionada pelo processo chamado mutagênese, no qual ocorre uma mudança genética espontânea ou induzida por substâncias que possuem essa capacidade. Essa instabilidade genética promovida por acúmulo de danos no DNA não reparados, podem levar ao surgimento de câncer (Hoeijmakers, 2001). Como visto em todos os tópicos discutidos, o As é um indutor de todos esses fatores, podendo ser considerado um composto mutagênico.

O As tem sua toxicidade explicada por mecanismos multifatoriais, gerando danos no DNA por diversas vias que podem atuar conjuntamente e diferem pelo no tipo organismo e linhagem celular. Portanto, devem ser feitos novos estudos sobre mecanismos moleculares do As, para averiguar se há um fator chave das interações do composto que impulsionam a sua toxicidade, bem como uma maior investigação sobre seus impactos nas vias de reparo de DNA, mutagênese e indução de doenças, como o câncer.

6. REFERÊNCIAS

AHMAD, S.; KITCHIN, K. T.; CULLEN, W. R. Arsenic Species That Cause Release of Iron from Ferritin and Generation of Activated Oxygen. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 382, n. 2, p. 195–202, 15 out. 2000.

ALDERETE, M S. Análise do risco toxicológico e sua implicação no planejamento territorial: estudo de caso do arsênio e do cádmio no Alto do Rio das Velhas. 2020. 96 f. Monografia (Graduação em Engenharia Geológica) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2020.

AMEN, R. *et al.* A critical review on arsenic removal from water using biochar-based sorbents: The significance of modification and redox reactions. *Chemical Engineering Journal*, v. 396, p. 125195, 15 set. 2020.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 90, n. 17, p. 7915–7922, 1993.

AUGUSTO, O. Radicais livres: bons, maus e naturais. São Paulo: Oficina de textos, 2006.

BASU, A. *et al.* Assessment of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of individuals susceptible to arsenic induced toxicity in West Bengal, India. *Toxicology letters*, v. 159, n. 1, p. 100–112, 15 out. 2005.

BORBA, R. *et al.* Estudo da especiação de arsênio inorgânico e determinação de arsênio total no monitoramento ambiental da qualidade de águas subterrâneas. *Quim. Nova*, 2009.

CARUSILLO, A.; MUSSOLINO, C. DNA Damage: From Threat to Treatment. *Cells*, v. 9, n. 7, 10 jul. 2020.

- CHATTERJEE, N.; WALKER, G. C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and molecular mutagenesis*, v. 58, n. 5, p. 235–263, 1 jun. 2017.
- CHAYAPONG, J. *et al.* Arsenic trioxide induces ROS activity and DNA damage, leading to G0/G1 extension in skin fibroblasts through the ATM-ATR-associated Chk pathway. *Environmental science and pollution research international*, v. 24, n. 6, p. 5316–5325, 1 fev. 2017.
- CHEN, S. *et al.* Arsenic Trioxide Rescues Structural p53 Mutations through a Cryptic Allosteric Site. *Cancer Cell*, v. 39, n. 2, p. 225- 239.e8, 8 fev. 2021.
- CHOU, W. C. *et al.* Maternal arsenic exposure and DNA damage biomarkers, and the associations with birth outcomes in a general population from Taiwan. *PloS one*, v. 9, n. 2, 18 fev. 2014.
- CHUNG, J. Y., YU, S. D., AND HONG, Y. S. Environmental source of arsenic exposure. *J. Prev. Med. Public Heal.* 47, 253–257, 2014.
- COOPER, K. L. *et al.* Contribution of NADPH oxidase to the retention of UVR-induced DNA damage by arsenic. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 434, 1 jan. 2022.
- CORSINI, E. *et al.* Sodium Arsenate Induces Overproduction of Interleukin-1 α in Murine Keratinocytes: Role of Mitochondria. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 113, n. 5, p. 760–765, 1 nov. 1999.
- COSTA, R. M. *et al.* The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochemie*, v. 85, n. 11, p. 1083–1099, 2003.
- CULLEN W. R., REIMER K. J., Arsenic speciation in the environment. *Chem. Rev.* 1989 , 89, 713.
- DING, W. *et al.* As(III) inhibits ultraviolet radiation-induced cyclobutane pyrimidine dimer repair via generation of nitric oxide in human keratinocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 45, n. 8, p. 1065–1072, 15 out. 2008.
- DONG, J. T.; LUO, X. M. Arsenic-induced DNA-strand breaks associated with DNA-protein crosslinks in human fetal lung fibroblasts. *Mutation research*, v. 302, n. 2, p. 97–102, 1993.

DROBNA, Z., STYBLO, M., AND THOMAS, D. J. An Overview of Arsenic Metabolism and Toxicity. *Curr. Protoc. Toxicol*, v. 42, p.1–9, 2009.

ELLINSWORTH, D. C. Arsenic, reactive oxygen, and endothelial dysfunction. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, v. 353, n. 3, p. 458–464, 1 jun. 2015.

FIGUEIREDO, B. R.; BORBA, R. P.; ANGÉLICA, R. S. Arsenic occurrence in Brazil and human exposure. *Environmental Geochemistry and Health*, v. 29, n. 2, p. 109–118, abr. 2007.

FLORA, S. J. S. *et al.* A possible mechanism for combined arsenic and fluoride induced cellular and DNA damage in mice. *Metallomics : integrated biometal science*, v. 4, n. 1, p. 78–90, jan. 2012.

GERSCHMAN, R. *et al.* Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science (New York, N.Y.)*, v. 119, n. 3097, p. 623–626, 1954.

HANAWALT, P. C. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene*, v. 21, n. 58, p. 8949–8956, 2002.

HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of gerontology*, v. 11, n. 3, p. 298–300, 1956.

HINHUMPATCH, P. *et al.* Oxidative DNA damage and repair in children exposed to low levels of arsenic in utero and during early childhood: application of salivary and urinary biomarkers. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 273, n. 3, p. 569–579, 15 dez. 2013.

HOEIJMAKERS J.H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*, v. 411, p. 366–74, 2001.

HORNHARDT, S. *et al.* Comparative investigations of sodium arsenite, arsenic trioxide and cadmium sulphate in combination with gamma-radiation on apoptosis, micronuclei induction and DNA damage in a human lymphoblastoid cell line. *Mutation research*, v. 600, n. 1–2, p. 165–176, 30 ago. 2006.

HU, Y.; LI, J.; LOU, B.; WU, R.; WANG, G.; LU, C.; XU, Y. The role of reactive oxygen species in arsenic toxicity. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, p. 240, 2020.

HUGHES M. F., BECK B. D., CHEN Y., LEWIS A. S., THOMAS D. J. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicol Sci*, v. 123, p. 305332. 2011.

HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol. Lett*, v. 133, p. 1–16. 2002.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). Toxicologia e Câncer. Acesso em: 31/10/2022.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts, Vol.100C, *The International Agency for Research on Cancer*. 2012.

IRGOLIC, K. J. Arsenic: exposure and health; Chappell, W. R.; Ab-ernathy, C. O.; Cothorn, C. R., eds.; *Science and Technology Letters*: Northwood, 1994.

JACKSON, S. P.; BARTEK, J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, v. 461, n. 7267, p. 1071–1078, 22 out. 2009.

JACOB, K. D. *et al.* Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mechanisms of ageing and development*, v. 134, n. 3–4, p. 139–157, mar. 2013.

JASSO-PINEDA, Y. *et al.* DNA damage and decreased DNA repair in peripheral blood mononuclear cells in individuals exposed to arsenic and lead in a mining site. *Biological trace element research*, v. 146, n. 2, p. 141–149, 2012.

JIMÉNEZ-VILLARREAL, J. *et al.* Detection of damage on single- or double-stranded DNA in a population exposed to arsenic in drinking water. *Genetics and molecular research: GMR*, v. 16, n. 2, 18 maio 2017.

KAINA, B. DNA damage-triggered apoptosis: Critical role of DNA repair, double-strand breaks, cell proliferation and signaling. *Biochemical Pharmacology*, v. 66, n. 8, p. 1547–1554, 15 out. 2003.

KATO, K. *et al.* DNA damage induced in cultured human alveolar (L-132) cells by exposure to dimethylarsinic acid. *Environmental health perspectives*, v. 102 Suppl 3, n. Suppl 3, p. 285–288, 1994.

KOJIMA, C. *et al.* Requirement of arsenic biomethylation for oxidative DNA damage. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 101, n. 24, p. 1670–1681, dez. 2009.

KUMAR, A. *et al.* Assessment of arsenic-induced DNA damage in goldfish by a polymerase chain reaction-based technique using random amplified polymorphic DNA markers. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 67, n. 4, p. 630–638, 10 out. 2014.

LAUWERYS R. R., HOET P. *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring*. CRC Press, 2001.

LITWIN, I. *et al.* Oxidative stress and replication-independent DNA breakage induced by arsenic in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS genetics*, v. 9, n. 7, jul. 2013.

LIU, S. X. *et al.* Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, n. 4, p. 1643–1648, 13 fev. 2001.

MARTIN, E. M.; FRY, R. C. Environmental Influences on the Epigenome: Exposure-Associated DNA Methylation in Human Populations. *Annual reviews* v. 39, p. 309–333, 2 abr. 2018.

MOLIN, M. *et al.* Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology--Review focusing on seafood arsenic. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, v. 31, p. 249–259, 1 jul. 2015.

MOURÓN, S. A. *et al.* Induction of DNA strand breaks, DNA-protein crosslinks and sister chromatid exchanges by arsenite in a human lung cell line. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, v. 20, n. 3, p. 279–285, abr. 2006.

MOURÓN, S. A.; GOLIJOW, C. D.; DULOUT, F. N. DNA damage by cadmium and arsenic salts assessed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 498, n. 1–2, p. 47–55, 15 nov. 2001.

NAIL, A. N. *et al.* Chronic arsenic exposure suppresses ATM pathway activation in human keratinocytes. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 446, 1 jul. 2022.

NAVASUMRIT, P. *et al.* Exposure to arsenic in utero is associated with various types of DNA damage and micronuclei in newborns: a birth cohort study. *Environmental health : a global access science source*, v. 18, n. 1, 7 jun. 2019.

NOLLEN, M. *et al.* Impact of arsenic on nucleotide excision repair: XPC function, protein level, and gene expression. *Molecular nutrition & food research*, v. 53, n. 5, p. 572–582, maio 2009.

NURCHI *et al.* Arsenic toxicity: Molecular Targets and Therapeutic Agents. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, p.235. 4 fevereiro 2020.

OKAMURA, K. *et al.* Inorganic arsenic exposure-induced premature senescence and senescence-associated secretory phenotype (SASP) in human hepatic stellate cells. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 454, p. 116231, 9 set. 2022.

OKAYASU, R. *et al.* Induction of DNA double strand breaks by arsenite: Comparative studies with DNA breaks induced by X-rays. *DNA Repair*, v. 2, n. 3, p. 309–314, 1 mar. 2003.

PALUS, J. *et al.* DNA damage in leukocytes of workers occupationally exposed to arsenic in copper smelters. *Environmental and molecular mutagenesis*, v. 46, n. 2, p. 81–87, ago. 2005.

PIAO, F. *et al.* Oxidative DNA damage in relation to neurotoxicity in the brain of mice exposed to arsenic at environmentally relevant levels. *Journal of occupational health*, v. 47, n. 5, p. 445–449, set. 2005.

QIN, X. J. *et al.* Dual actions involved in arsenite-induced oxidative DNA damage. *Chemical research in toxicology*, v. 21, n. 9, p. 1806–1813, set. 2008.

QU, W.; WAALKES, M. P. Metallothionein blocks oxidative DNA damage induced by acute inorganic arsenic exposure. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 282, n. 3, p. 267–274, 1 fev. 2015.

RAHMAN I., KODE A., BISWAS S. K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat Protoc.* 2007; 1: 3159–3165.

RAMÍREZ, P. *et al.* Arsenite induces DNA-protein crosslinks and cytokeratin expression in the WRL-68 human hepatic cell line. *Carcinogenesis*, v. 21, n. 4, p. 701–706, 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10753206/>>. Acesso em: 10 out. 2022.

RAMOS, R. R., CARRILLO, L. L., PEREZ, A. D. R., RUÍZ, A. D., CEBRIAN, M. E. Sodium arsenite induces ROS generation, DNA oxidative damage, HO-1 and c-Myc proteins, NF- κ B activation and cell proliferation in human breast cancer MCF-7 cells. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* v. 674, n. 109–115. 2009.

RATNAIKE, R. N. *Acute and chronic arsenic toxicity.* *Postgraduate Medical Journal.* 1 jul. 2003.

RAVENS-CROFT P. Predicting the global distribution of arsenic pollution in groundwater. *Royal Geographical Society annual international conference.* 2007.

RAZA, M. *et al.* Redox balance and DNA fragmentation in arsenic-exposed occupational workers from different industries of Pakistan. *Environmental science and pollution research international*, v. 25, n. 33, p. 33381–33390, 1 nov. 2018.

REHMAN, K. *et al.* Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 119, n. 1, p. 157–184, 1 jan. 2018.

RIOS, M. *et al.* Oxidative damage in lymphocytes of copper smelter workers correlated to higher levels of excreted arsenic. *Mediators of Inflammation*, v. 2010, 2010.

RUIZ-RAMOS, R. *et al.* Sodium arsenite induces ROS generation, DNA oxidative damage, HO-1 and c-Myc proteins, NF- κ B activation and cell proliferation in human breast cancer MCF-7 cells. *Mutation research*, v. 674, n. 1–2, p. 109–115, 31 mar. 2009.

SCHARER, O. D. Nucleotide Excision Repair in Eukaryotes. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* 5, No. a012609, 2013.

SCHAUMLÖFFEL, N.; GEBEL, T. Heterogeneity of the DNA damage provoked by antimony and arsenic. *Mutagenesis*, v. 13, n. 3, p. 281–286, maio 1998.

SHEN, G. *et al.* Attenuation of DNA damage-induced p53 expression by arsenic: a possible mechanism for arsenic co-carcinogenesis. *Molecular carcinogenesis*, v. 47, n. 7, p. 508–518, jul. 2008.

SINGH, K. P. *et al.* Chronic exposure to arsenic causes increased cell survival, DNA damage, and increased expression of mitochondrial transcription factor A (mtTFA) in human prostate epithelial cells. *Chemical Research in Toxicology*, v. 24, n. 3, p. 340–349, 21 mar. 2011.

SMITH, A. H. *et al.* Cancer risks from arsenic in drinking water. *Environmental health perspectives*, v. 97, p. 259–267, 1992.

SUGASAWA K., NG J.M., MASUTANI C., IWAI S., VAN DER SPEK P.J., EKER A.P., HANAOKA F., BOOTSMA D., HOEIJMAKERS J.H. Xeroderma pigmentosum group C protein complex is the initiator of global genome nucleotide excision repair, *Mol. Cell* 2. 1998. 223–232.

TAM, L. M.; PRICE, N. E.; WANG, Y. Molecular Mechanisms of Arsenic-Induced Disruption of DNA Repair. *Chemical Research in Toxicology*. American Chemical Society, 16 mar. 2020

TSAI, T. L. *et al.* Association between arsenic exposure, DNA damage, and urological cancers incidence: A long-term follow-up study of residents in an arseniasis endemic area of northeastern Taiwan. *Chemosphere*, v. 266, 1 mar. 2021.

USEPA. National Primary Drinking Water Regulations, Arsenic and Clarifications to Compliance and New Source Contaminants Monitoring; Proposed Rule. *Federal Register*, v. 65, n. 121, June 22, 2000, p.38888-38983.

VAHTER M. Effects of arsenic on maternal and fetal health. *Annual Reviews Nutr* v.29, n.381-399. 2009.

VICTOR, V. M. *et al.* Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Current pharmaceutical design*, v. 15, n. 26, p. 2988–3002, 2009.

VÍTOR, A. C. *et al.* Studying DNA Double-Strand Break Repair: An Ever-Growing Toolbox. *Frontiers in molecular biosciences*, v. 7, 21 fev. 2020.

VOLK, L. B. *et al.* Impacts of arsenic on Rad18 and translesion synthesis. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 454, 1 nov. 2022.

WU M. M., CHIOU H. Y., WANG T. W., HSUEH Y. M., WANG I. H., CHEN C. J., *et al.* Association of blood arsenic levels with increased reactive oxidants and decreased

antioxidant capacity in a human population of northeastern Taiwan. *Environ Health Perspect* v.109, n.1011-1017. 2001.

YADAV, M. K. *et al.* Status and management of arsenic pollution in groundwater: A comprehensive appraisal of recent global scenario, human health impacts, sustainable field-scale treatment technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, n. 3, p. 105203, 1 jun. 2021.

YAMANAKA, K.; OKADA, S. Induction of lung-specific DNA damage by metabolically methylated arsenics via the production of free radicals. *Environmental health perspectives*, v. 102 Suppl 3, n. Suppl 3, p. 37–40, 1994.

YAMANAKA, KENZO *et al.* Oxidative DNA damage following exposure to dimethylarsinous iodide: The formation of cis-thymine glycol. *Toxicology Letters*, v. 143, n. 2, p. 145–153, 20 jul. 2003.

YAMAUCHI, H. *et al.* Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: Urinary 8-hydroxydeoxyguanine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 198, n. 3, p. 291–296, 1 ago. 2004.

ZHOU, X. *et al.* Arsenic co-carcinogenesis: Inhibition of DNA repair and interaction with zinc finger proteins. *Seminars in cancer biology*, v. 76, p. 86–98, 1 nov. 2021.

ZHOU, X. *et al.* Arsenite interacts selectively with zinc finger proteins containing C3H1 or C4 motifs. *The Journal of biological chemistry*, v. 286, n. 26, p. 22855–22863, 1 jul. 2011.