UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

AIRTON DA CUNHA MARTINS JUNIOR

Arsênio em arroz: bioacessibilidade *in vitro* e alterações de parâmetros redox em camundongos Swiss expostos pela dieta

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior

Coorientador: Dr. Bruno Lemos Batista

RESUMO

MARTINS JÚNIOR, A. C. **Arsênio em arroz: bioacessibilidade *in vitro* e alterações de parâmetros redox em camundongos Swiss expostos pela dieta.** 2017. 103f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

O arsênio (As) é um semimetal, amplamente distribuído em toda a crosta terrestre, podendo ser encontrado em formas inorgânicas: arsenato (As^{5+}) e arsenito (As^{3+}) e orgânicas como a arsenobetaina (AsB), dimetil-arsênio (DMA) monometil-arsênio (MMA). As formas inorgânicas de As são mais tóxicas que as orgânicas. Patologias como hipertensão, diabetes e vários tipos de câncer estão associados com a exposição ao As inorgânico. Dentre as muitas fontes de exposição a este elemento químico, o arroz (*Oryza sativa* L.), tem sido destacado como uma das maiores fontes de exposição em populações não expostas diretamente ao As presente na água. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacessibilidade *in vitro* do As presente no arroz e avaliar em camundongos Swiss o acúmulo do semimetal nos tecidos bem como, possíveis alterações nos parâmetros redox em fígado e músculo decorrente do consumo de arroz contendo As. Para isto, na primeira etapa do estudo, o cultivar de arroz BR IRGA 409 foi plantado e dividido em 2 grupos onde o primeiro foi chamado de As (-) (sem adição de As no solo) e outro plantado em solo contaminado com As na concentração de 10 mg/Kg, chamado de As (+). Após a colheita, foi verificado que o arroz do grupo As (+) apresentava uma maior concentração de As total no grão. Foram realizados testes de bioacessibilidade que demonstraram uma alta bioacessibilidade do As presente no arroz, principalmente das formas inorgânicas. Foram preparadas duas rações com o arroz plantado para administrar em 2 grupos de camundongos Swiss. Após o tratamento crônico por 100 dias, os animais foram eutanasiados e coletados órgãos para avaliar o acúmulo do metaloide. Os tecidos que apresentaram um maior acúmulo de As foram bexiga, pelo, rim, baço, testículo, pele e fígado. Além disso, foram realizadas biópsias de músculo e tecido permeabilizados e determinação de parâmetros redox. Não foram observados diferenças estatísticas nas respirações do músculo e fígado. No entanto, observou-se, um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio no fígado no grupo As (+), na presença de piruvato. Também foi demonstrado que nos animais expostos a uma maior concentração de As através da dieta ocorreu alterações na atividade enzimática e aumento da peroxidação lipídica. Finalmente, os resultados deste estudo demonstraram que o As inorgânico acumulado nos grãos de arroz se apresentam bioacessíveis e após a exposição pela dieta se distribuem por vários tecidos, levando a alterações em parâmetros redox no fígado.

Palavras-chave: Arroz (*Oryza sativa* L.), Arsênio, Parâmetros redox

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Arsênio: aspectos gerais

A palavra arsênio deriva da palavra persa “Zarnikh”, traduzida para o grego como “arsenikon”. O arsênio (As) era conhecido no passado como o “veneno” dos reis e o rei dos “venenos” (KLAASSEN, 2008). No início do século XVII na Itália, a *Acqua Toffana* era um cosmético que continha As, utilizado por mulheres com a finalidade de assassinar seus maridos. No século XIX, na Europa, fazia parte do cotidiano, sendo empregado para uma ampla gama de propósitos, desde pigmentos de papel de parede a medicamentos, comumente vendidos em lojas farmacêuticas até assassinatos, devido à dificuldade de identificação do elemento químico no corpo das vítimas (BERTOMEU-SANCHEZ, 2016).

No passado os compostos de As, especialmente o trióxido de arsênio (As_2O_3), eram utilizados nos tratamentos de doenças como sífilis e tripanossomíase e, atualmente, ainda pode ser encontrado em medicamentos utilizados no tratamento contra leucemia promielocítica (SOIGNET et al., 2001).

O As é um semimetal (metaloide), cristalino, acinzentado, número atômico 33, massa atômica 75 uma, encontrado em diferentes estados de oxidação (-3, 0, +3 e +5) dependendo da condição físico-química predominante do meio ambiente. (HUGHES, 2002). É o vigésimo elemento mais abundante na crosta terrestre, onde ocorre naturalmente no solo e em rochas podendo ser transportado através da poeira pelo vento e entrar nos corpos d'água pelo escoamento superficial e lixiviação, sendo encontrado em vários compartimentos ambientais como: na atmosfera, água, solo, sedimentos e organismos (JOSEPH, DUBEY, McBEAN, 2015). A permanência e liberação do As para o ambiente pode ocorrer por meio de fontes naturais como atividades vulcânicas quanto por fontes antropogênicas como

queima de carvão, utilização em lavouras de praguicidas contendo As e água contaminada (ATSDR, 2013; JOSEPH, DUBEY, McBEAN, 2015).

O As pode ser encontrado no meio ambiente em formas inorgânicas: arsenato (As^{5+}) e arsenito (As^{3+}) e orgânicas como arsenobetaina (AsB), dimetil-arsênio (DMA), monometil-arsênio (MMA), entre outras (BASU et al., 2001). A tabela 1 apresenta as formas de As encontradas na natureza e suas respectivas fórmulas estruturais. Há considerável diferença na toxicidade do semimetal conforme sua forma química (RATNAIKE, 2003). De acordo com Borba et al. (2009), a ordem crescente de toxicidade dos compostos de As é: compostos orgânicos de As^{5+} < compostos orgânicos de As^{3+} < compostos inorgânicos de As^{5+} < compostos inorgânicos de As^{3+} .

As formas inorgânicas mais tóxicas de As são as formas predominantes encontradas em reservatórios superficiais e águas subterrâneas, uma vez que pode ser facilmente solubilizado, em função do pH, estado de oxidação e temperatura, fatores adicionais que favorecem a solubilização do As é a presença de silicato, bicarbonato e de matéria orgânica nas águas de poços artesianos (ERCAL; GURER-ORHAN; AYKIN-BURNS; 2001, NORDSTROM, 2002). De fato, muitas águas geotermiais contêm altas concentrações de As, maiores do que o padrão de água potável de 10 $\mu\text{g/L}$ devido a composição geológica das rochas presentes nestes locais. (NORDSTROM, 2002; ATSDR, 2013). Portanto, a água se caracteriza como uma importante fonte de exposição ao As, especialmente na Índia, Bangladesh, China, e alguns países da América do sul e Central onde a concentração no solo aumenta sua presença na água (BRINKEL, KHAN, KRAEMER, 2009), frequentemente utilizada para consumo e irrigação (WILLIAMS et al., 2006).

Na intoxicação aguda por As, observa-se um quadro clínico gastroenterítico grave com início após 30 minutos de exposição, que incluem náuseas, vômitos, dor abdominal intensa, diarreia (frequentemente sangrenta), salivação excessiva, etc. (ATSDR, 2013, MAZUMDER, 2008; RATNAIKE, 2003). A exposição crônica é observada ocupacionalmente e em pacientes tratados com compostos contendo As, além de populações expostas através da água contaminada (WHO, 2001; ATSDR, 2013). Esta exposição tem sido associada com possíveis efeitos à saúde, tais como hipertensão, doença cardiovascular, doença pulmonar, disfunções reprodutivas, neurológicas, alterações hematológicas e câncer (WAALKES et al., 2004; GOPALKRISHNAN, RAO, 2006; SANTRA et al., 2007). Os efeitos à saúde humana na toxicidade crônica são conhecidos como arsenicose, caracterizada pela hiperpigmentação da pele e queratose (MAZUMDER, 2008).

Tabela 1 - Espécies químicas de arsênio, suas respectivas abreviaturas e fórmulas estruturais. Adaptado de Barra et al. (2000) e Souza et al. (2015).

Composto	Fórmula Estrutural
Arsina	AsH_3
Ácido Arsenioso (arsenito - As^{3+})	
Ácido Arsênico (arsenato - As^{5+})	
Ácido Dimetilarsínico (DMA $^{5+}$)	
Ácido Monometilarsônico (MMA $^{5+}$)	
Arsenobetaína (AsB)	
Arsenocolina (AsC)	
Arsenoaçúcares	
Arsenolipídeos (AsLip)	

1.2 Toxicocinética do As

No homem, o As pode ser absorvido por via oral, inalação e contato dérmico (Ratnaik, 2003, ATSDR, 2013). Os compostos de As são facilmente absorvidos, tanto por via oral quanto pela inalação, onde a extensão da absorção depende da solubilidade de cada composto (WATANABE, HIRANO 2013). A absorção do As inorgânico (As-i), através do pulmão é estimada em 30-60%, e cerca de 95% do As trivalente ingerido é absorvido a partir do trato gastrointestinal. Alguns estudos mostram que a absorção de MMA e DMA via trato gastrointestinal corresponde a cerca de 75 a 85%, (SIROT et al. 2009, SUZUKI et al. 2013, WATANABE, HIRANO. 2013). Uma vez na corrente sanguínea, 95 a 99% do As é distribuído aos eritrócitos, ligado principalmente à hemoglobina e em menor escala aos leucócitos e às proteínas do plasma (ATSDR, 2013). Decorridas cerca de 24 horas neste compartimento, o As é distribuído para a maioria dos tecidos (JOLLIFFE,1991; SCHOOLMEESTER, WHITE,1980; ATSDR, 2013). Compostos inorgânicos solúveis são distribuídos rapidamente para órgãos ou tecidos ricos em grupamentos sulfidríla como fígado, rins, baço e glândulas adrenais (QUATREHOMME et al., 1992). Em razão da grande afinidade por ligação aos grupos sulfidríla, compostos de As podem ser detectados em altas concentrações no cabelo, unhas e pele de 2 a 4 semanas da exposição. Após 4 semanas, o As acumula-se nos ossos, coincidindo com a diminuição das concentrações no fígado e rins (JOLLIFFE,1991 ; SCHOOLMEESTER, WHITE,1980).

A biotransformação e a toxicidade dos compostos inorgânicos e orgânicos de As diferem-se substancialmente (NEMETI, GREGUS; 2002; ATSDR, 2013). As formas inorgânicas sofrem metilação formando o ácido monometil-arsônico (MMA) e

o ácido dimetil-arsínico (DMA). Este processo começa quando o As^{5+} (arsenato) é rapidamente reduzido pela enzima arsenato redutase a As^{3+} (arsenito) (APOSCHIAN e APOSCHIAN, 2006) que é 60 vezes mais tóxico que o As^{5+} . O As^{3+} sofre então uma metilação oxidativa, com S-adenosilmetionina (SAM) como doador do grupamento metil, formando o ácido mono-metil-arsonato (MMA^{5+}). Este composto é reduzido ao ácido monometil-arsônico (MMA^{3+}) antes de um subsequente passo de metilação oxidativa produzindo o ácido dimetil arsínico (DMA^{5+}) e sequencialmente, ao ácido dimetil-arsinoso (DMA^{3+}) por metil-transferases (KLAASSEN, 2008 WATANABE, HIRANO 2013). Portanto, os compostos inorgânicos (arsenito e arsenato) são metabolizados a MMA e DMA, por meio de dois processos: reações de óxido/redução e reações de metilação (ROSSMAN, 2003; NEMETI, GREGUS; 2002). A Figura 1 demonstra os processos descritos anteriormente. Os metabólitos metilados são menos reativos com os componentes do tecido, menos tóxicos e mais facilmente excretados na urina que o As inorgânico (VAHTER, CONCHA e NERMELL, 2000).

O As inorgânico é excretado 45-85% na urina dentro de 1-3 dias e muito pouco eliminado pelas fezes (APOSTOLI et al 1999;. BUCHET et al, 1981; ATSDR, 2013). Já a eliminação das formas orgânicas MMA e DMA ocorre principalmente através da urina (75-85%), no prazo de 1 dia (BUCHET et al, 1981, MARAFANTE et al, 1987; ATSDR,2013).

Figura 1: Metabolismo do arsênio no ser humano

Legenda: GSH: glutatona reduzida; AS3MT: arsênio metiltransferase (Cyt 19); SAM: S-adenosil metionina; SAH: S-adenosil homocisteína; GSTO1: glutatona S-transferase omega-1; MMA⁵⁺: ácido mono-metil arsônico; MMA³⁺: ácido mono-metil arsonoso; DMA⁵⁺: ácido di-metil arsínico; DMA³⁺: ácido di-metil arsinoso; TMAO: óxido de tri-metil arsênio (Adaptado de KLAASSEN, 2008)

Entretanto, fatores relacionados ao indivíduo podem alterar o metabolismo do As, ocorrendo grandes variações na metilação devido à idade, sexo, etnia, dose de exposição, gravidez, estado nutricional e polimorfismos genéticos do indivíduo (VAHTER 2000; VAHTER, CONCHA e NERMELL, 2000). Apesar de vários grupos étnicos parecerem semelhantes quanto à distribuição relativa média do As e seus metabólitos na urina, há certas exceções, como os indígenas do norte da Argentina, que excretam uma baixa percentagem de MMA, e indivíduos de Taiwan, que excretam em média 27% (VAHTER et al., 1995; CHIOU et al., 1997; CONCHA, NERMELL e VAHTER, 1998). Nota-se também que os homens são mais susceptíveis que as mulheres aos efeitos na pele relacionados ao As, devido à menor capacidade de metilação pelos homens (GUHA MAZUMDER et al., 1998; KADONO et al., 2002; CHEN et al., 2005; VAHTER et al., 2007). Durante a gestação há um aumento na excreção urinária de DMA e uma diminuição de espécies

inorgânicas e MMA, que pode afetar o desenvolvimento fetal (HOPENHAYN et al., 2003). Já está bem estabelecido que uma diminuída capacidade de metilação do arsênio está relacionada ao aumento de arsênio nos tecidos em geral o que, provavelmente, corresponde ao aumento de toxicidade deste elemento (MARAFANTE e VAHTER, 1984; MARAFANTE, VAHTER e ENVALL, 1985; CONCHA, NERMELL e VAHTER, 1998).

1.3 Toxicodinâmica do As

O modo de ação do As é bastante complexo e para compreendê-lo, determinantes multifatoriais precisam ser abordadas (FLORA, 2011). Estes determinantes variam de acordo com propriedades físico-químicas, tais como o estado de valência (trivalente/pentavalente), o grau de metilação, atração e repulsão eletrostática de sítios ativos em macromoléculas importantes (lipídios, proteínas, DNA), e fatores relacionados à toxicocinética (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) (ERCAL; GURER-ORHAN; AYKIN-BURNS, 2001; FLORA, 2011).

Vários estudos epidemiológicos relacionam a intoxicação por As com incidência de câncer (CHEN et al., 1992; KITCHIN, 2001), doenças cardiovasculares (WANG, et al., 2007; RAHMAN et al., 1999) e diabetes (RAHMAN et al., 1998; TSENG et al., 2000). Embora o mecanismo pelo qual o As induz essas doenças não esteja completamente elucidado, estudos sugerem que o estresse oxidativo induzido pelo semimetal seja um dos principais contribuintes (KITCHIN, 2001; FLORA, 2011).

O estresse oxidativo pode ser conceituado como um desequilíbrio entre a geração e eliminação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogenadas (ERN) resultando na alteração do estado redox celular (WANG & MICHAELIS, 2010).

Portanto, quando ocorre um aumento na formação de ERO e ERN e baixa eliminação pelo sistema antioxidante, a sobrecarga de ERO causa danos às células pela oxidação de biomoléculas celulares, incluindo ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos (LOBO et al., 2010).

Neste sentido, o As pode induzir estresse oxidativo pela formação e acúmulo de radicais livres em células (HALLIWELL, WHITEMAN, 2004; FLORA, 2011). As principais espécies reativas formadas por As incluem ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila ($\cdot OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete (1O_2) e radicais peroxil (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Yamanaka e colaboradores (1989; 1990) foram os primeiros a demonstrar que o As induzia a formação de radicais livres e que estes levavam a dano no DNA. Sabe-se ainda que o As afeta intensamente as enzimas que metabolizam as ERO, as chamadas enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione redutase (GR) (FLORA, 2011). Geralmente, a exposição de curto prazo e a baixas concentrações do elemento químico resultam em um aumento na atividade destas enzimas, enquanto que a exposição crônica normalmente resulta na sua redução (FLORA, 2011). Além disso, o As também é conhecido por regular a atividade de tioredoxina redutase, heme oxigenase-redutase, e da NADPH-oxidase *in vitro* (SHI, 2004; KITCHIN; CONOLLY, 2010).

Recentemente, Xu et al. (2017) em uma meta-análise, em que foram incluídos 58 estudos, observou que a exposição ao As geralmente suprimia os níveis de atividade de antioxidantes como GSH, CAT, GPx, SOD, GR e glutathione S-transferase (GST)). No entanto, também se observou que a exposição está associada ao aumento nos níveis de oxidantes como a glutathione oxidada (GSSG)

malondialdeído (MDA) e de EROs, detectando assim uma relação positiva entre a exposição ao As e dano oxidativo causado em ratos ou camundongos

1.3.1 As e mitocôndria

A mitocôndria desempenha um papel central no metabolismo energético, responsável pela grande maioria da síntese de adenosina trifosfato (ATP) conduzida pelo catabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos. Sendo assim, esta organela é responsável por uma grande quantidade de reações de oxidação-redução, cujo resultado final dessas reações é a formação de energia química, o ATP (TAHARA et al. 2009).

A cadeia de transporte de elétrons mitocondrial é a principal fonte de geração de ATP na célula de mamíferos. Durante a passagem de elétrons pela cadeia transportadora de elétrons, um pequeno fluxo de elétrons escapa e reage prematuramente com o oxigênio, formando superóxido, que contribui para o desenvolvimento do estresse oxidativo (VALKO et al., 2004). Os complexos I e III da mitocôndria, são as principais fontes de geração de superóxido liberando-o na matriz e no espaço extramitocondrial (MULLER, LIU, VAN REMMEN, 2004). O estresse oxidativo gerado pelas ERO provoca uma desorganização mitocondrial (SANTRA et al., 2007) desencadeando uma cascata de eventos como a liberação do citocromo c, a ativação de proteínas e fatores pró apoptose (MISHRA, MEHTA, FLORA, 2008).

Os compostos que interagem com as membranas mitocondriais perturbando a eficiência de acoplamento entre a oxidação e fosforilação promovem grandes déficits de bioenergética que levam à perda de várias funções vitais para a sobrevivência da organela (FISKUM et al., 1999; MATTIASON et al., 2003). Neste sentido, elementos

químicos tóxicos têm sido reportados como causadores de danos na mitocôndria. (BLAJSZCZAK, BONINI 2017; HOSSEINI et al. 2013; JOMOVA et al. 2010). De fato, as mitocôndrias são os principais alvos de intoxicação pelo As, seja indiretamente, através do acúmulo de radicais livres ou diretamente através de condensação da matriz mitocondrial e a abertura de poros de transição de permeabilidade em virtude de sua propriedade oxidante tiol, levando a uma diminuição do potencial de membrana mitocondrial (PULIDO, PARRISH, 2003). Isso ocorre devido à membrana mitocondrial conter lipídeos não saturados que são susceptíveis ao ataque do As em comparação com outras organelas. Além disso, enzimas mitocondriais que contêm grupamento tiol são alvos de espécies de As. E ainda, o dano direto em proteínas mitocondriais pode diminuir a afinidade por substratos ou coenzimas e, assim, interromper as funções da mitocôndria (LIU et al., 2002).

Portanto, a disfunção mitocondrial é provocada pelo aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial e perda de potencial de membrana (KOYA et al., 2000), uma vez que o As provoca o declínio rápido do potencial de membrana mitocondrial induzindo alterações morfológicas na integridade mitocondrial. Alterações mitocondriais podem ser consideradas sítios primários na formação descontrolada de ânion superóxido. O colapso do complexo de poros de transição de permeabilidade pode induzir a perda irreversível do potencial da membrana, que precede manifestações de apoptose e ativação de caspases (JOMOVA et al. 2010, GREEN, REED, 1998; KROENER, 1999).

Ainda, estudos sugerem que o As pode causar disfunção mitocondrial pelo aumento da captura de Ca^{2+} pela mitocôndria, uma vez, que o Ca^{2+} livre intracelular atua como um mensageiro para regular o crescimento, a diferenciação e a morte celular (ORRENIUS et al., 2003). Este aumento no Ca^{2+} intracelular pode estar

envolvido na ativação das vias que conduzem a uma perda de integridade da membrana, alteração na composição lipídica, anormalidades do citoesqueleto e geração de radicais livres (GIBSON et al. 2012).

Portanto, as alterações que o As induz nas enzimas antioxidantes, bem como na função mitocondrial com a geração de ERO, levam ao estresse oxidativo, podendo resultar em peroxidação lipídica (VIZCAYA-RUIZ et al., 2009), danos em proteínas (MAHATA et.al, 2008) e danos ao DNA (TOKAR et al., 2010). O mecanismo pelo qual o As induz estresse oxidativo e disfunção mitocondrial está demonstrado na Figura 2.

Figura 2: Mecanismos pelo qual o As induz disfunção mitocondrial e estresse oxidativo

Legenda: Adaptado de Park et al. 2016.

1.4 Fontes de exposição ao As

1.4.1 As na água

Como descrito anteriormente, uma das principais fontes de exposição ao As é através da água contaminada pelo semimetal. Esta contaminação é um grave problema de saúde pública principalmente no oeste da Índia e em Bangladesh (delta de Bengala ou delta do Ganges) (EDMUNDS et al., 2015; BHOWMICK et al., 2018; JOSEPH, DUBEY, McBEAN, 2015). Para diminuir os problemas relacionados à água contaminada com microrganismos que causavam doenças como a cólera e verminoses, levando à alta incidência de disenteria na região, os governos locais juntamente com a Organização Mundial da Saúde (OMS), decidiram realizar a perfuração de poços artesianos. Porém, sem o conhecimento prévio da composição do solo, mais especificamente relacionado a presença de elementos tóxicos, como o As. A água subterrânea (poços artesanais) foi usada pela população para beber como uma fonte de água potável e também para outros propósitos domésticos (BHOWMICK et al., 2018).

Infelizmente, a alta concentração de As na água levou a um surto maciço de problemas de saúde em decorrência do consumo de água contaminada. A primeira incidência de contaminação por As nas águas subterrâneas foi relatado em 1984 (GARAI et al., 1984) e o primeiro diagnóstico de intoxicação por As foi realizado no Departamento de Dermatologia da Escola de Medicina Tropical de Calcutá no início da década de 1980, onde a toxicidade crônica do As foi detectada a partir de 1068 pacientes que estavam usando regularmente água subterrânea de poços que possuíam concentrações do elemento tóxico acima de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (SAHA, PODDAR, 1986).

Desde então, vários estudos realizados em Bangladesh demonstraram um aumento do risco para a saúde após a ingestão de alta concentração de As nas águas subterrâneas e sua relação com aumento de câncer e doenças como hipertensão, diabetes, doença vascular periférica e outras (BHOWMICK et al., 2013, 2014; GUHA MAZUMDER et al., 1998, 2000; HAQUE et al., 2003; MANDAL et al., 2007).

Atualmente, a OMS preconiza valores máximos de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de As em água. Particularmente em Bangladesh, devido à alta concentração deste elemento no solo, a concentração preconizada é de $50 \mu\text{g/L}$ (WHO, 2004). A quantidade do elemento tóxico ingerido pela água depende de dois fatores que são altamente variáveis: a concentração de As em água e a quantidade de água ingerida diariamente (BHOWMICK et al. 2018). Sendo assim, além da concentração do semimetal presente na água, o volume de água ingerido também contribui para a intoxicação por As. Segundo a OMS um valor de 2 L por dia para um adulto de 60 kg é utilizado para estimar o consumo de um determinado contaminante e avaliar a qualidade da água (OMS, 2011). No entanto Hossain e colaboradores (2013) observaram uma média de ingestão de água diária de 6,1 L para homens adultos e 4,84 L para mulheres adultas em Bangladesh, demonstrando que o valor utilizado pela OMS possa estar subestimado.

No Brasil, mais especificamente na Serra do Navio (Amapá), houve a contaminação da água por As devido à atividade mineradora. Os valores encontrados na água potável, excetuando-se os valores nos pontos de rejeição da mineradora, foram em torno de $8,43 \mu\text{g/L}$, ficando abaixo do valor máximo determinado na legislação brasileira que é de $10 \mu\text{g/L}$ (SANTOS et al. 2003). Porém esta avaliação sem a determinação das espécies químicas do metalóide que

estavam presentes na água pode estar subestimada, pois, como mencionado anteriormente, existem diferenças nas toxicidades destas formas químicas (BORBA et al., 2009).

1.4.2 As e alimentos

O consumo de alimentos contaminados com o semimetal representa outra importante fonte de exposição (MEHARG et al., 2013; BATISTA et al., 2012). Esta contaminação pode decorrer, por exemplo, da utilização de praguicidas em lavouras. No Brasil o herbicida monossódiometil-arsonato, que possui As como um dos principais constituintes de sua formulação, é utilizado em lavouras de café e cana-de-açúcar (BRASIL, 2004).

A utilização de medicamentos veterinários e aditivos em rações de compostos contendo As, entre eles o Roxarsone[®] (ácido arsanílico), para promover o crescimento e prevenção de doenças como disenteria em porcos, eram permitidos nos Estados Unidos pelo “Food and Drug Administration” (FDA) como aditivos de ração para suínos e aves com dosagens de 25 a 200 mg kg⁻¹ SILBERGELD, NACHMAN, 2008). No entanto foram proibidos após estudos mostrarem a presença e aumento de As inorgânico em fígado de galinhas tratadas com o medicamento em relação a galinhas não tratadas (controle), sugerindo que o medicamento poderia contaminar a carne para o consumo humano (PENG et al. 2017).

Uma importante fonte de As na dieta é a de alimentos de origem marinha como peixes, crustáceos e outros que contêm, em geral, altas concentrações de As orgânico (arsenobetaina, arsenoaçúcares e arsenolípidos) (NAVAS-ACIEN et al., 2011). As algas marinhas absorvem arseniatos, forma predominante de As na água

de mar, similar ao fosfato, e o transformam em diferentes ribosídeos contendo As. Assim, provavelmente, os organismos marinhos adquirem As inorgânico através da cadeia alimentar e o transformam em AsB, via metilação do MMA e DMA (PETROPULU, VARSAMIS e PARISSAKIS, 1997). Por outro lado, estudos que avaliaram a urina de indivíduos que consumiram frutos do mar não detectaram a presença de As inorgânico, sugerindo que a arsenobetaina e arsenocolina, encontradas em alimentos de origem marinha não são biotransformadas, sendo excretadas inalteradas na urina. (NAVAS-ACIEN et al., 2011).

1.4.2.1 As e arroz

Atualmente, a exposição ao As através do consumo de arroz vem sendo amplamente estudado, tendo em vista a importância desse alimento para a população, tanto do Brasil como de vários países na América do Sul e Central, Ásia e África (CASCIO et. al, 2011; BATISTA et al., 2011, SEGURA et al. 2016; ADEYEMI et al. 2017; SOUZA et al. 2014; MEHARG et al., 2013). O arroz é o terceiro cereal mais consumido no mundo apenas atrás do milho e do trigo, chegando a mesa de mais de 50% da população mundial (EMBRAPA, 2013).

A planta do arroz (*Oryza sativa* L.) é uma monocotiledônea da família das Poaceae (gramíneas) (EMBRAPA 2013). A morfologia da planta é de fundamental importância para a compreensão da relação As e arroz. A planta do arroz se divide em quatro partes principais: raiz, folhas, caule (colmo) e a panícula, sendo esta uma inflorescência particular desta planta onde se formam os grãos, localizada sobre o último entrenó do caule e precedida pela folha-bandeira (Figura 3) (EMBRAPA 2013). Em relação à morfologia do grão, da parte externa para a parte interna tem-

se a seguinte ordem: casca, pericarpo, tegumento, nucelo, aleurona, endosperma e embrião (Figura 3).

Após a colheita, os grãos maduros podem sofrer diferentes tipos de beneficiamento. O arroz integral é o grão que não sofreu o processo de polimento, ou seja, a retirada da parte que recobre o grão que vai do pericarpo até a aleurona (também chamado farelo). Já o arroz parboilizado (do inglês “partial boiled”) é aquele parcialmente cozido com a casca, onde o grão absorve nutrientes da casca como elementos químicos e vitaminas. O arroz polido que é o mais consumido é aquele cuja casca é retirada que vai do pericarpo até a aleurona (GOMES et al., 2004).

Figura 3: Principais partes da planta do arroz (*Oryza sativa* L.)

Legenda: 1: panícula; 2: colmo (caule); 3: folha; 4: raiz; 5: casca; 6: pericarpo; 7: tegumento; 8: nucelo; 9: aleurona; 10: endosperma; 11: embrião; 12: farelo (Adaptada de Gomes et al. 2004).

O Brasil é o país não asiático mais importante produtor de arroz, chegando a mais de 50 kg de arroz/habitante/ano, dos quais 77,7 % são de arroz do tipo branco ou também conhecido como polido e 22,3 % de outros tipos de arroz de acordo com o tipo de beneficiamento (IBGE, 2013; POF 2008/2009). A produção agrícola é de mais de 13 milhões de toneladas de arroz por ano, sendo os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, responsáveis por mais de 80% da produção nacional (GOMES et al., 2004; IBGE, 2013).

O plantio do arroz pode ser realizado de duas formas: (i)- Pode ser cultivado em solo sem ser inundado por uma lâmina de água, chamado plantio sequeiro (também chamado aeróbico ou terras altas) ou (ii)- Plantado com o solo inundado (com lâmina de água), chamado cultivo irrigado (também chamado anaeróbico, terras baixas ou alagamento). Este último método é o mais utilizado, já que favorece a produtividade e, conseqüentemente, a absorção de elementos essenciais para a planta, no entanto também favorece a distribuição e absorção de As no solo (SCHOOOF et al., 1999). Portanto, as plantas de arroz irrigado e o solo são submetidos a condições anaeróbicas que, juntamente com o excesso de água, resulta em maior mobilidade de elementos, sendo mais propenso à absorção e contaminação dos grãos (XIAO et al., 2004). Além disso, a água utilizada para a irrigação (WILLIAMS et al. 2006) e o uso de praguicidas e fertilizantes pode contaminar as plantas aumentando a concentração do semimetal nos grãos (QUAZI; SARKAR; DATTA; 2013)

Estudos têm demonstrado que o arroz e produtos relacionados a este grão são as maiores fontes de exposição humana a este elemento em populações não expostas diretamente ao As presente na água (MONDOL, POLYA, 2008; RAHMAN et al., 2009; BATISTA et al., 2011). As pesquisas envolvendo o elemento As no arroz iniciaram-se em 1999 a partir de um estudo da concentração de As em alimentos da cesta básica

nos Estados Unidos. Este estudo revelou altas concentrações de As inorgânico no arroz quando comparado a outros alimentos como por exemplo trigo e cevada (SCHOOOF et al., 1999). Além disso, estudos tem demonstrado que as espécies predominantes no grão de arroz são as espécies inorgânicas do semimetal (As^{5+} e As^{3+}), justamente as consideradas formas mais tóxicas (ZAVALA et al. 2008; MEHARG et al. 2008).

No Brasil, Batista et al. (2011) determinou a concentração de As total e das espécies químicas deste elemento presentes em 44 amostras de arroz com diferente processamento (branco, branco parboilizado, integral, integral parboilizado, parboilizado orgânico e branco orgânico) e comercializados em diferentes regiões brasileiras. Os níveis de As total nas amostras brasileiras de arroz variaram de 107 a 427 ng/g, com uma média de 222 ng/g. Além disso, as espécies de As mais encontradas na maioria das amostras foram, em ordem decrescente, As^{3+} (39,7%), DMA (38,7%), As^{5+} (17,8) e MMA (3,7%). Este estudo demonstrou que as formas mais tóxicas (As^{3+} e As^{5+}), correspondem a 57,5 % do total deste elemento presente no arroz, permitindo concluir que o arroz brasileiro representa uma fonte de exposição ao As significativa.

Diante da gama de efeitos tóxicos relatados decorrentes da exposição ao As e da sua presença nos grãos de arroz, diversos órgãos como a *Food and Agriculture Organization* (FAO) da Organização Mundial de Saúde (WHO), a *United States Food and Drug Administration* (FDA), a *Food Standards Agency* (FSA) e a *European Food Safety Authority* (EFSA) estão em intensa discussão sobre a concentração de As seguras à saúde humana (SOUZA et al., 2015). A FAO/WHO tem recomendado uma ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) não mais que 15 μg de As inorgânico por quilo corpóreo.

A última reunião do Codex que ocorreu em Genebra em 2014 resultou em um valor preliminar para o nível máximo de As inorgânico em arroz polido de 200 ng g^{-1}

(FAO,2014). De acordo com a FAO / CODEX, os países devem realizar a especiação química para concentrações de As total quando as concentrações nas amostras forem > 200 ng/g. Por outro lado, se a concentração de As total encontrada for menor do que o valor sugerido máximo, nenhum outro teste é necessário (FAO, 2014).

1.5 Bioacesssibilidade e Biodisponibilidade

Outra questão importante a considerar é a bioacessibilidade e biodisponibilidade de As e suas espécies sobre a avaliação do risco de ingestão através do consumo de arroz (ALAVA et al., 2013; ALAVA et al., 2015; SUN et al., 2012).

Segundo o Conselho Nacional de Pesquisa (NRC) dos Estados Unidos a "biodisponibilidade" é definida como a fração de dose de um contaminante que atinge a circulação sistêmica (NRC, 2003; ROSTAMI, JUHASZ, 2011), ou seja, é a porção do analito contido no alimento ingerido que será absorvido pelo intestino e que subsequentemente alcança o sistema circulatório para ser redistribuído por todo o organismo. O analito quando levado ao fígado é biotransformado podendo exercer os efeitos tóxicos (KOCH et al., 2007; BOLAN et al. 2017).

A bioacessibilidade é um teste *in vitro* ou *in vivo* usado para prever a biodisponibilidade, fornecendo informações acerca da fração dos elementos químicos que são liberados da matriz (alimento) no trato gastrointestinal, tornando-se disponível para absorção intestinal (KOCH et al., 2011).

Recentemente, Islam et al. (2017) utilizando-se de um modelo *in vivo*, avaliou a biodisponibilidade do As em diferentes cultivares (genótipos diferentes) plantados em regiões contaminadas em Bangladesh e demonstrou uma variação entre 25% e

94% na biodisponibilidade do elemento tóxico, demonstrando que o genótipo do cultivar influencia neste parâmetro. Embora extremamente relevante a necessidade em saber a bioacessibilidade e biodisponibilidade do As no arroz, estudos que avaliam estes parâmetros em cultivares brasileiros ainda permanecem escassos.

1.6 Estudos toxicológicos em contaminantes de alimentos

Ao longo dos últimos anos, fatores como o aumento na produção de alimentos, a crescente globalização dos produtos, a utilização de equipamentos e procedimentos para armazenamento em grande escala; e poluições crescentes em todos os compartimentos ambientais estão aumentando o risco de exposição a elementos tóxicos através da ingestão de alimentos (NACANO et al. 2014; NASREDDINE E PARENT-MASSIN, 2002).

Ciminelli e colaboradores (2017) avaliaram a concentração de As em diferentes alimentos da cesta básica brasileira vendida em supermercados, entre eles, o arroz e feijão que são os alimentos mais consumidos na dieta do brasileiro. Seus resultados demonstraram que o consumo destes dois alimentos contribui entre 67% e 90% da ingestão de As total na dieta. Outra recente e importante avaliação foi a determinação das concentrações de As total e suas espécies em cultivares plantados pelo método orgânico e convencional vendidos em supermercados brasileiros. Além disso, não foram encontradas diferenças estatísticas na concentração de As total no arroz orgânico quando comparado ao arroz convencional (SEGURA et al. 2016).

Apesar do crescente número de estudos com a finalidade de identificar e quantificar elementos tóxicos em alimentos como o As, pouco se sabe sobre as

concentrações de As em amostras de cultivares de arroz brasileiro, tampouco sobre a quantidade de As presente no arroz que é absorvida pelo organismo a partir da ingestão deste alimento (BATISTA et al., 2011). Além da importância da avaliação da segurança alimentar, estudos que avaliam a exposição pela alimentação, absorção, distribuição e possíveis efeitos tóxicos em organismos vivos ocasionados pelas espécies do semimetal em alimentos são escassos, mas de extrema importância.

Nota-se também, que apesar de vários estudos toxicológicos do As e suas espécies demonstrando que o metaloide seja capaz de promover disfunção mitocondrial e estresse oxidativo, não se sabe até o momento quais seriam as consequências do consumo do arroz contendo As sobre estes parâmetros.

Portanto, embora já descrito na literatura que a identificação e a quantificação das formas do As são determinantes na avaliação de sua real biodisponibilidade e toxicidade, estudos mais concretos da sua bioacessibilidade em alimentos e um maior entendimento dos seus mecanismos de toxicidade em decorrência do consumo de arroz, são necessários. Neste contexto, dois estudos foram propostos nesta tese, divididos em dois capítulos.

Capítulo I: Avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de As em arroz e a distribuição do semimetal em tecidos de camundongos *Swiss* expostos pela dieta.

Capítulo II: Avaliação de parâmetros redox em fígado e alterações mitocondriais em músculo e fígado de camundongos *Swiss* decorrente do consumo de arroz contendo As.

CONCLUSÃO GERAL

Até o presente momento este é o primeiro trabalho onde plantou-se o arroz para mimetizar uma dieta para camundongos contendo arroz com diferentes concentrações de As. Em seguida, o estudo de bioacessibilidade de As neste arroz, mostrou que as espécies mais bioacessíveis são as formas inorgânicas, consideradas mais tóxicas. Destacando-se o As^{5+} , um inibidor da fosforilação oxidativa. Observou-se também uma ampla distribuição do semimetal nos tecidos dos camundongos *Swiss*. Foi realizado um estudo para verificar possíveis alterações na respiração de tecidos permeabilizados e alterações nos parâmetros redox, onde não se observou diferenças na respiração mitocondrial de músculo e fígado entre os grupos estudados. No entanto, houve uma maior formação de EROs no fígado dos animais que consumiram uma maior concentração de As na presença de piruvato. Ainda, a diminuição na atividade antioxidante e maior peroxidação lipídica foi observada nos animais expostos ao As pelo arroz na maior concentração contido na dieta, demonstrando que a concentração de arroz comumente consumida pode levar a alterações nos parâmetros redox em hepatócitos.

Tomados em conjunto, esses resultados abrem novos horizontes e perguntas sobre os possíveis efeitos gerados pelo consumo de arroz contendo As, uma vez, que as formas inorgânicas mais tóxicas estão bioacessíveis e o consumo de arroz com arsênio em valores comumente encontrados no grão está associado a desequilíbrio na homeostase redox.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in enzymology**, New York, v.105, p.121–126, 1984.

ADAMSON, S. R.; STEVENSON, K. J. Inhibition of pyruvate dehydrogenase multienzyme complex from *Escherichia coli* with a bifunctional arsenoxide: selective inactivation of lipoamide dehydrogenase. **Biochemistry**; Washington, v.20, n. 12, p. 3418-3424, 1981.

ADEYEMI, J. A., et al. Arsenic speciation in rice consumed in south-western Nigeria, and estimation of dietary intake of arsenic species through rice consumption. **Toxicological & Environmental Chemistry**; Bayreuth, v. 99, n. 5-6, p.1-8, 2017.

ALAVA, P., et al. Arsenic bioaccessibility upon gastrointestinal digestion is highly determined by its speciation and lipid-bile salt interactions. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, New York, v. 48, n. 6, p. 656-665, 2013.

ALAVA, P., et al. Westernized diets lower arsenic gastrointestinal bioaccessibility but increase microbial arsenic speciation changes in the colon. **Chemosphere**; New York, v.119, p. 757-762, 2015.

AMBROSIO, F., et al. Arsenic induces sustained impairment of skeletal muscle and muscle progenitor cell ultrastructure and bioenergetics. **Free Radical Biology and Medicine**; Tarrytown, v.74, p. 64-73, 2014.

APOSHIAN, H. V.; APOSHIAN, M. M. Arsenic toxicology: five questions. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v.19, n.1, p.1-15, 2006.

APOSTOLI, P. et al.. Biological monitoring of occupational exposure to inorganic arsenic. **Occupational and Environmental Medicine**; London, v. 56, n. 12, p.825-832, 1999.

ARSLAN, B., DJAMGOZ, M. B., AKÜN, E. Arsenic: A Review on Exposure Pathways, Accumulation, Mobility and Transmission into the Human Food Chain. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**; New York, v. 243, p., 2017.

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). "Toxicological Profile for Arsenic." Prepared for the U.S. Department of Health and Human Services. 2013

BARRA, C. M. Especificação de arsênio - uma revisão. **Química Nova**; v. 23, n. 1, p. 58–70, 2000.

BERTOMEU-SÁNCHEZ, J. R.. From forensic toxicology to biological chemistry: Normal arsenic and the hazards of sensitivity during the nineteenth century. **Endeavour**; London, v. 40, n. 2, p. 82-92, 2016.

BATISTA, B. L. et al. Rapid sample preparation procedure for As speciation in food samples by LC-ICP-MS. **Food Additives and Contaminants**; London, v. 29, n.5, p. 780-788, 2012.

BATISTA, B. L. et al. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of Hazardous Materials**; Amsterdam, v. 191, n. 1-3, p. 342-348, 2011.

BATISTA, B. L. et al. Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Analytica Chimica Acta**; Amsterdam, v.646, n. 1-2, p. 23-29, 2009.

BATISTA, B. L. et al. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. **Analytica Chimica Acta**; Amsterdam, v.639, n.1-2, p. 13-18, 2009.

BASU, A. et al. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review **Mutation Research**; Amsterdam v. 488, n. 2, p. 171-194, 2001.

BHOWMICK, S., et al. Arsenic in groundwater of West Bengal, India: A review of human health risks and assessment of possible intervention options. **Science of The Total Environment**; Amsterdam, v.612, n.15, p. 148-169, 2018

BHOWMICK, S., et al. Is saliva a potential biomarker of arsenic exposure? A case-control study in West Bengal, India. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 47, n. 7, p. 3326-3332, 2013.

BLAJSZCZAK, C.; BONINI, M. G. Mitochondria targeting by environmental stressors: implications for redox cellular signaling. **Toxicology**; Amsterdam, v. 391, n. 1, p. 84-89, 2017.

BOLAN, S, et al. Sources, distribution, bioavailability, toxicity, and risk assessment of heavy metal (loid) s in complementary medicines. **Environment International**; Oxford, v.108, p. 103-118, 2017

BOLT, H.M.; STEWART, J.D. Antioxidant activity of food constituents: relevance for the risk of chronic human diseases. **Archives of Toxicology**; Berlin, v. 86, n. 3, p. 343-354, 2012.

BORBA, R. P. et al. Determination of total as and inorganic arsenic species for the environmental quality monitoring of groundwaters. **Química Nova**; v. 32, n. 4, p. 970-975, 2009.

BOSMA, M. Lipid droplet dynamics in skeletal muscle. **Experimental cell research**; New York; v.340, n. 2, p. 180-186, 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, San Diego, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRAHMAN, K. D., et al. Toxic Risk Assessment of Arsenic in Males Through Drinking Water in Tharparkar Region of Sindh, Pakistan. **Biological Trace Element Research**; London v.172, n. 1, p. 61-71, 2016.

BRAHMAN, K. D., et al. Exposure of children to arsenic in drinking water in the Tharparkar region of Sindh, Pakistan. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v.544, n.15, p. 653-660, 2016.

BRINKEL, J.; KHAN, M. M. H.; KRAEMER, A. A systematic review of arsenic exposure and its social and mental health effects with special reference to Bangladesh. **International Journal of Environmental Research and Public Health**; Basel, v. 6, n. 5, p. 1609–1619, 2009.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO: AGROFIT, Secretaria de Defesa Agropecuária**, Brasília, DF, 2004.

BUCHET, J. P., LAUWERYS, R., ROELS, H. Comparison of the urinary excretion of arsenic metabolites after a single oral dose of sodium arsenite, monomethylarsonate or dimethylarsinate in man. **International archives of occupational and environmental health**, Berlin, v. 48, n. 1, p. 71-79, 1981.

BYRNE, S., Were Chinchorros exposed to arsenic? Arsenic determination in Chinchorro mummies' hair by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS), **Microchemical Journal**; Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 28–35, 2010.

CASCIO, C.; et al. The impact of a rice based diet on urinary arsenic. **Journal of Environmental Monitoring**, Cambridge, v. 13, n. 2, p. 257-265, 2011.

CHEN, C. J.; et al. Cancer potential in liver, lung, bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. **British Journal of Cancer**; London, v. 66, n.5, p. 888–892; 1992.

CHEN, C.J. et al. Biomarkers of exposure, effect, and susceptibility of arsenic-induced health hazards in Taiwan. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 206, p. 198-206, 2005.

CHIOU, H. Y.; et al. Arsenic methylation capacity, body retention, and null genotypes of glutathione S-transferase M1 and T1 among current arsenic-exposed residents in Taiwan. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 386, n. 3, p. 197-207, 1997.

CHIOU, T. J. et al. Arsenic trioxide impairs spermatogenesis via reducing gene expression levels in testosterone synthesis pathway. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 21, n. 8, p. 1562–1569, 2008.

CIMINELLI, V. S., et al. Dietary arsenic exposure in Brazil: The contribution of rice and beans. **Chemosphere**, Amsterdam, v.168, p. 996-1003, 2017.

CONCHA, G.; NERMELL, B; VAHTER, M. Metabolism of inorganic arsenic in children with chronic high arsenic exposure in northern Argentina. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 106, n. 6, p. 355-359, 1998.

DOUILLET C. et al. Methylated trivalent arsenicals are potent inhibitors of glucose stimulated insulin secretion by murine pancreatic islets. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 267, n. 1, p.11–15, 2013.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in enzymology**, New York, v. 186, p. 421-431, 1990.

EDMUNDS, W. M.; AHMED, K. M.; WHITEHEAD, P. G.. A review of arsenic and its impacts in groundwater of the Ganges–Brahmaputra–Meghna delta, Bangladesh. **Environmental Science: Processes & Impacts**, Cambridge, v. 17, n. 6, 1032-1046, 2015.

European Food Safety Authority (EFSA) (2009) Scientific opinion on As in food. Panel on contaminants in the food chain (CONTAM). EFSA J 7(10):1351

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br>, acessado em 13 de julho de 2014.

EOM, S. Y. et al. Effects of low-level arsenic exposure on urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. **Human & Experimental Toxicology**, London, v. 30, n. 12, p. 1885-189, 2011.

ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. Toxic metals and oxidative stress. Part I. Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 1, n. 6, p. 529–539, 2001.

FISKUM, G.; MURPHY, A. N.; BEAL, M. F. Mitochondria in neurodegeneration: acute ischemia and chronic neurodegenerative diseases. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 19, n. 4, p. 351-69, 1999.

FLORA, S. J. S. Arsenic induced oxidative stress and its reversibility. **Free Radical Biology and Medicine**, Tarrytown, v. 51, n. 2, p. 257-281, 2011.

GARAI, R. et al. Chronic arsenic poisoning from tube-well water. **Journal of the Indian Medical Association**, Calcutta, v. 82, n. 1, p. 34–35, 1984.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabologia**; Rio de Janeiro, v. 50, n. 2, p. 208-215, 2006.

GERMOLEC, D. R. et al. Arsenic enhancement of skin neoplasia by chronic stimulation of growth factors. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 153, n. 6, p. 1775-1785, 1998.

GIBSON, G. E. et al. Deficits in the mitochondrial enzyme alpha-ketoglutarate dehydrogenase lead to Alzheimer's disease-like calcium dysregulation. **Neurobiology of Aging**, Fayetteville, v. 33, n. 6, p. 1121.e13–1121.e24, 2012

GOLUB, M. S.; MACINTOSH, M. S.; BAUMRIND, N. 1998. Developmental and reproductive toxicity of inorganic arsenic: Animal studies and human concerns. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, Washington, v.1, n.3, p. 199–237, 1998.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. Arroz Irrigado no Sul do Brasil. 1ª Ed., EMBRAPA Informação Tecnológica: Brasília, 2004.

GOPALKRISHNAN, A.; RAO, M. V. Amelioration by vitamin A upon arsenic induced metabolic and neurotoxic effects. **Journal of Health Science**, v. 52, n. 5, p. 568–577, 2006

GOSSAI, A., et al. Rice Consumption and Squamous Cell Carcinoma of the Skin in a United States Population. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 125, n. 9, 97005, 2017.

GREEN, D. R.; REED, J. C. Mitochondria and apoptosis. **Science**, New York, v. 281, n. 28, p. 1309–1312, 1998.

GUHA MAZUMDER, D. N. et al. Arsenic levels in drinking water and the prevalence of skin lesions in West Bengal, India. **International Journal of Epidemiology**, London, v. 27, n. 5, p. 871-877, 1998.

HALLIWELL, Barry; CHIRICO, Susanna. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 57, n. 5, p. 715S-724S, 1993.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, London v. 142, n. 2, p.231–255; 2004.

HAQUE, R., et al. 2003. Arsenic in drinking water and skin lesions: dose–response data from West Bengal, India. **Epidemiology**; Hagerstown, v.14, n. 2, p. 174–182, 2003.

HE, Yi et al. Bioaccessibility of arsenic in various types of rice in an in vitro gastrointestinal fluid system. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, New York, v. 47, n. 2, p. 74-80, 2012.

HSUEH, Y. M. et al. The polymorphism XRCC1 Arg194Trp and 8-hydroxydeoxyguanosine increased susceptibility to arsenic-related renal cell carcinoma. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.332, n. 1, p.1-7, 2017.

HOPENHAYN, C. et al. Profile of urinary arsenic metabolites during pregnancy. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 111, p.1888-1891, 2003.

HOSSAIN, M. A. Water consumption patterns and factors contributing to water consumption in arsenic affected population of rural West Bengal, India. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 463–464, p. 1217–1224, 2013

HOSSEINI, M. J. et al. Toxicity of arsenic (III) on isolated liver mitochondria: a new mechanistic approach. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Tehran v.12(Suppl), p. 121-138, 2013.

HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.133, n.1, p.1–16, 2002

HUGHES, M. F. et al. Accumulation and metabolism of arsenic in mice after repeated oral administration of arsenate, **Toxicology and Applied Pharmacology**; New York, v. 191, n.3, 202-210, 2003.

HUGHES, M. F. Biomarkers of Exposure: A Case Study with Inorganic Arsenic. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 1790, n. 11, p. 1790–1796.

IBGE; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos, período 2008-2009**, 2013

ISLAM, S., et al. Variation in arsenic bioavailability in rice genotypes using swine model: An animal study. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v.599, p. 324-333, 2017.

JOLLIFFE, D. M.; BUDD, A. J.; GWILT, D. J. Massive acute arsenic poisoning. **Anaesthesia, Oxford**, v. 46, n. 4, p. 288-290, 1991.

JOMOVA, K., et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, Philadelphia, v. 31, n. 2, p. 95-107, 2011.

JOSEPH, T., DUBEY, B., McBEAN E. A. A critical review of arsenic exposures for Bangladeshi adults. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 527, p. 540-551, 2015.

JUHASZ, A. L. et al. In vivo assessment of arsenic bioavailability in rice and its significance for human health risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park. v.114, n.12, 1826–1831, 2006.

KADONO, T. et al. Skin manifestations of arsenicosis in two villages in Bangladesh. **International Journal of Dermatology**, Oxford, v.41, n. 12, p. 841-846, 2002.

KARAGAS, M. R., et al. Drinking water arsenic contamination, skin lesions, and malignancies: a systematic review of the global evidence. **Current Environmental Health Reports**; v.2, n.1, p. 52-68, 2015.

KENYON, E.; HUGHES, M.; ADAIR, B. Tissue distribution and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites in C57BL6 mice following subchronic exposure to arsenate in drinking. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.232, n.3, p. 448–55, 2008.

KITCHIN, K. T. Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 172, p. 249–261; 2001.

KITCHIN, K. T.; CONOLLY, R. Arsenic-induced carcinogenesis—oxidative stress as a possible mode of action and future research needs for more biologically based risk assessment. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 23, n. 2, p.327–335; 2010

KLAASSEN, C. D. **Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**. USA, McGraw-Hill, 2008.

KOCH, I. et al. Bioaccessibility and excretion of arsenic in Niu Huang Jie Du Pian pills. **Toxicology and applied pharmacology**, New York, v. 222, n. 3, p. 357-364, 2007.

KOCH, I., et al. Bioaccessibility of lead and arsenic in traditional Indian medicines. **Science of The Total Environment**; Amsterdam, v.409, n. 21, p. 4545-4552, 2011.

KOOPMAN, W. J. H. et al. Inhibition of complex I of the electron transport chain causes O₂^{•-}-mediated mitochondrial outgrowth. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, Bethesda, v. 288, n. 6, p. 1440-1450, 2005.

KOTYZOVÁ, D.; BLUDOVSKÁ, M.; EYBL, V. Differential influences of various arsenic compounds on antioxidant defense system in liver and kidney of rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**; Amsterdam, v. 36, n. 3, p.1015–1021, 2013.

KOYA, R. C. et al. Gelsolin inhibits apoptosis by blocking mitochondrial membrane potential loss and cytochrome c release. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 275, n. p.15343–15349, 2000.

KROEMER, G. Mitochondrial control of apoptosis: an overview. **Biochemical Society symposium**, Cambridge, v. 66, p. 1–15, 1999.

KUO, C. C et al. The association of arsenic metabolism with cancer, cardiovascular disease and diabetes: a systematic review of the epidemiological evidence environmental health perspectives. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 125, n. 8, p., 1-15, 2017.

LAPARRA, J. M. et al. Bioavailability of inorganic arsenic in cooked rice: practical aspects for human health risk assessments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**; Amsterdam v. 53, n. 22, p. 8829–8833, 2005

LEE, C.U. et al. Redox modulation of PTEN phosphatase activity by hydrogen peroxide and bisperoxidovanadium complexes. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 54, n. 46, p. 13796-13800, 2015.

LI, J., et al. Tissue-specific distributions of inorganic arsenic and its methylated metabolites, especially in cerebral cortex, cerebellum and hippocampus of mice after a single oral administration of arsenite. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 43, p. 15-22, 2017.

LIAO, X. et al. Soil As contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou City, Southern China. **Environment International**, Amsterdam, v. 31, n. 6, p. 791-798, 2005.

LIU J.; KILLILEA, D. W.; AMES, B. N. Age-associated mitochondrial oxidative decay: improvement of carnitine acetyltransferase substrate binding affinity and activity in brain by feeding old rats acetyl-L-carnitine and/or R-alpha-lipoic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**; Washington, v. 99, n. 4, p. 1876–188, 2002.

LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**; Mumbai, v. 4, n. 8, p. 118–126, 2010.

LOPEZ-FABUEL, I. et al. Complex I assembly into supercomplexes determines differential mitochondrial ROS production in neurons and astrocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington v.133, n. 46, p. 13063-13068, 2016.

LU, Y. et al. Baseline soil variation is a major factor in As accumulation in bengal delta paddy rice. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 43, n. 6, p. 1724-1729, 2009.

LUZI L, PETRIDES AS, DE FRONZO RA. Different sensitivity of glucose and amino acid metabolism to insulin in NIDDM. *Diabetes* 1993; 42:1868–1877.

LUZI L, PETRIDES AS, DE FRONZO RA. Different sensitivity of glucose and amino acid metabolism to insulin in NIDDM. *Diabetes* 1993; 42:1868–1877.

LUZI L, PETRIDES AS, DE FRONZO RA. Different sensitivity of glucose and amino acid metabolism to insulin in NIDDM. *Diabetes* 1993; 42:1868–1877.

LUZI, L., PETRIDES, A. S.; DE FRONZO, R. A. Different sensitivity of glucose and amino acid metabolism to insulin in NIDDM. **Diabetes**, Alexandria, v. 42, n. 12, p.1868-1877, 1993.

LYNCH, H. N. et al.. Quantitative assessment of lung and bladder cancer risk and oral exposure to inorganic arsenic: Meta-regression analyses of epidemiological data. **Environment International**; Amsterdam, *In press*, 2017.

MANDAL, B.K., SUZUKI, K.T., ANZAI, K., Impact of arsenic in foodstuffs on the people living in the arsenic-affected areas of West Bengal, India. **Journal of environmental science and health. Part A**, New York, v.42,n. 12, p. 1741–1752, 2007.

MARAFANTE, E.; VAHTER, M. The effect of methyltransferase inhibition on the metabolism of [⁷⁴As] arsenite in mice and rabbits. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 50, n. 1, p.49-57,1984.

MARAFANTE, E.; VAHTER, M.; ENVALL, J. The role of the methylation in the detoxication of arsenate in the rabbit. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 56, n. 2-3, p.225-238, 1985.

MARAFANTE, E.; VAHTER, M. Solubility, retention and metabolism of intratracheally and orally administered inorganic arsenic compounds in the hamster. **Environmental Research**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p.72- 82, 1987.

MAHATA, J. et al. Effect of selenium and vitamin E supplementation on plasma protein carbonyl levels in patients with arsenic-related skin lesions. **Nutrition and Cancer**, Philadelphia, v. 60, n. 1, p.55–60, 2008.

MATTIASSON, G. et al. Flow cytometric analysis of mitochondria from CA1 and CA3 regions of rat hippocampus reveals differences in permeability transition pore activation. **Journal of neurochemistry**, Oxford, v. 87, n. 2, p. 532-44, 2003

MAULL, E. A., et al. Evaluation of the association between arsenic and diabetes: a National Toxicology Program workshop review. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park , v. 120, p. 1658–1670, 2012.

MAZUMDER, D. G. Chronic arsenic toxicity & human health. **The Indian Journal of Medical Research**. v.128, n. 4, p. 436-447, 2008.

MEHARG, A. A.; et al. Variation in rice cadmium related to human exposure. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 47, n. 11, p. 5613-5618,. 2013

MEHARG, A. A. et al. Geographical variation in total and inorganic As content of polished (white) rice. **Environmental Science and Technology**, Washington v. 43, n. 5, p. 1612-1617, 2009.

MEHARG, A. A. et al. Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. . **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 42, n.4, p.1051-1057, 2008.

MELKONIAN S. et al. Urinary and dietary analysis of 18,470 Bangladeshis reveal a correlation of rice consumption with arsenic exposure and toxicity. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 11, p. e80691, 2013.

MIDDLETON, D. R. et al. Prolonged exposure to arsenic in UK private water supplies: Toenail, hair and drinking water concentrations. **Environmental Science: Processes & Impacts**, Cambridge, v. 18 n. 5, p. 562-574, 2016

MISHRA, D.; MEHTA, A.; FLORA, S. J. S. Reversal of arsenic-induced hepatic apoptosis with combined administration of DMSA and its analogues in guinea pigs: role of glutathione and linked enzymes. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 21, n. 2, p. 400–407, 2008.

MONDAL, D.; POLYA, D. A. Rice is a major exposure route for arsenic in Chakdaha block, Nadia district, West Bengal, India: A probabilistic risk assessment. **Applied Geochemistry**, Amsterdam, v. 23, n. 11, p. 2987-2998, 2008.

MOOTHA, V. K. et al. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. **Nature Genetics**, New York, v.34, n. 3 p. 267–273, 2003.

MORINO, K. et al. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin resistant offspring of type 2 diabetic parents. **The Journal of clinical investigation**, New Haven, v. 115, n. 12 p. 3587–3593, 2005.

MULLER, F. L.; LIU, Y.; VAN REMMEN, H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore v. 279, p.49064–49073, 2004.

MURPHY, M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species. **Biochemical Journal**, London, v. 417, n. 1, p. 1-13, 2009.

NACANO, L. R., FREITAS, R.; BARBOSA JR, F. 2014. Evaluation of seasonal dietary exposure to arsenic, cadmium and lead in schoolchildren through the analysis of meals served by public schools of Ribeirão Preto, Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, Ottawa, v. 77, n.7, p.367-374, 2014.

NADIMI-GOKI, M. et al. Assessment of total soil and plant elements in rice-based production systems in NE Italy. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 147, p. 200–214, 2014.

NARDI, E. P.; et al, The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 727, 2009

NASRREDINE, L.; PARENT-MASSIN, D. Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.127, n. 1-3, p. 29–41, 2002.

NAVA-HERNANDEZ, M. P. et al. Lead, cadmium, and arsenic-induced DNA damage in rat germinal cells. **DNA and Cell Biology**, Larchmont, v. 28, n. 5, p. 241–248, 2009.

NAVAS-ACIEN, A. et al. Arsenic exposure and type 2 diabetes: a systematic review of the experimental and epidemiological evidence. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park , v. 114, p. 641–648, 2006

NAVAS-ACIEN, A. et al. Seafood intake and urine concentrations of total arsenic, dimethylarsinate and arsenobetaine in the US population. **Environmental research**, Amsterdam v.111, n.1, p. 110-118, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 6 ed. Porto Alegre. Editora Artmed. 1336p. 2014

NEMETI, B.; GREGUS, Z. Reduction of arsenate to arsenite in hepatic cytosol. **Toxicological Sciences**, v. 70, n. 1, p. 4–12, 2002.

NICHOLLS DG. **Bioenergetics**. An introduction to the chemiosmotic theory, first ed. Academic Press, London, 1982.

NORDSTROM, D. K. Public health. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. **Science**, New York, v. 296, p.213-215, 2002.

NRC, 2003. Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments - Processes, Tools and Applications. The National Academies Press, Washinton DC.

ORR, S. E.; BRIDGES, C. C. Chronic Kidney Disease and Exposure to Nephrotoxic Metals. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.18, n.5, p.1039, 2017

ORRENIUS, S., ZHIVOTOVSKY, B., NICOTERA, P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. **Nature reviews. Molecular cell biology**, London v.4, n.7, p. 552–565, 2003.

PARK, S. K. et al. Arsenic exposure is associated with diminished insulin sensitivity in non-diabetic Amish adults. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**, Oxford, v. 32, n.6, p. 565–571, 2016.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, New York, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PEDERSEN, P. L. et al. Preparation and characterization of mitochondria and submitochondrial particles of rat liver and liver derived tissues, **Methods in Cell Biology**, New York, v.20, p.411–481, 1978.

PENG, H. et al. Methylated Phenylarsenical Metabolites Discovered in Chicken Liver. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 56, n. 24, p. 6773-6777, 2017.

PETROPULU, M. O.; VARSAMIS, J.; PARISSAKIS, G. Speciation of arsenobetaine in marine organisms using a selective leaching/digestion procedure and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 337, n. 3, p. 323-327, 1997.

POLO, A. et al. Environment and bladder cancer: molecular analysis by interaction networks. **Oncotarget**, Albany, v. 15, p. 65240-6525. 2017.

PRAKASH, C., SONI, M., KUMAR, V. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in arsenic neurotoxicity: A review. **Journal of Applied Toxicology**, Philadelphia, v. 36, n.2, p. 179-188, 2016.

PRAKASH, C.; KUMAR, V. Chronic arsenic exposure-induced oxidative stress is mediated by decreased mitochondrial biogenesis in rat liver. **Biological Trace Element Research**, London, v. 173, n. 1, p. 87-95, 2016.

PULIDO, M. D.; PARRISH, A. R. Metal-induced apoptosis: mechanisms. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 533, p. 227–241; 2003

QUATREHOMME, G. et al.; Acute arsenic intoxication: forensic and toxicologic aspects (an observation). **Journal of Forensic Sciences**, Malden, v. 37, n.4, p. 1163-1171, 1992.

QUAZI, S.; SARKAR, D.; DATTA, R. J. Human health risk from arsenical pesticide contaminated soils: a long-term greenhouse study. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 262 , p. 1031-1038, 2013.

RAHMAN, M. M.; OWENS, G.; NAIDU, R. Arsenic levels in rice grain and assessment of daily dietary intake of As from rice in As-contaminated regions of Bangladesh - implications to groundwater irrigation. **Environmental Geochemistry Health**, Dordrecht, v. 31, p. 179 -187,2009.

RAHMAN, M. M.; NG, J. C.; NAIDU, R. Chronic exposure of arsenic via drinking water and its adverse health impacts on humans. **Environmental Geochemistry Health**, Dordrecht,v. 31 S1, p.189–200, 2009.

RAHMAN, M.; et al. Hypertension and arsenic exposure in Bangladesh. **Hypertension**, Dallas, v. 33, n. 1, p.74–78; 1999.

RAHMAN, M. et al. Diabetes mellitus associated with arsenic exposure in Bangladesh. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 148, p. 198–203; 1998.

RANA, T. et al. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in male Wistar rats. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, New York, v. 26, p.109–116, 2012.

RATNAIKE, R. N. Acute and chronic arsenic toxicity. **Postgraduate Medical Journal**. London, v.79, p. 391-396, 2003.

ROSSMAN, T. G. Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 533, p. 37–65, 2003.

ROSTAMI, I.; JUHASZ, A.L. Assessment of persistent organic pollutant (POP) bioavailability and bioaccessibility for human health exposure assessment: a critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 41 n. 7, p. 623–656, 2011

SAGE, A.P., et al. Oncogenomic disruptions in arsenic-induced carcinogenesis. **Oncotarget**, Albany, v. 8, n. 15, p. 25736–25755, 2017

SAHA, G. C.; ALI, M. A. Dynamics of arsenic in agricultural soils irrigated with arsenic contaminated groundwater in Bangladesh. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 379, p. 180-189, 2007

SAHA, K. C.; PODDAR, D., Further studies on chronic arsenical dermatosis. **Indian Journal of Dermatology**, Calcutta, v. 31, p. 29–33, 1986.

SAMANTA, G. et al. Arsenic and other elements in hair, nails, and skin-scales of arsenic victims in West Bengal, India. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 326, n. 1-3, p. 33–47, 2004.

SANTOS, E. C. O. et al. Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 171-185, 2003

SANTRA, A. et al. Arsenic induces apoptosis in mouse liver is mitochondria dependent and is abrogated by *N*-acetylcysteine. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 220, n. 2, p. 146–155, 2007

SANTRA, A. M. A. L. et al. Oxidative stress in liver of mice exposed to arsenic-contaminated water. **Indian Journal of Gastroenterology**, Bombay, v. 19, n. 3, p. 112-115, 2000.

SATTAR A, et al. Metabolism and toxicity of arsenicals in mammals. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.48, p. 214–224, 2016.

SCHOOOF, R. A. et al. A market basket survey of inorganic arsenic in food. **Food and chemical toxicology**, New York, v. 37, p. 839-846, 1999

SCHOOLMEESTER, W. L.; WHITE, D. R.; Arsenic poisoning **Southern Medical Journal.**, Birmingham, v. 73, n. 2, p. 198- 208, 1980

SCOTT, N. et al. Reactions of arsenic (III) and arsenic (V) species with glutathione. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 6, n. 1, p. 102-106, 1993.

SEGURA, F. R., et al. Arsenic speciation in Brazilian rice grains organically and traditionally cultivated: Is there any difference in arsenic content?. **Food Research International**, Ottawa, v.89, p.169-176, 2016.

SEPAND, M. R. et al. Effect of acetyl-L-carnitine on antioxidant status, lipid peroxidation, and oxidative damage of arsenic in rat. **Biological Trace Element Research**, London, v. 171, p. 107–115, 2016.

SHI, H.; SHI, X.; LIU, K.J. Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. **Molecular and Cellular Biochemistry**, The Hague, v. 255, p. 67-78, 2004.

SILBERGELD, E. K.; NACHMAN, K. The Environmental and Public Health Risks Associated with Arsenical Use in Animal Feeds. **New York Academy of Sciences**, v. 1140, p. 346-357, 2008

SILVA, R. F., et al. Arsenic trioxide exposure impairs testicular morphology in adult male mice and consequent fetus viability. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, Ottawa, v. 80, n. 19-21, p. 1166-1179, 2017.

SINHA, M., MANNA, P., SIL, P. C. Arjunolic acid attenuates arsenic-induced nephrotoxicity. **Pathobiology**, Amsterdam, v.15, p.147–156, 2008.

SIROT, V., et al. Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, n. 6, 1875–1885, 2009

SMITH, A. H., et al. Lung, Bladder, and Kidney Cancer Mortality 40 Years After Arsenic Exposure Reduction. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, Oxford, In press, 2017

SOIGNET, S. L., et al. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, v.19, n.18, p. 3852–60, 2001.

SON, Y. O. et al. Cr (VI) induces mitochondrial-mediated and caspase-dependent apoptosis through reactive oxygen species-mediated p53 activation in JB6 Cl41 cells. **Toxicology and applied pharmacology**, New York, v. 245, n. 2, p. 226-235, 2010

SORIA, E. A. et al.. Immunotoxicological effects of arsenic bioaccumulation on spatial metallomics and cellular enzyme response in the spleen of male Wistar rats after oral intake. **Toxicology letters**, Amsterdam, v. 266, 65-73, 2017.

SOUZA, J. M.; et al. Arsênio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p.118-127, 2015

SOUZA, A. C. et al. Effects of sodium arsenate and arsenite on male reproductive functions in Wistar rats. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, Ottawa, v. 79, p. 274–286, 2016.

SUN, G. X. et al. Arsenic in cooked rice: effect of chemical, enzymatic and microbial processes on bioaccessibility and speciation in the human gastrointestinal tract. **Environmental Pollution**, Barking, v. 162, p. 241–246, 2012.

SUNG, T. C.; HUANG, J. W.; GUO, H. R. Association between arsenic exposure and diabetes: a meta-analysis. **Biomed Research International**, New York, 368087, 2015.

SUZUKI, K. T. et al. Distributions and chemical forms of arsenic after intravenous administration of dimethylarsinic and monomethylarsonic acids to rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 198, n. 3, p. 336–44, 2004.

TAHARA, E. B.; NAVARETE, F. D. T.; KOWALTOWSKI, A. J. Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. **Free Radical Biology and Medicine**, Tarrytown, v. 46, n. 9, p. 1283–1297, 2009.

TOKAR E. J.; et al. Cancer in experimental animals exposed to arsenic and arsenic compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, London, v. 40, n. 10, p. 912–927, 2010

TRENARY, H. R., et al. An in vitro assessment of bioaccessibility of arsenicals in rice and the use of this estimate within a probabilistic exposure model. **Journal of Exposure . Science and Environmental Epidemiology**, New York, v. 22, n. 4, p.369–375, 2012.

TSENG, C. H. et al. Long-term arsenic exposure and incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus: a cohort study in arseniasis-hyperendemic villages in Taiwan. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.108, p.847–851; 2000

VALKO, M. et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Molecular and Cellular Biochemistry**, The Hague, v. 266, n. 1-2, p.37–56; 2004.

VAHTER, M.; et al. A unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean women. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam,, v. 293, n. 4, p. 455-462, 1995

VAHTER, M.; CONCHA, G.; NERMELL, B. Factors influencing arsenic methylation in humans. **Journal of Trace Elements in Experimental Medicine**, v. 13, p. 173-184, 2000

VAHTER, M.; et al. Differences in the disposition and toxicity of metals. **Environmental Research**, Amsterdam, v.104, p.85-95, 2007

VIZCAYA-RUIZ, A.; et al.. Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 674, p. 85–92, 2009.

WAALKES, M. P. et al. Estrogen signalling in livers of male mice with hepatocellular carcinoma induced by exposure to arsenic in utero. **Journal of the National Cancer Institute**, Oxford, v. 96, n. 6, p. 466–474, 2004.

WANG, J. P., et al. Association of arsenic and kidney dysfunction in people with diabetes and validation of its effects in rats. **Environment International**, Amsterdam, v.35, n. 3, p. 507-511, 2009.

WANG, C. H.; et al. A review of the epidemiologic literature on the role of environmental arsenic exposure in cardiovascular diseases. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 222, n. 3, p. 315–326, 2007.

WANG, X; MICHAELIS, E. K. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. **Frontiers in Aging Neuroscience**, Lausanne, v. 2, p. 1-13, 2010

WATANABE, T.; HIRANO, S. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, Berlin, v. 87, n.6, p. 969–979, 2013.

WEI, B. et al. Trace Metals in the Urine and Hair of a Population in an Endemic Arsenism Area. **Biological Trace Element Research**, London, In press, 2017.

WHO, World Health Organization. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and arsenic compounds. Geneva, 2001.

WILLIAMS, P.N. et al. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 39, p. 5531–5540, 2005.

WILLIAMS, P.N.; et al. Increase in rice grain As for regions of Bangladesh irrigating paddies with elevated As in groundwaters. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 40, p. 4903-4908, 2006

XIAO, X. et al. Mapping paddy rice agriculture in southern China using multi-temporal MODIS images. **Remote Sensing of Environment**, Amsterdam v. 95, n. 4, p. 480-492, 2005.

XU, X. Y. et al. Growing rice aerobically markedly decreases As accumulation. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 42, p. 5574-5579, 2008.

XU, M., et al. Oxidative Damage Induced by Arsenic in Mice or Rats: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Biological Trace Element Research**, London, v. 176, n.1, p. 154-175, 2017.

XUE, P. et al. Prolonged inorganic arsenite exposure suppresses insulin-stimulated AKT S473 phosphorylation and glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes: involvement of the adaptive antioxidant response. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, n v. 407, n. 2, p.360–365, 2011.

YAMANAKA, K. et al. Mutagenicity of dimethylated metabolites of inorganic arsenics. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 37, n. 10, p.2753–2756; 1989.

YAMANAKA, K. et al. Induction of DNA damage by dimethylarsine, a metabolite of inorganic arsenics, is for the major part likely due to its peroxy radical. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 168, n. 1, p. 58–64; 1990.

YOSHIDA, T.; YAMAUCHI, H.; SUN, G. F. Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: dose–response relationships in review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.198, n. 3, 243-252, 2004.

ZAVALA, Y. J. et al. Arsenic in Rice: II. Arsenic Speciation in USA Grain and Implications for Human Health. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 42, p. 3861-3866, 2008.

ZHANG, F. et al. Arsenite binds to the RING finger domains of RNF20-RNF40 histone E3 ubiquitin ligase and inhibits DNA double-strand break repair. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 136, n. 37, p. 12884-12887, 2014.

ZHENG, Y., et al. Protection of Taurine against arsenic-induced DNA damage of mice kidneys. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 975, p. 917-927, 2017.

ZHOU, M. et al. A stable nonfluorescent derivative of resorufin for the fluorometric determination of trace hydrogen peroxide: applications in detecting the activity of phagocyte NADPH oxidase and other oxidases. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 15, n. 2, p. 162–168, 1997.