

ANÁLISE DA INTERAÇÃO DO CONTAMINANTE METILMERCÚRIO COM HEMOGLOBINA DO PEIXE MATRINXÃ *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869)

ANALYSIS OF THE INTERACTION OF THE CONTAMINANT METHYLMERCURY WITH HEMOGLOBIN FROM THE FISH MATRINXÃ *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869)

ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN DEL CONTAMINANTE METILMERCURIO CON LA HEMOGLOBINA DEL PESCADO MATRINXÃ *Brycon cephalus*(GÜNTHER, 1869)

Eduarda Medran Rangel^{1*}; Estela Fernandes e Silva²; Daiana Kaster Garcez³; Karine Laste Macagnan⁴; Adrize Medran Rangel⁵; Louise Vargas Ribeiro⁶; Paula Fernandes e Silva⁷; Tainã Figueiredo Cardoso⁸

¹Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Professora na Prefeitura Municipal de Rio Grande, RS, Brasil; ²Doutora Ciências Fisiológicas – Universidade Federal de Rio Grande (FURG). Professora na Prefeitura Municipal de Rio Grande, RS, Brasil; ³Doutora em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais – Universidade Federal de Rio Grande (FURG). Professora na Prefeitura Municipal de Rio Grande, RS, Brasil; ⁴Doutora em Ciências – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Professora na Prefeitura Municipal de Rio Grande, RS, Brasil; ⁵Licenciada em Ciências Biológicas – Universidade de Franca (UNIFRAN). Líder da Planta de Fertilizantes - JOSAPAR, Pelotas, RS, Brasil; ⁶Doutora em Agronomia – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Professora na Prefeitura Municipal de Arroio do Padre, RS, Brasil; ⁷Cirurgiã-dentista – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) Mestranda na área de Dentística e Cariologia (UFPEL), RS, Brasil; ⁸Doutora em Producción Animal pela Universitat Autònoma de Barcelona. Pós-doutoranda pela Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos, SP, Brasil.

*Autor correspondente: eduardamrangel@gmail.com.

Recebido: 01/04/2022 | Aprovado: 01/05/2022 | Publicado: 16/05/2022

Resumo: Os danos ambientais devido a um meio ambiente desequilibrado causam problemas muitas vezes irreversíveis à biota. O aumento da população desencadeia o aumento da produção industrial e do consumo, sendo que muitas vezes tanto as indústrias como os indivíduos não descartam de forma correta seus resíduos, causando contaminação no ar, solo e água. Na água os contaminantes podem sofrer o processo de bioacumulação e biomagnificação, chegando aos seres humanos através do consumo de peixes, por exemplo. O metilmercúrio é uma forma tóxica do mercúrio, sendo altamente poluente e contaminante quando em contato com os seres vivos. O objetivo desta pesquisa foi o de verificar o padrão de interação entre o metilmercúrio e a hemoglobina do peixe *Brycon cephalus* através de *docking* molecular. A energia livre de ligação obtida para o complexo hemoglobina-metilmercúrio foi de -2.0 kcal/mol. Seis aminoácidos da hemoglobina foram envolvidos na ligação com o metilmercúrio, sendo eles: Valina, Serina, Leucina Arginina e Fenilalanina. O *docking* molecular indicou a tendência de ligação do mercúrio à hemoglobina *Brycon cephalus* que pode gerar danos ao metabolismo. Assim, novos experimentos complementares (in vitro e in vivo) devem ocorrer para avaliar o possível efeito tóxico do metilmercúrio sobre essa espécie.

Palavras-chave: Contaminantes. Mercúrio. Peixes. Toxicidade.

Abstract: Environmental damage due to an unbalanced environment causes problems that are often irreversible for the biota. The increase in population triggers an increase in industrial production and consumption, and often both industries and individuals do not properly dispose of their waste, causing contamination in the air, soil and water. In water, contaminants can undergo the process of bioaccumulation and biomagnification, reaching humans through the consumption of fish, for example. Methylmercury is a toxic form of mercury, being highly polluting and contaminating when in contact with living beings. The objective of this research was to verify the pattern of interaction between methylmercury and hemoglobin in the fish *Brycon cephalus* through molecular docking. The binding free energy obtained for the hemoglobin-methylmercury complex was -2.0 kcal/mol. Six hemoglobin amino acids were involved in binding to methylmercury, namely: Valine, Serine, Leucine Arginine and Phenylalanine. Molecular docking indicated the tendency of mercury to bind to hemoglobin *Brycon cephalus*, which can damage metabolism. Thus, new complementary experiments (in vitro and in vivo) should occur to evaluate the possible toxic effect of methylmercury on this species.

Keywords: Contaminants. Mercury. Fishes. Toxicity.

Resumen: El daño ambiental debido a un entorno desequilibrado provoca problemas que a menudo son irreversibles para la biota. El aumento de la población desencadena el aumento de la producción y el consumo industrial, y muchas veces tanto las industrias como los particulares no disponen correctamente de sus residuos, provocando la contaminación en el aire, el suelo y el agua. En el agua, los contaminantes pueden sufrir el proceso de bioacumulación y biomagnificación, llegando a los humanos a través del consumo de pescado, por ejemplo. El metilmercurio es una forma tóxica del mercurio, siendo altamente contaminante y tóxico en contacto con los seres vivos. El objetivo de esta investigación fue verificar el patrón de interacción entre el metilmercurio y la hemoglobina en el pez *Brycon cephalus* mediante acoplamiento molecular. La energía libre de unión obtenida para el complejo hemoglobina-metilmercurio fue de $-2,0$ kcal/mol. Seis aminoácidos de la hemoglobina participaron en la unión al metilmercurio, a saber: valina, serina, leucina, arginina y fenilalanina. El acoplamiento molecular indicó la tendencia del mercurio a unirse a la hemoglobina *Brycon cephalus*, lo que puede dañar el metabolismo. Por lo tanto, deberían ocurrir nuevos experimentos complementarios (in vitro e in vivo) para evaluar el posible efecto tóxico del metilmercurio en esta especie.

Palabras-clave: Contaminantes Mercurio. Peces. Toxicidad.

1 INTRODUÇÃO

Os peixes possuem alto valor nutricional e é uma parte importante da dieta saudável de muitas pessoas. Além de fornecer proteínas de alta qualidade, esses animais também são uma excelente fonte de nutrientes essenciais, como vitaminas A e D, selênio, iodo, ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico (Chan *et al.*, 2018).

Uma ameaça a esses animais é o mercúrio (Hg), substância altamente tóxica, sendo facilmente encontrada no meio ambiente nas formas elementar (Hg^0 ou metálico); inorgânica (Hg^{-i}) e orgânica (Hg^{-o}). As bactérias nos sedimentos de corpos d'água transformam mercúrio elementar e inorgânico em metilmercúrio, que é uma poderosa neurotoxina para organismos aquáticos, como é o caso dos peixes (Hsu-Kim *et al.*, 2013).

O MeHg se bioconcentra nos plânctons e viaja pela cadeia alimentar, concentrando-se em certas espécies de peixes sendo que as concentrações de MeHg em seus tecidos musculares aumentam em níveis tróficos mais elevados (Donald; Wissel & Anas, 2015; Schartup *et al.*, 2017). Este fato tornou a intoxicação por MeHg um problema de saúde pública por muitas décadas. A população em geral está exposta principalmente ao MeHg através do consumo de peixes e mamíferos marinhos contaminados (Li; Feng & Qiu, 2010), sendo este capaz de biomagnificar no ecossistema e afetar negativamente toda a biota (Gimenes *et al.*, 2021).

Após a ingestão humana de peixes contaminados com metilmercúrio, até 95% é absorvido no intestino e depois transportado para o sangue, onde pode atravessar a barreira hematoencefálica (Moriarty; Liberda & Tsuji, 2020).

Nessa perspectiva, a matrinxã (*Brycon cephalus*), peixe teleosteo encontrado na Amazônia brasileira e amplamente cultivada no Brasil em função do seu sabor e alta qualidade proteica (Lima, 2003; Gadelha & Araújo, 2013; Bedoya-Serna *et al.*, 2018). A matrinxã é onívoro, alimentando-se de sementes, frutos, flores, plantas herbáceas, restos mortais, restos de peixes, aracnídeos, anelídeos e insetos (Pizango-Paima *et al.*, 2001; Bedoya-Serna *et al.*, 2018). Além disso, a espécie é muito promissora para a piscicultura, pois possui fácil adaptação à alimentação, alta fecundidade e rápido crescimento (Gadelha & Araújo, 2013; Bedoya-Serna *et al.*, 2018).

Diante desta problemática o objetivo desta pesquisa é verificar através da ferramenta *Docking molecular* a probabilidade de interação entre o metilmercúrio e a hemoglobina do peixe *Bryconcephalus*.

2 METODOLOGIA

Primeiramente, selecionou-se a oxo-hemoglobina de *Bryconcephalus* no banco de dados Protein Data Bank (PDB ID 3BCQ) (Berman *et al.*, 2000), pela pesquisa do nome científico da espécie para refinamento de busca. A estrutura química do metilmercúrio foi obtida no banco de dados PubChem (PubChemID: 6860) (Bolton *et al.*, 2008) e tridimensionalizada com os programas OpenBabel (O'boyle *et al.*, 2011) e Avogadro (Hanwell *et al.*, 2012). Através do *software* UCSF ChimeraX (Pettersen *et al.*, 2004) removeu-se heteroátomos da proteína e com o *AutoDock Tools* preparou-se a proteína (retirando-se a informação das moléculas de água, adicionando-se hidrogênios polares e cargas de Kollman) e o ligante metilmercúrio (atualização de cargas de Gasteiger e de TORSDOF).

A análise de *dedocking* molecular foi realizada pelo AutoDockVina (Trott; Olson, 2010). Procedeu-se um “*blinndocking*”, que consiste em realizar a cobertura de toda a proteína e aumentar o parâmetro *exhaustiveness*. Para a realização das simulações de *docking*, foram utilizadas as configurações presentes na Tabela 1. Para conversão em formato PDB utilizou-se o PyMol (Schrödinger, 2015) e para a análise de ligação em resíduos específicos o LigPlot + (Wallace; Laskowski; Thornton, 1995).

Tabela 1 - Resumo dos parâmetros de *docking* no Auto DockVina.

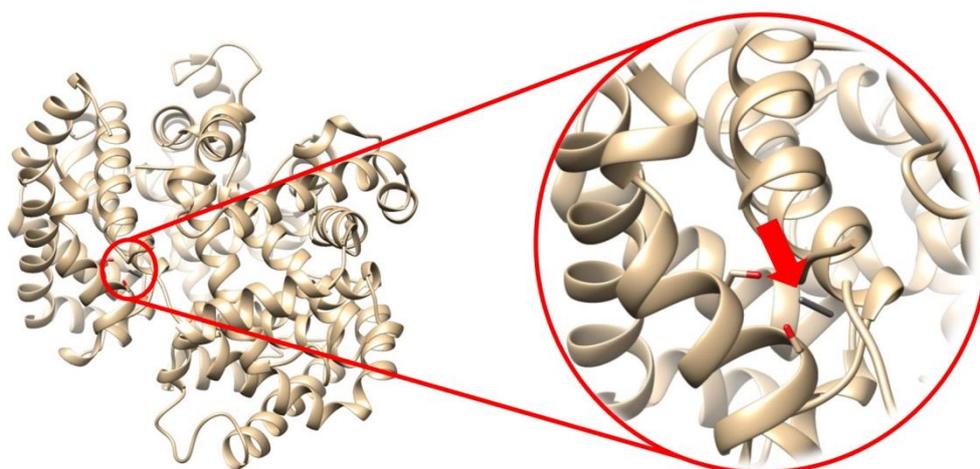
	Tamanho da caixa de grade	Coordenadas do centro da caixa de grade	<i>Exhaustiveness</i>
3BCQ	x: 58; y: 54; z: 56	x: -7.641; y: 0.259; z: 23.767	500

Fonte: Autores

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A energia livre de ligação obtida para o complexo hemoglobina-metilmercúrio foi de -2.0 kcal/mol. Seis aminoácidos da hemoglobina foram envolvidos na ligação com o metilmercúrio, sendo eles: Valina 198, Serina 93 e Serina 143, Leucina 142, Arginina 144 e Fenilalanina 103. O complexo formado entre a hemoglobina de *Bryconcephalus* e o metilmercúrio é mostrado na Figura 1.

Figura 1- Ancoragem molecular entre hemoglobina de *Brycon cephalus* (em bege) e metilmercúrio (barra cor de chumbo indicada na seta).



Fonte: Autores

Ao se considerar a função essencial da hemoglobina no que se refere ao carregamento de gases respiratórios, a interação do metilmercúrio com essa estrutura poderá representar um comprometimento sistêmico da fisiologia desses animais. Contudo, é necessário realizar testes complementares (*in vitro* e *in vivo*) a fim de verificar se a interação verificada *in silico*, através do *docking*, refletirá em danos sistêmicos nesses animais.

Segundo o estudo realizado por Gimenes, Penteadó, Santos & Júnior (2021) na Amazônia, os peixes onívoros têm a maior concentração de MeHg. Então, é possível que o metilmercúrio possa interagir com diversos tecidos desses animais, inclusive com o tecido sanguíneo através da hemoglobina como demonstrado na análise de *docking molecular*.

É comumente assumido que a maior parte (>95%) do mercúrio (Hg) encontrado no músculo do peixe é a forma tóxica, metilmercúrio (MeHg), devido à sua assimilação eficiente e retenção no tecido biótico (Lescord *et al.*, 2018).

4 CONCLUSÃO

O mercúrio é um dos contaminantes ambientais que causa preocupação para todos os pesquisadores e têm ganhado atenção nos últimos anos devido às consequências para o meio ambiente e para saúde humana e animal. Meios, métodos e tecnologias de remediação são necessários para reverter este cenário. O *docking* molecular demonstrou ser uma ferramenta útil para compreender de modo mais detalhado como o contaminando se liga ao sistema biológico do peixe, que associada com metodologias *in vitro* e *in vivo* pode prever efeitos biológicos de contaminantes. Assim, o *docking* pode representar uma forma rápida e de baixo custo para auxiliar em pesquisas simulando os contaminantes e sua ação nos organismos vivos.

Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo.

Contribuições dos autores

Eduarda Medran Rangel (autora correspondente); Estela Fernandes e Silva; Daiana Kaster Garcez; Karine LasteMacagnan; AdrizeMedran Rangel; Louise Vargas Ribeiro; Paula Fernandes e Silva; Tainã Figueiredo Cardoso - Contribuição: Conceituação; Análise Formal; Investigação; Metodologia; Visualização; Redação – rascunho original; Redação – revisão e edição.

REFERÊNCIAS

- Berman, H. M. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Bolton, E. E., Wang, Y., Thiessen, P. A., & Bryant, S. H. (2008). PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. *Annual Reports in Computational Chemistry*, 217–241. [https://doi.org/10.1016/s1574-1400\(08\)00012-1](https://doi.org/10.1016/s1574-1400(08)00012-1)
- Chan, P. H. Y., Chan, M. H. M., Li, A. M., Cheung, R. C. K., Yu, X. T., & Lam, H. S. (2018). Methylmercury levels in commonly consumed fish and methylmercury exposure of children and women of childbearing age in Hong Kong, a high fish consumption community. *Environmental Research*, 166, 418–426. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.06.033>
- Donald, D. B., Wissel, B., & Anas, M. U. M. (2015). Species-specific Mercury bioaccumulation in a diverse fish community. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(12), 2846–2855. <https://doi.org/10.1002/etc.3130>
- Gimenes, T. C., Penteadó, J. O., dos Santos, M., & da Silva Júnior, F. M. R. (2021). Methylmercury in Fish from the Amazon Region: A Review Focused on Eating Habits. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05151-x>
- Gadelha, E. S., Araújo, J. C. (2013). Criação de Matrinxã em cativeiro. *Pubvet* 7(5).
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Hsu-Kim, H., Kucharzyk, K. H., Zhang, T., Deshusses, M. A. (2013). Mechanisms Regulating Mercury Bioavailability for Methylating Microorganisms in the Aquatic Environment: a critical review. *Environmental Science & Technology*, 47(6), 2441–2456. <http://dx.doi.org/10.1021/es304370g>.
- Lescord, G. L., Johnston, T. A., Branfireun, B. A., Gunn, J. M. (2018). Percentage Of Methylmercury In The Muscle tissue of freshwater fish varies with body size and age and among species. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 37(10), 2682–2691. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.4233>.
- Li, P., Feng, X., Qiu, G. (2010). Methylmercury Exposure and Health Effects from Rice and Fish Consumption: a review. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 7(6), 2666–2691. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph7062666>.
- Lima, F. C. T. (2003). Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: Reis, R. E, Kulander, S. O, Ferraris-Júnior, C. J., editors. *Check list of the freshwater fishes of south and Central America*. Porto Alegre: EDPUCRS; 174–181.
- Moriarity, R. J., Liberda, E. N., Tsuji, L. J. S. (2020). Subsistence fishing in the Eeyou Istchee (James Bay, Quebec, Canada): a regional investigation of fish consumption as a route of exposure to methylmercury. *Chemosphere*, 258, 127413. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127413>.

- O'boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3, 01-33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612, 10.1002/jcc.20084.
- Pizango-Paima, E. G., Pereira-Filho, M., Oliveira-Pereira, M. I. (2001). Composição corporal e alimentar do matrinxã, *Brycon cephalus*, na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 31(3), 509–520.
- Schartup, A. T.; Qureshi, A.; Dassuncao, C.; Thackray, C. P.; Harding, G.; Sunderland, E. M. (2018). A Model for Methylmercury Uptake and Trophic Transfer by Marine Plankton. *Environmental Science & Technology*, 52(2), 654-662. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.7b03821>.
- Trott, O., Olson, A. J. (2009). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Wallace, A. C., Laskowski, R. A., Thornton, J. M. (1995). LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Engineering*, 8(2), 127-34. doi: 10.1093/protein/8.2.127. PMID: 7630882.