

COMPARAÇÃO DO EFEITO DO CONTAMINANTE CLOROTALONIL NA ENZIMA GLUTATIONA S-TRANSFERASE DE EXTRATO DE FÍGADO E BRÂNQUIA DE CARPA

**SANTOS, Rodrigo; RIBEIRO, Eduardo; CANTELE, Maluare
ZANETTE, Juliano
rodrigo7887@gmail.com**

**Evento: 13ª MPU Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Ciências biológicas**

Palavras-chave: Clorotalonil; GST; *Cyprinus carpio*

1 INTRODUÇÃO

O presente estudo analisou extratos correspondentes à fração S9 de fígado e brânquia de *Cyprinus carpio* em um ensaio enzimático competitivo com clorotalonil. A partir disso, realizou-se uma análise comparativa entre os efeitos causados pelo contaminante na atividade das glutatona S-transferase (GSTs) destes dois órgãos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A carpa comum (*C. Carpio*) é um peixe abundante na região, possui expressiva importância econômica e é utilizada em estudos de toxicologia aquática (GUSTAVINO et al. 2005). As glutatona S-transferases (GSTs) compõem uma família multigênica de complexos enzimáticos de detoxificação e podem ser utilizados como biomarcadores da contaminação ambiental (SCHLENK et. al., 2008)

O clorotalonil (2,4,5,6-tetrachloroisophthalonitrile) é um composto orgânico utilizado como protetor de superfícies expostas à água e apresenta toxicidade para fauna marinha (ONDUKA, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Extratos correspondentes à fração de fígado e brânquia de *Cyprinus carpio* foram preparados e utilizados em ensaio enzimático espectrofotométrico utilizando tampão fosfato de potássio com pH 7,0, 1-cloro-2,4-nitrobenzeno (CDNB) e Glutatona reduzida (GSH) na concentração 0,1 M e pH 7,0 de acordo com KEEN (1976).

Para o ensaio enzimático utilizou-se a temperatura constante em 30°C, e o tempo de ensaio estabelecido de 3 minutos. Para o ensaio competitivo, a concentração saturante de CDNB (1,2mM) foi escolhida para avaliar o efeito competitivo do contaminante clorotalonil na atividade da GST utilizando-se de DMSO (dimetil sulfóxido; 1%) como solvente. Os valores das médias das atividades enzimáticas foram comparados utilizando ANOVA - Tukey ($p < 0.05$).

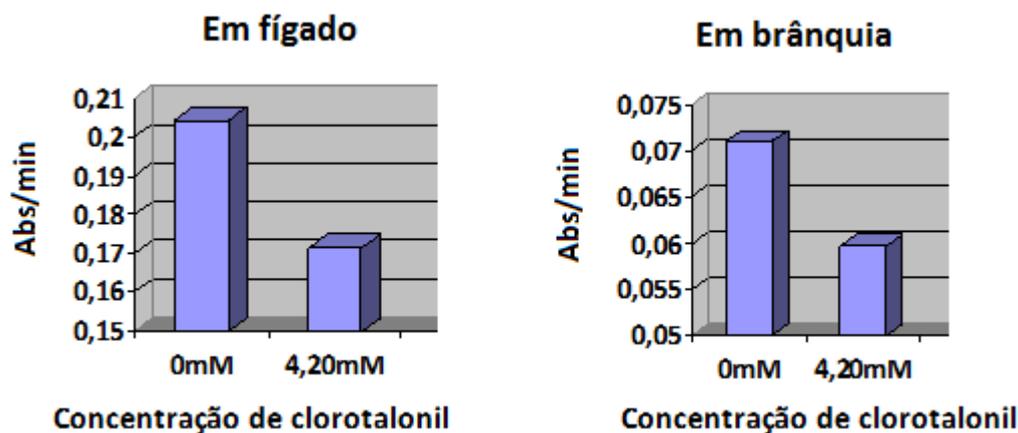
4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A concentração saturante do substrato CDNB é usualmente escolhida para ensaios competitivos *in vitro* (FERNANDES, 2001). Um estudo anterior do nosso grupo de pesquisa confeccionou uma curva de atividade das GSTs em função do CDNB para uma amostra do extrato S9 de brânquia de carpa. A partir desta curva, foi possível estabelecer o valor da concentração saturante, sendo esta a concentração necessária para se atingir a velocidade máxima da enzima (NELSON,

2000), conforme este conceito, 1,2 mM de CDNB.

Analisando os dados da Figura 1, pode-se concluir que o grau de inibição para do clorotalonil em fígado é equivalente ao de brânquia. Na concentração de 4,2mM de clorotalonil, o extrato de brânquia mostrou a mesma porcentagem de redução do fígado, 16%.

Figura 1 – Absorbância por minuto em fígado e brânquia em diferentes concentrações de clorotalonil.



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a inibição no extrato de fígado foi igual àquela observada em extrato de brânquia. Isto indica haver concentração equivalente das isoformas de GSTs atuantes tanto no tecido branquial do peixe quanto no hepático. A partir destes resultados, compreende-se que ambos os órgãos têm a mesma capacidade de detoxificar o composto através de suas enzimas, tal informação serve de subsídio para posteriores estudos toxicológicos *in vivo*.

6 REFERÊNCIAS

FERNANDES, E. M. A. **Avaliação da Toxicidade de Cianobactérias para Brachydanio**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Curso de pós Graduação em Ecologia Aplicada, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

GLISIC, B.; MALJEVIC, I.; POPOVIC, M.; ZAJA, R.; LONCAR, J.; FENT, K.; KOVACEVIC, R.; SMITAL, T. Characterization of glutathione-S-transferases in zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v.158, p.50-62, 2015.

GUSTAVINO, B.; BUSCHINI, A. Modulating effects of humic acids on genotoxicity induced by water disinfectants in *Cyprinus carpio*. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.587(1), p.103-113, 2005.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione-S-transferases. **J. Biol. Chem**, v.251(20), p.6183-6188, 1976.

NELSON, D. L.; COX, M. Lehninger – Princípios de Bioquímica. São Paulo. Sarvier, 2002.

ONDUKA, T.; KAKUNO, A.; KONO, K.; ITO, K.; MOCHIDA, K. Toxicity of chlorothalonil to marine organisms. **Fisheries Science** 78.6, p.1301-1308, 2012

SCHLENK, D.; CELANDER. Biotransformation in Fishes. In: Di Giulio RT, Hinton DE, editors. **The Toxicology of Fishes**. CRC press; New York: p.153–234, 2008.