

**Análise comparativa da inibição causada pelo clorotalonil e o MS-222 na
atividade enzimática das GSTs de peixe *in vitro***

**RIBEIRO, Eduardo Silveira; SANTOS, Rodrigo; CANTELE, Maluare
ZANETTE, Juliano
eduardosilveiraribeiro@yahoo.com**

**Evento: 14ª Mostra da Produção Universitária
Área do conhecimento: Ciências Biológicas, Bioquímica**

Palavras-chave: GST; *Cyprinus carpio*; cinética enzimática

1 INTRODUÇÃO

Neste experimento, extratos correspondentes à fração S9 de fígado de *Cyprinus carpio* foram utilizados em um ensaio enzimático competitivo a fim de se fazer uma análise comparativa entre os efeitos causados pelo anestésico MS-222 e o clorotalonil na atividade das glutathione S-transferase (GSTs) contidas nos extratos S9.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A carpa comum (*C. Carpio*) é um peixe de grande importância econômica, sendo bastante utilizado em piscicultura. Além disso, essa espécie vem sendo utilizada também em estudos de toxicologia aquática (GUSTAVINO et al. 2005).

Contaminantes ambientais podem ser biotransformados por enzimas em peixes. As GSTs compõem uma família multigênica de enzimas de detoxificação. Diversos substratos são metabolizados pelas GSTs, incluindo xenobióticos tóxicos que são conjugados por estas enzimas (GLISIC et al. 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

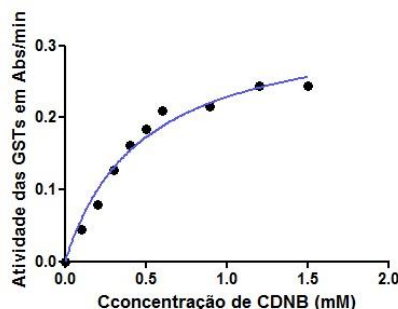
Extratos correspondentes à fração S9 de fígado de *C. carpio* foram preparados e utilizados em ensaio enzimático espectrofotométrico utilizando tampão fosfato de potássio com pH 7,0, 1-cloro-2,4-nitrobenzeno (CDNB) e Glutathione reduzida (GSH) na concentração 0,1 M e pH 7,0 de acordo com KEEN (1976).

Para o ensaio enzimático utilizou-se a temperatura constante em 30 °C, e três minutos de ensaio. As concentrações de CDBN testadas foram de 0,1 a 1,5 mM. Para o ensaio competitivo, a concentração saturante de CDBN foi escolhida para avaliar o efeito competitivo do anestésico MS-222 (concentrações de 0, 0,5 e 2 mM), assim como o do clorotalonil (concentrações de 0, 0,42 e 4,2 mM) na atividade das GSTs. Os valores das médias das atividades enzimáticas foram comparadas utilizando ANOVA -Tukey ($p < 0.05$).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

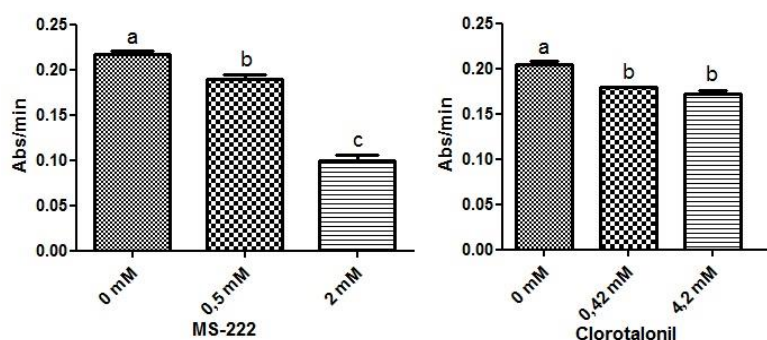
Ensaio competitivo *in vitro* com a enzima GST, normalmente utilizam apenas a concentração saturante do substrato CDBN em conjunto com concentrações variáveis de outros substratos competidores a serem testados (FERNANDES, 2001). Logo, a partir da Figura 1 pode-se determinar a concentração saturante de CDBN como sendo de aproximadamente 1,2 mM.

Figura 1 - Atividade enzimática das GSTs em fígado de peixe *Cyprinus Carpio* para diferentes concentrações do substrato CDBN.



A partir de uma análise dos dados da Figura 2, pode-se concluir que o grau de inibição para o MS-222 é dose dependente, o mesmo não ocorre com o clorotalonil. Entretanto, para se conseguir aproximadamente 15 % de inibição, as concentrações necessárias de tais substâncias são bem próximas, aproximadamente 0,5 mM do MS-222 (que causou 12,9 % de inibição) e 0,42 mM de clorotalonil (que causou 15% de inibição).

Figura 2 - Atividade enzimática do extrato S9 de fígado dos grupos controle e expostos a 0,5 e 2 mM de MS-222 e 0,42 e 4,2 mM de Clorotalonil na concentração de 1,2 mM de CDNB. Letras iguais representam ausência de diferença estatística.



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que apesar de em um primeiro momento as concentração serem parecidas para se atingir certo grau de inibição, o MS-222 tem uma interação bem mais significativa com as GSTs que o clorotalonil em concentrações maiores ou iguais a 2 mM.

REFERÊNCIAS

FERNANDES, E. M. A. **Avaliação da Toxicidade de Cianobactérias para Brachydanio rerio utilizando ensaios a diferentes níveis de organização biológica**. 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.; MONFRINOTTI, M.; RIZZONI, M.; TANCIONI, L.; POLI, P.; ROSSI, C. 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.