

RELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM BRÂNQUIA E EM FÍGADO DE *Cyprinus carpio* EM ENSAIO ENZIMÁTICO COMPETITIVO COM GLUTATIONA S-TRANSFERASE NA AVALIAÇÃO DA AFINIDADE POR BENZO[a]PIRENO

CANTELE, Maluare; RIBEIRO, Eduardo Silveira; SANTOS, Rodrigo ZANETTE, Juliano
maluarecantele@gmail.com

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

Palavras-chave: Benzo[a]pireno; *Cyprinus carpio*; Glutathione S-transferase

1 INTRODUÇÃO

Foram utilizadas técnicas de ensaio enzimático a fim de realizar um ensaio competitivo e evidenciar o nível de interação existente entre as enzimas de Glutathione S-transferase de brânquia e fígado de *Cyprinus carpio* com benzo[a]pireno.

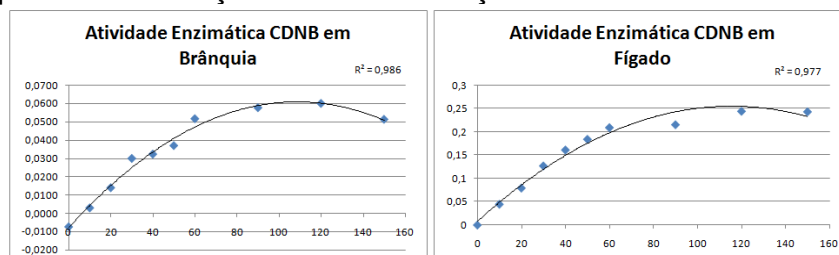
2 REFERENCIAL TEÓRICO

O benzo[a]pireno (BaP) é um composto carcinogênico e de alta toxicidade pertencente aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) (BARTELL, 1996). Entretanto, os seres vivos possuem alguns mecanismos de defesa contra estes compostos, como as Glutathione S-transferases (GSTs), que compõem uma família multigênica de enzimas de detoxificação (YASGAR et al., 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Extratos correspondentes à fração citosólica S9 de brânquias e fígado de *Cyprinus carpio* foram preparados e utilizados em ensaio enzimático espectrofotométrico utilizando tampão fosfato de potássio com pH 7,0, 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e Glutathione reduzida (GSH) na concentração 0,1 M e pH 7,0 de acordo com KEEN (1976). A formação do conjugado foi monitorada em 340 nm durante 3 minutos a 30 °C. Para a escolha das concentrações de CDNB utilizadas, realizou-se um ensaio com várias concentrações que variaram de 0,1 a 1,5 mM (Figura 1).

Figura 1. Concentrações de CDNB de 0,1 a 1,5 mM em brânquia e em fígado para determinação das concentrações saturante e km.



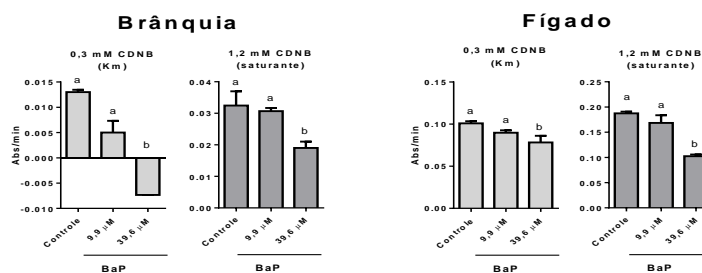
Fonte: Os autores

Para o ensaio competitivo, concentrações Km (0,3 mM) e saturante (1,2 mM) de CDNB foram escolhidas para avaliar o efeito competitivo com BaP (concentrações de 0, 9,9 e 39,6 µM) na atividade da GST. O BaP utilizado no ensaio competitivo foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) em uma concentração final de 1% de DMSO. Para realizar o branco (concentração 0 de BaP), foi utilizado o mesmo volume de DMSO que o utilizado nos testes com as outras concentrações de BaP. As médias de atividade enzimática para as diferentes condições testadas foram analisadas por ANOVA -Tukey ($p < 0.05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que a atividade enzimática basal em fígado é maior do que em brânquia, o que indica que o fígado possui isoformas com maior afinidade pelo composto ou possui maiores níveis de GSTs (Figura 2).

Figura 2 – Atividade enzimática da GST para diferentes concentrações de CDNB e de BaP para brânquia e fígado de carpa.



Fonte: Os autores

Além disso, observou-se que a resposta inibitória é dose-dependente para as concentrações de BaP, visto que a menor concentração de BaP não apresentou inibição em nenhuma das análises, enquanto a maior concentração utilizada causou uma inibição da GST nas duas concentrações de CDNB em brânquia e em fígado. Pode-se supor que esta inibição na atividade para o substrato CDNB seja causada por haver competição com o BaP ao nível de sítio catalítico das enzimas GST.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o contaminante BaP inibe a atividade da GST de forma dose-dependente e que a atividade enzimática é maior em fígado do que em brânquia.

REFERÊNCIAS

- BARTELL, S. M. Some thoughts concerning quotients, risks, and decision making, Human and Ecological Risk Assessment. **Spogli Riviste**, Amherst, v.2, n.1, p. 25-29, 1996.
- KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione-S-transferases. **The Journal Of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p.6183-6188, 1976.
- YASGAR A.; SHULTZ J.; ZHOU W.; WANG H.; HUANG F.; MURPHY N.; ABEL E. A.; DIGIOVANNI J.; INGLESE J.; SIMEONOV A. A High-Throughput 1,536-Well Luminescence Assay for Glutathione S-Transferase Activity. **Assay and Drug Development Technologies**, v.8, n. 2, p. 200-211,2010.