

CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA E TOXICOLÓGICA DA CARBOXILESTERASE EM GIRINOS DE *Scinax fuscovarius*

Lima, D.; Stefani Margarido, T.C.; Zazeri Leite, P.; Rossa-Feres, D.; Almeida, E.A.

IBILCE – UNESP – São José do Rio Preto

daina_qa@yahoo.com.br; ealmeida@ibilce.unesp.br

A inibição de esterases, dentre elas a carboxilesterase (CbE) é utilizada como biomarcadora de exposição a pesticidas organofosforados (OP) e carbamatos (CM) em diversos modelos animais, visto que estes compostos inibem significativamente sua atividade. Anfíbios anuros são animais que durante a fase inicial de vida são exclusivamente aquáticos (girinos), e podem estar sujeitos a contaminantes aquáticos. Poderiam, portanto, ser potenciais organismos sentinela em estudos de diagnóstico da contaminação aquática por pesticidas. Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a utilidade da CbE como biomarcadora de exposição a OPs, em girinos de *Scinax fuscovarius*. Como não existem estudos sobre atividade da CbE em girinos, a atividade desta enzima foi previamente caracterizada e os ensaios otimizados. Girinos foram coletados em lagos próximos da cidade de São José do Rio Preto, e posteriormente homogeneizados e centrifugados em tampão na presença e ausência de um detergente não iônico, o Triton X-100, para verificar a presença de esterases unidas às membranas. Diversos volumes de amostra, substrato (feniltioacetato) e pH de ensaio foram testados para otimização dos ensaios. A atividade da enzima aumentou de acordo com a concentração do substrato, não sendo obtida saturação por substrato, mesmo na maior concentração testada (12 mM). Vimos também que a atividade aumentou significativamente de acordo com o pH, porém a taxa de auto-hidrólise do substrato acima de pH 8,5 foi alta, ficando o pH de 8,0 estabelecido como ideal para o ensaio. Esta enzima foi também avaliada em animais de 4 estágios de desenvolvimento distintos, onde verificamos um decréscimo gradativo e significativo da atividade de acordo com o desenvolvimento, indicando a importância de se avaliar animais em um mesmo estágio de desenvolvimento em estudos ambientais. Testes de inibição da CbE com PMSF (inibidor geral das esterases), iso-OMPA (inibidor das Butirilcolinesterases (BChE) e o OP diazinon foram realizados na seqüência. Tanto o Triton X-100 como o PMSF e iso-OMPA não causaram efeitos na CbE; não há, portanto, interferência da BChE no ensaio. Concentrações crescentes de diazinon causaram uma inibição dose dependente da CbE, que mostrou-se totalmente inibida a partir de 10 mM do pesticida. Testes de reativação da enzima inibida após tratamento com a oxima 2-PAM (piridina-2-aldoxima metacloreto) foram feitos. As oximas são compostos que tem maior afinidade pelo fosfato do OP, deslocando-o do sítio ativo da enzima e assim reativando-a. Extratos tratados com diazinon a 10 mM tiveram inibição de 100% da atividade da CbE, sendo que cerca de 70% foi recuperada após o tratamento com 1 mM do 2-PAM. Estes resultados indicam que a avaliação da CbE em girinos pode ser uma ferramenta útil em estudos de diagnóstico da contaminação aquática por OPs, visto que esta enzima apresentou-se em níveis bastante mensuráveis e grande sensibilidade ao diazinon. Estudos de reativação com 2-PAM podem ser úteis na identificação da classe de pesticida que o animal foi exposto (OP), uma vez que esterases inibidas por CMs não são reativadas por este composto.

Apoio: FAPESP.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.