EFEITO DE EXTRATOS DE AÇAÍ E PITANGA NA ATIVIDADE DA GLUTATIONA-S-TRANSFERASE EM FIGADO DE RATO

Maria Carolina Neves de Souza¹; Diego Nascimento de Jesus²; Taís da Silva Rosa³ & Cristiane Martins Cardoso de Salles⁴.

¹ Bolsista PIBIC, Discente do curso de Medicina Veterinária, IV/ UFRRJ; ² Discente do curso de Ciências Biológicas, IB/UFRRJ; ³ Aluna da Pós-Graduação em Química UFRRJ; ⁴ Professora do DEQUIM/ ICE/ UFRRJ

Palavras-chave: frutas; glutationa S-transferase; fitoquímicos; modulação

Introdução

O projeto tem como objetivo avaliar os efeitos dos extratos etéreos de açaí e pitanga na atividade da enzima Glutationa S- transferase (GST), presente em fígado de rato. Glutationa-S- transferases é uma das famílias de proteínas que atuam na fase II do processo de desintoxicação, na eliminação de vários compostos orgânicos, tornando-os mais hidrossolúveis e facilitando a excreção. Atualmente, estudos comprovam que essa família proteica é muito importante contra o estresse oxidativo e câncer. Desse modo, a pesquisa com extratos vegetais para avaliar o seu grau de interferência na atividade da enzima GST torna-se muito importante para desenvolver e direcionar medidas que potencializem essa atividade e proteja o organismo animal de diversas patologias, uma vez que eles apresentam flavonoides em sua composição, que são substâncias capazes de realizar essa modulação enzimática, de acordo com vários estudos já descritos na literatura. O açaí e a pitanga, por suas propriedades antioxidantes, foram os vegetais escolhidos para o início desse projeto.

Metodologia

A metodologia de pesquisa utilizada seguiu o protocolo segundo Habig et al. (1974). A atividade da enzima GST solúvel de fígado de rato foi determinada a partir da utilização de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno como substrato, com leitura de absorvância em 340nm. Para avaliar o efeito dos compostos presentes nas frutas na atividade da GST foram utilizados os extratos em éter etílico (etéreo) de açaí e de pitanga. A atividade controle da enzima foi determinada sem a adição de extratos das frutas. Foram utilizadas concentrações crescentes do substrato para se avaliar a cinética enzimática na ausência e na presença dos extratos. Dessa forma, a partir das concentrações de 10 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 60 ; 75 ; 100 mM de CDNB e das respectivas atividades enzimáticas nessas condições foi possível determinar o $K_{\rm M}$ e a velocidade máxima ($V_{\rm máx}$) da enzima nas condições experimentais e no controle, a fim de compará-las.

Resultados e Discussão

No total dos ensaios realizados, foi possível observar que os extratos de açaí e de pitanga inibem a atividade da GST, sendo que a média dessa inibição foi de 7,68 % com a utilização do extrato de açaí, e 28,06% com o extrato de pitanga. Além disso, a partir da análise cinética das reações, foram obtidos os resultados de $K_{\rm M}$ e de $V_{\rm máx}$ para os ensaios na ausência e na presença dos extratos etéreos de açaí e de pitanga, respectivamente. Os valores de $K_{\rm M}$ foram 3,11; 4,83 e 9,46 mM , respectivamente , e os valores de $V_{\rm máx}$ foram 79,33 ; 57,39 e 78,90 mmol.min $^{-1}$.mg ptn $^{-1}$, respectivamente. Dessa forma, a partir da comparação desses parâmetros cinéticos podemos concluir que o extrato etéreo de açaí determina uma inibição não-competitiva na atividade da enzima GST, enquanto que o extrato etéreo de pitanga determina uma inibição competitiva.

Conclusão

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que ambos os extratos analisados são capazes de inibir a atividade da enzima GST. O extrato etéreo de acaí apresenta substâncias que não se assemelham ao substrato, mas que são capazes de se ligarem a outro sítio da enzima impedindo a formação do produto, modulando a reação, e dessa forma, essas promovendo a redução da V_{máx} da reação de formação do produto sem alterar a afinidade da enzima pelo substrato. Por outro lado, o extrato etéreo de pitanga possivelmente apresenta substâncias que se assemelham ao substrato, dessa forma são capazes de se ligarem ao sítio ativo da enzima, impedindo que haja a ligação do substrato e, consequentemente, formação do produto, então, essas substâncias alteram a afinidade da enzima pelo substrato. No entanto, sua V_{máx} não é alterada devido ao fato de que o aumento da concentração do substrato determina a ligação do mesmo no sítio ativo em virtude da competição entre essas moléculas. Dessa forma, para a conclusão do trabalho, consideramos que a principal importância dos resultados obtidos é que esses extratos não podem ser utilizados com a finalidade de potencializar a metabolização de agentes genotóxicos, uma vez que ela é estritamente dependente da atividade dessa enzima. Então, nosso principal objetivo foi cumprido, a partir da identificação do tipo de modulação que esses extratos realizam sobre a enzima, e a aplicação prática disso é que deve-se buscar outros tipos de extratos ou diferentes matérias primas para potencializar a atividade da GST e, consequentemente, garantir a metabolização de agentes genotóxicos.

Referências Bibliográficas

FERREIRA, Isabel Crf; ABREU, Rui Mv. Stress oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Sociedade Portuguesa de Bioanalistas da Saúde,** Bragança, n. 2, p.32-39, jul. 2007

TOWNSEND, Danyelle M; TEW, Kenneth D. The role of glutathione-s-transferase in anti-cancer drug resistance. **Nature**, New York, v., n. 22, p.7369-7375, jan. 2003.

VIZZOTTO, Márcia. Fitoquímicos em pitanga: seu potencial na prevenção e combate à doenças. In: ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2., 2006, Pelotas. **Anais...** . Pelotas: Embrapa, 2006. p. 29 - 34.

HABIG, W.H.; PABST, M.J.; JAKOBY, W.B. Glutathione s-Transferases. The first enzymatic in mercapturic acid formation. **The J. of Biol. Chemistry**, v.249, n.22, p.7130-7139, 1974.

NELSON, David L; COX, Michael M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 1274 p.