**Efeito do extrato de cianobactéria em *GST-MAPEG* e *GST-Kappa* de zebrafish**

**RIBEIRO, Eduardo Silveira; MUHL, Mainara; SOPESKI, Mauricio da Silva; YUNES, João Sarkis**

**Zanette, Juliano**

**eduardosilveiraribeiro@yahoo.com**

**Evento: 13ª Mostra da Produção Universitária**

**Área do conhecimento: Ciências Biológicas, Bioquímica**

**Palavras-chave:** *GST*; zebrafish; *Microcystis*

1 INTRODUÇÃO

Neste experimento, peixes foram expostos a um extrato da cianobactéria *Microcystis sp.*, a fim de avaliar as respostas transcricionais de algumas isoformas de *GST* (MIC 1, MIC 3 e Kappa) no fígado e nas brânquias.

**2 REFERENCIAL TEÓRICO**

Peixes podem ser utilizados como alvos para estudos de contaminação ambiental, e também, para estudos mecanísticos em toxicologia. O zebrafish (*Danio rerio*) é muito bem descrito na literatura como um peixe modelo em estudos toxicológicos (HINTON, 2009). A vida destes peixes é afetada com a contaminação ambiental, e os sistemas bioquímicos que atuam na biotransformação destes compostos podem ser utilizados como biomarcadores ambientais (NICHOLS et al., 2006)

As glutationa S-transferases (GSTs) compõe uma família multigênica de enzimas de detoxificação, de localização citosólicas, microssomais (MAPEG) ou mitocondriais (Kappa) (Suzuki et al., 2005). Diversos substratos são metabolizados pelas *GSTs*, incluindo xenobióticos eletrofílicos tóxicos que são conjugados por estas enzimas, como por exemplo as cianotoxinas. (DI GIULIO, 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Peixes *D. rerio* adultos foram expostos por 24 h a duas concentrações ambientalmente relevantes e sub-letais de extrato de *Microcystis sp.* contendo 0, 5 e 50 ug de Microcistina-LR/L. Amostras de brânquia e fígado de *D. rerio* dos três grupos (n=15 por grupo), foram dissecados e homogeneizados para extração de RNA total com TRIzol. A qualidade e quantidade de RNA foram determinadas por eletroforese em gel e por expectrofotometria. O RNA foi transcrito reversamente para cDNA. Iniciadores específicos foram desenhados com o software Primer3 para quantificação da expressão gênica das três *GSTs* (duas microssomais e uma mitocondrial) por PCR em tempo real (qPCR). Cada amostra foi analisada em duplicata. O método E-∆Ct foi utilizado para comparar os níveis de expressão das diferentes *GSTs* em fígado e brânquia para o tratamento de MC em relação ao grupo controle. Os resultados para os grupos experimentais foram analisados quanto a sua normalidade e homocedasticidade, transformados logaritimamente se necessário. As diferenças entre os grupos experimentais foram analisados utilizando ANOVA, com teste a posteriori de Tukey, p<0.05.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Após a devida análise do gráfico abaixo (Figura 1), das *GSTs* MAPEG (MIC 1 e MIC 3) e *GST* KAPPA, constatou-se uma repressão na expressão gênica para a GST MIC 1 em brânquia, e uma indução para a *GST* KAPPA em fígado. Não houve nenhuma variação nas outras *GSTs* de acordo com a análise estatística utilizada.



Figura 1 – Expressão gênica das GSTs microssomal 1 e 3 (MIC 1 e MIC 3) e Kappa, em brânquia e fígado dos grupos controle (Control) e expostos a Mycocistis sp. (5ug.L-1 e 50ug.L-1 de MC-LR). Letras iguais representam ausência de diferença estatística (p<0.05).

Outro estudo constatou uma forte indução da *GST* Kappa em fígado, entretanto, ainda não se conhece muito bem seus mecanismos regulatórios. E ainda acredita-se que a diferença entre brânquia e fígado seria devido a diferença da concentração natural desta isoforma em casa órgão (HAO et al., 2008).

Com relação a repressão da *GST* MIC 1 alguns pesquisadores concluem que

por se tratar de um gene benéfico ao organismo ele pode ser reprimido frente a um contaminante nocivo ao organismo. Entretanto, ainda se faz necessário um estudo sobre os mecanismos regulatórios deste gene, a fim de explicar esta repressão apenas nas brânquias e não no fígado (GUIMARÂES, 2012).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se então que as isoformas *GST* MIC 3 e *GST* Kappa em brânquia não sofrem alteração frente a exposição de Microcistina, assim como as isoformas *GST* MIC 1 e *GST* MIC 3 em fígado. Entretanto, serão necessários novos estudos a fim de explicar alguns resultados, como por exemplo a forte indução da *GST Kappa*.

REFERÊNCIAS

DI GIULIO, R.T., HINTON, D.E. **The toxicology of fishes.** CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 2008.

HINTON, D.E., HARDMAN, R.C., KULLMAN, S.W., Law, J.M., SCHMALE, M.C., WALTER, R.B., WINN, R.N., YODER, J.A. **Aquatic animal models of human disease: Selected papers and recommendations from the 4th Conference. Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology.** V.149, p. 121-128, 2009.

NICHOLS, J. W., SCHULTZ, I. R. and Fitzsimmons, P. N. **In vitro-in vivo extrapolation of quantitative hepatic biotransformation data for fish. I. A review of methods, and strategies for incorporating intrinsic clearance estimates into chemical kinetic models.** *Aquatic toxicology v.*78, p. 74-90, 2006.

SUZUKI, T., TAKAGI, Y., OSANAI, H., Li, L., TAKEUCHI, M., KATOH, Y., KOBAYASHI, M., YAMAMOTO, M. **Pi class glutathione S-transferase genes are regulated by Nrf2 through na evolutionarily conserved regulatory elemento in zebrafish.** The Biochemical journal v.388, p. 65-73, 2005.

GUIMARÃES, F. S. **Avaliação Transcricional de Genes Glutationa S-Transferases Microssomais em Peixe-Zebra (*Danio Rerio*) Expostos à Microcistina.** Rio Grande: FURG, 2012.

HAO L., et al. **The effect of cyanobacterial crude extract on the transcription of GST mu, GST kappa and GST rho in different organs of goldfish (*Carassius auratus*)** Aquat. Toxicol. v.90, p. 1–7, 2008