

UTILIZAÇÃO DA CV E DE FERRAMENTAS TEÓRICAS PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE A ENZIMA CATALASE E OS ÍONS Zn(II)

Jonatas G. da Silva ^{1,2} (PG)*, Luciano P. da Silva ² (PQ), Jurandir R. de Souza ³ (PQ) e Clarissa S. Pires de Castro ¹ (PQ) jonatasgomes@unb.br

¹ LSA, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 2372, CEP 70.770-900, Brasília – DF

² LEM, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 2372, CEP 70.770-900, Brasília – DF

³ LQAA, Instituto de Química, Universidade de Brasília, CP 4394, CEP 70.919-970, Brasília – DF

Palavras Chave: Catalase, voltametria cíclica e zinco

Introdução

O zinco possui um papel antioxidante importante, pois evita a produção das espécies reativas de oxigênio (ERO), principais responsáveis pelo estresse oxidativo, no entanto, o seu excesso pode provocar a inibição da enzima catalase (CAT), que é responsável pela redução de H₂O₂ a H₂O e O₂¹ e apresenta alguns sítios de ligação para o zinco (Cys, His), levando ao estresse oxidativo. Este trabalho tem como objetivo estudar a interação dos íons Zn(II) com a CAT, em meio semelhante ao fisiológico, por voltametria cíclica (CV) e ferramentas teóricas, para determinar os parâmetros qualitativos e quantitativos do sistema (sítios de ligação, mecanismo de reação, estequiometria, K_d e E⁰).

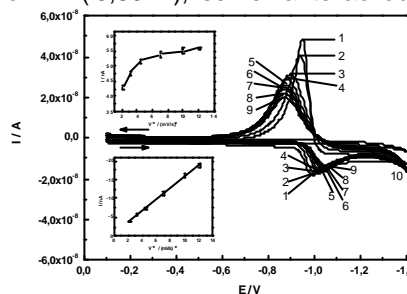
Experimental

A identificação teórica dos sítios de ligação de Zn(II) na CAT foi realizada por comparação das características físico-químicas (MM, pl e MH), determinadas com o software scale index, de peptídeos padrão que se ligam a zinco e dos peptídeos gerados na clivagem da CAT com a GluC2 e V8-proteinase, utilizando-se os softwares Cutter e Peptide Cutter, respectivamente. A concentração da solução de CAT de fígado bovino (Sigma) foi determinada por espectroscopia UV-Vis, a 280 nm, por meio da lei de Beer. As medidas voltamétricas foram realizadas em triplicata, utilizando-se o analisador voltamétrico Metrohm 797, uma célula eletroquímica composta pelos eletrodos HMDE (trabalho), Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) (referência) e platina (auxiliar) e o tampão borato pH 7,00 como eletrólito suporte.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para 100 µL de Zn(II) 1 x 10⁻³ mol L⁻¹, em 10 mL de tampão borato pH 7,00, na ausência e na presença de CAT 5,35 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Observa-se que a adição de aproximadamente 95 µL da solução de CAT provoca o decaimento completo das correntes de oxidação e redução do zinco, evidenciando a

interação do zinco com a catalase. Com base neste dado a estequiometria encontrada para o complexo foi de 20 Zn(II): 1 CAT, cujo valor esta de acordo com o número de possíveis sítios identificados para o zinco no estudo teórico (28 sítios). O K_d para o complexo foi calculado utilizando o método da titulação amperométrica² (K_d = 2,98x10⁻¹¹ mol L⁻¹) e o valor do E⁰ (-0,85 V), semelhante ao observado nos



voltamogramas, foi calculado por meio do K_d e da equação de Nernst.

Figura 1. Voltamogramas cíclicos obtidos para 100 µL de Zn(II) 1 x 10⁻³ mol L⁻¹ em 10 mL de tampão borato pH 7,0 na ausência (1) e na presença de CAT (2 a 9). Adições sucessivas de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 e 160 µL de CAT 5,35 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

Utilizando curvas do tipo I vs v^{1/2}, verificou-se que o processo de redução do zinco, na superfície do HMDE, na ausência ou na presença de catalase é controlado por difusão. Por outro lado, o processo de oxidação na ausência ou na presença de CAT é adsortivo. Com base nos voltamogramas cíclicos obtidos, concluiu-se que o processo redox na presença de CAT é quasi-reversível.

Conclusões

A estequiometria, o K_d e o E^0 determinados para o sistema Zn(II)-CAT são inéditos, pois estes parâmetros ainda não estão disponíveis na literatura. O excesso de Zn(II) no meio celular pode provocar a inibição da CAT pela formação de um complexo bastante estável, contribuindo desta maneira para o estresse oxidativo.

Agradecimentos

CENARGEN, UnB, CNPq e CAPES.

¹ Ferreira, A.L.A. et al. *Rev. Ass. Med. Brasil* **1997**, *43*, 61.

² Saroff, H.A.; Mark, H.J.; *J. Amer. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 1240.