



## CINÉTICA DA INIBIÇÃO INDUZIDA POR GLIFOSATO SOBRE A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE DE *EISENIA FOETIDA*

<sup>1</sup>Bruna Colina de Vargas, <sup>1</sup>Vivian Butzer Costa, <sup>2</sup>Sandro Moreira Tuerlinckx

A acetilcolinesterase (AChE) é uma importante enzima que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) em fendas sinápticas, resultando na regulação da condutividade elétrica no sistema neuro-muscular. Em minhocas, esta enzima é utilizada como biomarcador de exposição a pesticidas e também serve como um modelo em estudos sobre os mecanismos bioquímicos pelos quais os inibidores da AChE atuam. Com a expansão das lavouras transgênicas, o glifosato [N-(fosfonometil) glicina] tornou-se o agroquímico mais utilizado no mundo, elevando a preocupação sobre o potencial impacto ambiental desse herbicida. Embora sejam conhecidos os impactos do glifosato sobre diversas espécies, não existem dados na literatura que demonstram seus efeitos sobre as propriedades cinética da enzima AChE de *Eisenia foetida*. Este estudo avaliou os efeitos do agroquímico glifosato sobre as propriedades cinéticas da enzima acetilcolinesterase (AChE) utilizando homogeneizados de oligoquetas da espécie *Eisenia foetida*, mantidas sob condições controladas de temperatura e luminosidade. Desta forma, alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  das soluções do herbicida com a concentração final no ensaio de  $240 \mu\text{mol L}^{-1}$ , equivalente a 50% de inibição, foram adicionadas ao meio de pré-incubação, contendo tampão Tris-HCl 50  $\text{mmol L}^{-1}$ /pH 7,0 e o sobrenadante (S1) de minhoca como fonte da enzima, durante 30 minutos a  $25^\circ \text{C}$ . A atividade enzimática foi então testada com diferentes concentrações do substrato iodeto de acetiltiocolina ( $2,5 - 250 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na ausência e na presença do agroquímico. Amostras contendo o S1 de minhoca e a solução tampão sem a presença do herbicida foi utilizado com controle. Para a determinação dos parâmetros  $V_{\text{MAX}}$ ,  $K_{\text{M}}$  e  $K_{\text{I}}$  os dados foram analisados por modelos cinéticos de regressão. Foram aplicados também, o critério de Akaike (AICc) e o modelo gráfico de Lineweaver-Burk utilizando-se o módulo *Enzyme Kinetics* do software *Sigmaplot 12.0*. Os resultados mostraram que a constante de inibição ( $K_{\text{I}}$ ) para a reação enzimática na presença do glifosato foi de  $322,1 \mu\text{M}$  e que este herbicida induz um decréscimo tanto na constante de Michaelis-Menten ( $K_{\text{M}}$ ) como na máxima velocidade ( $V_{\text{MAX}}$ ) em relação à enzima acetilcolinesterase na ausência do agroquímico. Então, estes dados foram

<sup>1</sup> Discente do Curso de Enfermagem - URCAMP

<sup>2</sup> Prof Doutor do Curso de Medicina Veterinária - URCAMP

submetidos a uma avaliação pelo critério de Akaike (AICc), resultando em um valor de 222,8 com o coeficiente de determinação da equação  $R^2 = 0,925$ ; o qual indicou que a inibição induzida por glifosato sobre AChE de minhocas *Eisenia foetida* é da forma incompetitiva. A natureza da inibição enzimática foi confirmada pelo modelo de Lineweaver-Burk, indicando que o herbicida glifosato é um inibidor fraco e incompetitivo da enzima acetilcolinesterase de *Eisenia foetida*.

**Palavras-chave:** agroquímico; enzimologia; oligoquetas