



## Atividade enzimática da ecto-5'-nucleotidase em diferentes órgãos de peixe-zebra (*Danio Rerio*) adulto submetido ao lipopolissacarídeo

Jéssica Streb de Sousa, Rosane Souza da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculdade de biociências, PUCRS*

### Resumo

A adenosina exerce importante papel em processos inflamatórios. Sua disponibilidade no meio extracelular é controlada pela ação das enzimas ecto-5'-nucleotidase, adenosina desaminase e dos transportadores de nucleosídeos. Este projeto objetiva padronizar a atividade da ecto-5'-nucleotidase em diferentes órgãos de *zebrafish* e avaliar o efeito da inflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS) sobre a expressão gênica e a atividade enzimática da ecto-5'-nucleotidase. **Materiais e Métodos:** *Zebrafish* adultos (*Danio rerio*) de ambos os sexos foram submetidos à injeção intraperitoneal de LPS 10 µg/g após anestesia com tricafina (100 mg/L). Duas e 24 horas pós-injeção (hpi) de LPS os animais tiveram o intestino, rim, coração e encéfalo retirados para as análises moleculares e bioquímicas (CEUA 14/00417). Para confirmar o efeito do LPS nos diferentes grupos, a expressão gênica de marcadores inflamatórios (*cox-2* e *tnf-α*) foi realizada por qRT-PCR. A padronização da hidrólise extracelular de AMP em intestino, coração e rim foi realizada com uma curva de concentração de proteínas (1- 7 µg) e uma curva de tempo de incubação (5-60 min). Após, a atividade de hidrólise de AMP foi avaliada nos diferentes tecidos de animais tratados com LPS, bem como, a expressão gênica da ecto-5'-nucleotidase através de qRT-PCR. **Resultados:** A expressão gênica de TNF-α foi aumentada no coração [p = 0,0468] e rim [p <0,0001], após 2 hpi de LPS, retornando a níveis semelhantes ao controle 24 hpi. A expressão de TNF-α não foi alterada no intestino e encéfalo em comparação ao grupo controle. A expressão de Cox-2 foi aumentada somente no rim após 2 hpi de LPS [p = 0,0185]. As condições ideais para a hidrólise extracelular de AMP foram 5 µg de proteínas para o intestino e 3 µg para coração e rins e 30 min de tempo de incubação com o substrato para todos os órgãos. A atividade de hidrólise de AMP sofreu um aumento significativo nas

amostras de coração de animais submetidos a 24 hpi de LPS (72% em relação ao controle [ $p = 0,0328$ ]), não havendo alterações nos demais órgãos [ $p > 0,05$ ]. A análise preliminar da expressão gênica da enzima ecto-5'-nucleotidase não foi alterada pela exposição ao LPS em nenhum dos tecidos. **Conclusões:** Estes dados preliminares indicam que o *zebrafish* responde ao LPS, alterando a expressão de marcadores de inflamação, em especial o *tnf- $\alpha$* , e que o processo inflamatório parece ser acompanhado pelo aumento da hidrólise de AMP, pelo menos no coração.

### **Palavras-chave**

*Zebrafish*; Inflamação; expressão gênica; hidrólise de nucleotídeos