

INACTIVACIÓN DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA DE COBRE Y ZINC (CuZnSOD) POR EL PEROXINITRITO

Alvarez, B.¹, Demicheli, V.¹, Duran, R.², Trujillo, M.³, Cerveñansky, C.² y Radí, R.³

¹Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UdelaR), Uruguay

²Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

³Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina (UdelaR).

La CuZnSOD, enzima citosólica que cataliza la dismutación de superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrógeno y oxígeno está vinculada a la esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad neurodegenerativa en la cual el peroxinitrito, producto de la reacción entre los radicales óxido nítrico y superóxido, también tendría un rol. Para investigar las interacciones de la CuZnSOD humana con el peroxinitrito se expresó un plásmido que codifica la CuZnSOD humana "wild type" (donado por el Dr. J. Beckman) en *E. coli*, y se purificó la enzima recombinante. Cuando la CuZnSOD fue expuesta a peroxinitrito, su actividad decayó en forma creciente al aumentar la concentración de peroxinitrito, necesiéndose $\approx 100 \mu\text{M}$ de peroxinitrito para inactivar 50% de CuZnSOD ($5 \mu\text{M}$). Tanto el NO_2^- como el H_2O_2 , posibles contaminantes del peroxinitrito, protegieron a la CuZnSOD de la inactivación. La inactivación fue mayor a pH alcalino, lo que sugiere que la especie reactiva es el anión peroxinitrito. Se determinó la constante de segundo orden de la reacción directa entre el peroxinitrito y la CuZnSOD utilizando un espectrofotómetro de flujo detenido, encontrándose un valor de $(9.4 \pm 1.0) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ por monómero a pH 7.5 y 37 °C. Radicales secundarios formados a partir del peroxinitrito (OH^\cdot , NO_2^\cdot , $\text{CO}_3^{\cdot-}$), también fueron capaces de inactivar la enzima. Se están estudiando por espectrometría de masa y resonancia paramagnética electrónica (EPR) las modificaciones introducidas por el peroxinitrito en la cadena polipeptídica, como ser la nitración de aminoácidos críticos y la formación de radicales proteicos.