

## INACTIVACIÓN DE TIROSINASA FOTOINDUCIDA POR ÁCIDO FÓLICO Y SUS FOTOPRODUCTOS

Beatriz N. Zurbano, M. Laura Dántola, Andrés H. Thomas

INIFTA, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, CCT La Plata-CONICET. Diagonal 113 y 64, (1900) La Plata, Argentina.  
 zurbanobeatriz@inifta.unlp.edu.ar

**PALABRAS CLAVE:** Tirosinasa, pterinas, fotosensibilización

La radiación UV-A (320-400 nm) es capaz de producir daño a las biomacromoléculas (ADN y proteínas) y sus componentes a través de procesos fotosensibilizados. En estos procesos, una molécula blanco sufre una alteración como consecuencia de la absorción inicial de radiación por parte de otra especie química que se denomina fotosensibilizador.

Las pterinas, compuestos heterocíclicos ampliamente distribuidos en los sistemas biológicos, son capaces de generar daño en el ADN, las proteínas y en sus componentes a través de procesos fotosensibilizados.<sup>1,2</sup> Por otra parte, se ha encontrado que algunos derivados pterínicos se acumulan en las zonas depigmentadas de la piel de pacientes con vitiligo, enfermedad cutánea que cursa con déficit de pigmentación, debido a la interrupción parcial o total de la síntesis de melanina (melanogénesis). En los mamíferos, la tirosinasa es la enzima que cataliza el paso limitante de la melanogénesis. Recientemente se ha demostrado que la pterina, es capaz de inactivar fotoquímicamente a esta enzima.<sup>2</sup> El ácido fólico, es un derivado pterínico esencial para la división celular. Se sabe que bajo radiación UV-A, el PteGlu se fotooxida produciendo 6-formilpterina (Fop), ácido p-aminobenzoicoglutámico y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A su vez, Fop se transforma en 6-carboxipterina (Cap) en una segunda reacción de foto-oxidación.<sup>3</sup>

En este trabajo, se investigó la capacidad del PteGlu y sus fotoproductos de fotoinactivar a la tirosinasa. Con este fin, soluciones acuosas de la enzima y un fotosensibilizador (PteGlu, Fop, Cap, Ptr) fueron expuestas a radiación UV-A por distintos períodos de tiempo. Posteriormente, las muestras fueron analizadas por espectrofotometría UV-Vis, medición de la actividad enzimática, espectroscopia de fluorescencia y cromatografía de alto rendimiento (HPLC).

Los resultados indicaron que el PteGlu no es capaz de fotoinactivar a la tirosinasa, sin embargo, se observó fotoinactivación cuando se utilizan Fop, Cap y Ptr como fotosensibilizador, siendo Fop el más eficiente. Por otra parte, se encontró, que la fotoinactivación tiene lugar a través de dos vías diferentes: i) un proceso fotoquímico iniciado por la transferencia de un electrón de la enzima al estado excitado triplete de las pterinas y ii) la oxidación de la enzima por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido durante la fotooxidación de PteGlu y sus fotoproductos. El proceso fotoquímico daría lugar a una oxidación no específica de la proteína, mientras que la reacción con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> actuaría sólo en el sitio activo de la misma.

### REFERENCIAS.

[1] G. Petroselli, M. L. Dántola, F. M. Cabrerizo, A. L. Capparelli, C. Lorente, E. Oliveros, A. H. Thomas, "Oxidation of 2'-Deoxyguanosine-5' Monophosphate Photoinduced by pterin: Type I Versus Type II Mechanism", *J. Am. Chem. Soc.*, 130, **2008**, 3001-3011.

[2] M. L. Dántola, A. D. Gojanovich, A. H. Thomas, "Inactivation of tyrosinase photoinduced by pterin", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 424, **2012**, 568-572.

[3] M. L. Dántola, M. P. Denofrio, B. N. Zurbano, C. S. Gimenez, P.R. Ogilby, C. Lorente, A. H. Thomas, "Mechanism of photooxidation of folic acid sensitized by unconjugated pterins", *Photochem. Photobiol Sci*, 9, **2010**, 1604-1612