

301

**CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA DE UMA NTPDASE E UMA 5'NUCLEOTIDASE EM FRAÇÃO SINAPTOSSOMAL CRUA ISOLADA DE CORAÇÃO DE RATO.** *Manoela Enger Almeida, Bárbara Rücker, Maria Luiza Moraes de Barreto Chaves, Joao Jose Freitas Sarkis (orient.)*

(UFRGS).

A primeira sugestão de que purinas atuam com papel cardioprotetor foi com a demonstração de que adenosina medeia a vasodilatação durante episódios de hipóxia por aumentar o fluxo sanguíneo e assim manter a oxigenação do coração. A adenosina é uma importante molécula sinalizadora extracelular com propriedades antitrombóticas e antiinflamatórias. No coração, ATP está envolvido em efeitos inotrópicos positivos, pode induzir várias formas de arritmia, além de hipertrofia e apoptose. O objetivo deste estudo é caracterizar as enzimas envolvidas na hidrólise de ATP, ADP e AMP em sinaptossoma cardíaco de ratos machos adultos. A fração sinaptossomal foi preparada como descrita por *Aloyo et al., 1991*. A reação foi iniciada por adição dos nucleotídeos após 10 minutos de pré-incubação a 37°C. A hidrólise de nucleotídeos foi determinada pelo Método do Verde Malaquita. Foram usados 6 µg/tubo de proteína e 6 minutos de incubação nos ensaios com ATP/ADP. Os inibidores de ATPase mitocondrial (oligomicina 2 µg/mL e azida de sódio 100 mM) foram usados em todos ensaios enzimáticos com ATP. Para o estudo da hidrólise do AMP, 10 µg/tubo de proteína e 10 minutos foram utilizados. Ambas enzimas são cátion-dependentes: NTPDase mostrou preferência pelo íon  $\text{Ca}^{2+}$ , enquanto 5'-nucleotidase mostrou preferência pelo íon  $\text{Mg}^{2+}$ . Em adição, ambas atividades foram bloqueadas por um quelante de íons metálicos. Os valores de  $K_M$  e  $V_{\max}$  para hidrólise de ATP, ADP e AMP foram encontrados como sendo  $143 \pm 16$  mM e  $564 \pm 89$  nmol Pi/min/mg proteína (n=3),  $68 \pm 17$  mM e  $216 \pm 37$  nmol Pi/min/mg proteína (n=4),  $65 \pm 9$  mM e  $68 \pm 6$  nmol Pi/min/mg proteína (n=3), respectivamente. Há evidências de que purinas contribuem para uma variedade de processos envolvidos na função cardiovascular normal, e que distúrbios na sinalização purinérgica estão envolvidos em algumas doenças cardiovasculares. Então estes resultados podem representar uma nova visão sobre a participação das purinas no sistema cardiovascular.