

173

CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DAS ECTONUCLEOTIDASES NA LINHAGEM DE TUMOR DE BEXIGA HUMANO RT4. *Patricia Fernandes Farias, Liliansa Rockenbach, Luci Bavaresco, Fernanda Bueno Morrone, Ana Maria Oliveira Battastini (orient.)* (UFRGS).

O tumor de bexiga é uma das neoplasias mais associadas à industrialização, sendo o fumo e a exposição ocupacional os principais fatores de risco. Os níveis dos nucleotídeos extracelulares, envolvidos em vários processos biológicos, são controlados pela ação das ectonucleotidases. A desfosforilação seqüencial do ATP ocorre pela ação conjunta das NTPDases, enquanto o AMP gerado é hidrolisado à adenosina pela ação da ecto-5'-nucleotidase. Estudos demonstram a participação dos nucleotídeos extracelulares bem como das ectonucleotidases na diferenciação e proliferação de células tumorais. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar as atividades ectonucleotidásicas na linhagem de tumor de bexiga humano RT4, indiferenciada e pouco invasiva. Após a confluência, as células foram incubadas com ATP, ADP, AMP, ésteres de fosfato ou *p*-nitrofenil 5'-timidina monofosfato éster (5'TMP) como substratos. A atividade enzimática foi determinada através do método do Verde de Malaquita ou pela quantificação do *p*-nitrofenol formado e a proteína foi dosada pelo método de Coomassie Blue. Inicialmente foram padronizadas as condições ideais para a hidrólise dos nucleotídeos, sendo o tempo de incubação determinado de 30 minutos. A concentração de substrato para saturação das enzimas foi de 2, 0 mM para os três nucleotídeos da adenina. Foi observada também uma maior atividade de hidrólise para os nucleotídeos trifosfatados em comparação com os di e monofosfatados. Além disso, não foi observada atividade ecto-fosfodiesterásica significativa e foi excluída a participação de fosfatases inespecíficas. Mais estudos são necessários para confirmar a presença das ectonucleotidases na linhagem RT4 e estabelecer parâmetros comparativos com linhagens mais invasivas a fim de melhor compreender o papel do sistema purinérgico no processo de desenvolvimento do tumor de bexiga.