

021

**CARACTERIZAÇÃO DE UMA ECTO-NUCLEOTÍDEO PIROFOSFATASE/ FOSFODIESTERASE (E-NPP) EM FRAÇÃO MICROSSOMAL CARDÍACA DE RATOS ADULTOS.** *Adrine Maria Innocente, Daniela Pochmann, Joao Jose Freitas Sarkis (orient.) (UFRGS).*

Purinas extracelulares, como adenosina, ADP e ATP, são importantes moléculas sinalizadoras que desempenham diversas funções no sistema cardiovascular, podendo estar relacionados a processos de arritmia, bradicardia e hipertrofia no coração. Os efeitos induzidos por estas purinas são controlados pela ação de diversas ectonucleotidases, incluindo neste grupo as enzimas da família das E-NPPs. O objetivo deste estudo é caracterizar cineticamente uma atividade E-NPP em microssomas cardíacos de ratos como parte de um múltiplo sistema de hidrólise de nucleotídeos. A fração microssomal foi obtida por centrifugação diferencial do homogeneizado dos ventrículos cardíacos conforme descrito por Floreani et al., 2003. Os ensaios foram realizados em 0, 2 mL de um meio de reação contendo 50 mM Tris-HCl e 6 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8, 9. A preparação foi pré-incubada por 10 minutos a 37°C. A reação foi iniciada com *p*-nitrofenil-5'-timidina-monofosfato (5'-TMP) – um substrato artificial marcador para esta atividade enzimática. Após 6 minutos de incubação a 37°C, a reação foi parada com 0, 2 mL de NaOH 0, 2 N. Os resultados mostram uma atividade enzimática que exhibe as principais propriedades bioquímicas já descritas para as E-NPPs: a dependência de pH alcalino (pH 8, 9); a necessidade de cátions divalentes; e a inibição completa por quelantes de íons metálicos (EDTA 0, 1 mM). Além disso, os valores de  $K_M$  e  $V_{max}$  para a hidrólise de 5'TMP foram  $84, 62 \pm 6, 47 \mu\text{M}$  e  $101, 06 \pm 12, 37 \text{ nmol } p\text{-nitrofenol/min/mg}$  (média  $\pm$  DP,  $n=7$ ), respectivamente. Neste estudo, caracterizamos uma E-NPP em fração microssomal cardíaca de ratos adultos. O estudo do metabolismo de nucleotídeos no coração pode ser importante para entender os processos relacionados com a sinalização destas moléculas no sistema cardiovascular.