

223

EFEITO DO EBSELEN SOBRE A HIDRÓLISE DE ATP, ADP E AMP POR PLAQUETAS DE RATOS. *Cristina R. Fürstenau, Bárbara Rücker, Simone L. Berti, Ana M. O. Battastini, João J. F. Sarkis.* (Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, ICBS - UFRGS).

A hidrólise extracelular de ATP, ADP e AMP por plaquetas de ratos ocorre por ação de uma cascata de enzimas constituída por uma ATP difosfoidrolase (apirase, CD39, EC 3.6.1.5) e uma 5'-nucleotidase (CD73, EC 3.1.3.5), cujo produto final é a adenosina. O principal objetivo deste estudo foi avaliar se o ebselen - uma droga antiinflamatória - pode modular a hidrólise de nucleotídeos extracelulares por plaquetas de ratos. Esta droga pode inibir, em baixas concentrações, um número de enzimas envolvidas na inflamação. A hidrólise dos nucleotídeos foi determinada em 0,2 mL de uma mistura de reação contendo 50 mM TRIS-HCl, pH 7.5, 120 mM de NaCl, 5,0 mM de KCl, 60 mM de glicose, 5,0 mM de CaCl₂ ou 5,0 mM de MgCl₂, 2,0 mM ATP, ADP ou AMP como substratos. A incubação foi de 20 minutos a 37°C. A proteína variou entre 0,2 e 0,4 mg/mL. A reação enzimática foi medida através de método colorimétrico. O ebselen foi adicionado ao tempo de incubação em três diferentes concentrações (10, 30 e 100 µM). Os resultados mostram que o ebselen numa concentração final de 30-100 µM é um inibidor da hidrólise de ATP extracelular (aproximadamente 30% comparada ao controle). No entanto, a droga não alterou a hidrólise de ADP e AMP por plaquetas de ratos na mesma condição. É possível sugerir que as plaquetas podem mimetizar o sistema nervoso central em relação à co-expressão de uma ecto-ATP difosfoidrolase e uma ecto-ATPase. Neste sentido, a enzima inibida pelo ebselen poderia ser uma ecto-ATPase. Então, nós determinamos a interação cinética entre o ebselen e a enzima plaquetária através da análise de um plote duplo-recíproco de Lineweaver-Burk. Os dados indicaram que a inibição da hidrólise do ATP é do tipo acompetitiva. É interessante especular que o efeito promovido pelo ebselen sobre as plaquetas poderia ser parte de um complexo mecanismo para promover um aumento nos níveis de ATP, o qual além de ser uma estrutura antiinflamatória, poderia atuar promovendo sua própria liberação das células endoteliais. (CNPq, Fapergs, CAPES e PRONEX)