

262

**INVESTIGAÇÃO DO MECANISMO DE REGULAÇÃO DA FOSFORILAÇÃO DA GFAP EM CEREBELO DE RATOS JOVENS POR AMINOÁCIDOS EXCITATÓRIOS E CÁLCIO.** *Felipe Marques; Trícia Kommers; Daniela Oppelt; Diogo de Oliveira; Susana Wofchuk.* (Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS).

A proteína ácida fibrilar glial (GFAP) é componente dos filamentos intermediários, presente no SNC em astrócitos. Identificamos que a presença de glutamato aumenta a fosforilação da GFAP em cerebelo de ratos jovens, efeito mimetizado por NMDA, o que sugere o envolvimento desses receptores ionotrópicos no efeito do glutamato. Como a presença de receptores NMDA em células gliais ainda é controversa, este trabalho visa evidenciar uma possível resposta glial ao NMDA, bem como verificar o papel do  $\text{Ca}^{2+}$  na fosforilação da GFAP em cerebelo de ratos jovens. Utilizou-se microfatias de cerebelo de ratos Wistar com idade entre 13 e 16 dias pós natal. Nos experimentos com TTX, as microfatias foram incubadas na presença de  $^{32}\text{P}$  e NMDA, com ou sem a adição da toxina. Nos experimentos sobre o efeito do  $\text{Ca}^{2+}$ , as microfatias foram incubadas com  $^{32}\text{P}$  e NMDA ou Glutamato, na presença ou ausência de EGTA. Após a incubação, as amostras foram separadas por eletroforese bidimensional, e os géis foram secos e expostos a filmes autorradiográficos. A quantificação das manchas correspondentes a GFAP fosforilada foi feita através do programa Optiquant. A análise estatística foi feita utilizando o teste t pareado de Student. Nos experimentos de imunodeteção da vimentina, utilizamos amostras não radioativas separadas por SDS-PAGE. O efeito do NMDA sobre a fosforilação da GFAP não foi afetado pela TTX, indicando que possivelmente o efeito do agonista não envolve a atividade neuronal. A ausência de  $\text{Ca}^{2+}$  reverteu o efeito do NMDA e do glutamato, demonstrando que o efeito destes agonistas sobre a fosforilação da GFAP está relacionado à entrada de  $\text{Ca}^{2+}$ . A imunodeteção de vimentina em fatias de cerebelo confirmou a presença da glia de Bergmann, a qual possui receptores NMDA, podendo estas células serem responsáveis pelo efeito em cerebelo. (PRONEX / CNPq / FINEP; PROPESQ / UFRGS)