

222

CARACTERIZAÇÃO DA LIGAÇÃO DE [3H]GLUTAMATO A MEMBRANAS SINÓPTICAS FRESCAS E CONGELADAS ISOLADAS DE CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS ADULTOS. *F. W. Pagell, T. Emanuelli^{1,2}, V. F. Antunes¹, D. O.G. Souza¹.* (1 Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre. 2

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM, Santa Maria).

Glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central de mamíferos. O estudo da interação entre glutamato e seus receptores (ligação de glutamato) em membranas sinápticas é fundamental para entender seu papel fisiológico, assim como seu envolvimento em diversas disfunções neuronais. Alguns autores têm relatado um decréscimo e/ou extinção da ligação de [3H]glutamato depois de congelamento de membranas sinápticas (Foster & Fagg, Brain Res. Rev., 7: 103-164, 1984). Contudo, não há consenso na literatura sobre o uso de amostras frescas ou congeladas para realizar ligação de [3H]glutamato. Este estudo tem o objetivo de determinar as condições ótimas para a ligação de [3H]glutamato em membranas sinápticas congeladas isoladas de córtex de ratos adultos, e comparar a ligação de [3H]glutamato a membranas frescas e congeladas. Nós observamos que o congelamento-descongelamento reduziu a ligação de [3H]glutamato (5 vezes), e que a pré-incubação de membranas previamente congeladas tanto na ausência quanto na presença de triton X-100 seguida de lavagem dessas membranas aumentou a ligação de glutamato (4,5 e 12 vezes, respectivamente) quando comparadas com as amostras frescas. Nós observamos que a ligação de [3H]glutamato ($B_{max}=100$ pmol/mg, $K_d=350$ nM) a membranas corticais (200-400 ug/ml), na presença de Tris-HCl atinge um equilíbrio depois de 30 minutos de incubação a 30°C e é deslocada por um excesso de L-glutamato, quisqualato, L-AP4, ACPD e AMPA. Usando Tris-acetato nós observamos diferentes parâmetros cinéticos para a ligação de glutamato a membranas corticais congeladas ($B_{max}=50$ pmo/mg, $K_d=311$ nM). Esta ligação foi deslocada por NMDA, kainato e todos os ligantes mencionados acima. Estes resultados sugerem que o decréscimo na ligação de [3H]glutamato em membranas congeladas observado por outros autores provavelmente era devido à liberação de contaminantes endógenos, tais como glutamato proveniente do rompimento de vesículas. PROPESP, CNPq - PIBIC.