

093

**HIDRÓLISE EXTRACELULAR DE AMP EM TROFOZOÍTOS INTACTOS DE TRICHOMONAS GALLINAE: CARACTERIZAÇÃO DE UMA ECTO-5'-NUCLEOTIDASE.**

Bárbara Gottardi, Cristiane dos Santos Stuepp, Anne Brandolt Larré, Patrícia de Brum Vieira, Fernanda Pires Borges, Renata Cristina Machado Wiltuschnig, Tiana Tasca, Geraldo Atílio de Carli, Carla Denise Bonan (orient.) (PUCRS).

**INTRODUÇÃO:** *Trichomonas gallinae* é um protozoário que parasita o trato digestivo superior de várias aves. Considerando a prevalência da tricomonose e a mortalidade devido ao *T. gallinae*, a importância do estudo deste parasito torna-se evidente. As concentrações extracelulares dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP são controladas por um grupo de enzimas, as ecto-nucleotidasas. Fazem parte deste grupo as NTPDases (nucleosídeo trifosfato difosfohidrolases) e a ecto-5'-nucleotidase. A presença dessas enzimas pode estar associada com a virulência dos parasitos, servindo como um mecanismo de escape dos efeitos citolíticos do ATP e fornecendo adenosina.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Uma quantidade de  $10^6$  trofozoítos/mL foi adicionada ao meio de incubação contendo 50 mM de tampão Tris pH 7, 2 e 3 mM de  $MgCl_2$ . A reação foi iniciada pela adição de AMP (3 mM) e teve duração de 15 minutos, finalizada pela adição de TCA 5%. O fosfato inorgânico livre foi determinado segundo Chan et al.

(1986). **RESULTADOS:** A hidrólise de AMP foi ativada por cátions divalentes e a adição de quelantes de cátions reduziu significativamente a atividade específica da 5'-nucleotidase. Uma ampla especificidade por nucleotídeos monofosfatados foi observada, ocorrendo hidrólise de todos os nucleotídeos testados, com uma preferência pelo AMP. O  $K_M$  para o AMP foi  $466 \pm 57$  mM, com uma  $V_{max}$  de  $3,70 \pm 0,59$  nmolPi/min/ $10^6$  trofozoítos (n=4). A hidrólise do AMP foi drasticamente inibida por 1 mM de molibdato de amônio, inibidor da 5'-nucleotidase.

**CONCLUSÕES:** Os resultados indicam a presença de uma 5'-nucleotidase na superfície do parasito. A NTPDase degrada o ATP, liberado pelas células lisadas, até AMP, o qual é sequencialmente degradado pela ecto-5'-nucleotidase, fornecendo adenosina para a sobrevivência e crescimento do parasito. Além disso, a cadeia enzimática presente em *T. gallinae* pode ser considerada como alvo para o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento da tricomonose em aves.