202

PAPEL DO Ca^{2+} NO MECANISMO DE TRANSDUÇÃO DE SINAL ENVOLVIDO NA FOSFORILAÇÃO DA GFAP EM HIPOCAMPO DE RATOS JOVENS. *Douglas Fitarelli, Joel Horn, Trícia Kommers, Daniela Oppelt, Susana Wofchuk* (Departamento de Bioquímica, ICBS-UFRGS).

A proteína ácida fibrilar glial (GFAP) é um componente dos filamentos intermediários (IFs), sendo expressa no citoesqueleto dos astrócitos. A polimerização e despolimerização dos filamentos está relacionada com o estado de desfosforilação e fosforilação da GFAP, respectivamente, processo importante na ontogenia e reorganização do citoesqueleto. Um dos sinais extracelulares que regulam o estado de fosforilação da GFAP, pode ser o glutamato, o qual estimula sua fosforilação em fatias hipocampais de ratos jovens (P12-P16) via um receptor glutamatérgico metabotrópico do grupo II (mGluR II) na presença de Ca^{2+} (Kommers *et al*. *NeuroReport*, 10, 2119, 1999). Este mecanismo provavelmente não envolve estoques intracelulares de Ca^{2+} regulados por IP3, uma vez que mGluRs II modulam a atividade da enzima adenilato ciclase e não da enzima fosfolipase C. Uma hipótese proposta é que glutamato, via mGluR, bloqueia canais de Ca^{2+} tipo L, inibindo uma cascata de desfosforilação dependente de Ca^{2+} associada a GFAP (Rodnight *et al*. *Braz.J.Med.Biol.Res*. 30, 325, 1997). A estimulação da fosforilação da GFAP pelo agonista de mGluR (1S,3R-ACPD) é inibida por cafeína 10mM – dose necessária para estimular receptores rianodina (RyRs) e liberar Ca^{2+} dos estoques internos regulados por estes receptores, que são distintos daqueles regulados por IP3 (XI S.I.C.). Para analisar melhor o efeito da cafeína, utilizamos fatias hipocampais de ratos Wistar jovens (P13-P16), as quais foram marcadas com [^{32}P]fosfato, pré-incubadas com cafeína e/ou dantrolene e incubadas com estes agentes na presença ou não de 1S,3R-ACPD. A fosforilação da GFAP foi analisada por eletroforese bidimensional e as autorradiografias foram quantificadas por densitometria. A análise estatística foi feita pelo teste t pareado de Student e ANOVA. Interessantemente, os RyRs estão associados com canais de Ca^{2+} tipo L (Chavis *et al*. *Nature*, 382:719, 1996). Neste estudo demonstramos que o efeito de cafeína é revertido por dantrolene, um antagonista de RyRs. A partir desses resultados podemos sugerir que o Ca^{2+} proveniente dos estoques regulados por RyRs está envolvido no mecanismo de transdução de sinal associado à fosforilação da GFAP. (PRONEX, FINEP, CNPq, Fapergs, Propesq/UFRGS).