

Sessão 12 Bioquímica I

093

CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS ENVOLVIDOS NA HIDRÓLISE DE NUCLEOTÍDEOS EM SORO DE RATOS ADULTOS: EFEITO DE INIBIDORES E PLOTE DE COMPETIÇÃO. *Cássia M. Cardoso, Carla D. Bonan, Ana M. O. Battastini e João J. F. Sarkis.* (Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, UFRGS)

Apirase (ATP difosfohidrolase, E.C. 3.6.1.5) é uma enzima que hidrolisa tri- e difosfonucleosídeos a seus equivalentes monofosfonucleosídeos e fosfato inorgânico. A proposta do presente estudo é completar a caracterização dos sistemas enzimáticos presentes em soro de ratos adultos. Para avaliar a possível relação entre as atividades enzimáticas observadas com ATPases, foram testados vários inibidores clássicos destas enzimas. Os seguintes inibidores: (a) ouabaína (1.0 mM)- inibidor de Na^+, K^+ ATPase, (b) NEM (1.0 mM) e lantanum (0.1 mM)- inibidores de $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ ATPase, (c) oligomicina (2.0 μM) e azida sódica (1.0 mM)- inibidores de ATPase mitocondrial e (d) levamisole (1.0 mM), um inibidor específico de fosfatase alcalina foram inefetivos na hidrólise de ATP e ADP em soro de ratos. Azida sódica em uma concentração de 10.0 mM e 20.0 mM tem sido considerada um inibidor de várias ATP difosfohidrolases e promoveu uma inibição nas atividades ATPásica e ADPásica. Em contrapartida, o plote de competição descrito por Chevillard *et al* (Biochem J 1993; 289:599-604) mostrou que a hidrólise de ATP e ADP ocorre em um único sítio ativo. O resultado obtido mostra uma linha horizontal reta no plote de competição, indicando uma taxa de hidrólise constante para todas as combinações de substratos testados. A interpretação é que as duas atividades (ATPásica e ADPásica) correspondem a um único sítio ativo de uma única enzima, provavelmente uma ATP difosfohidrolase. Esta atividade em soro de ratos pode estar envolvida na modulação de concentrações de nucleotídeos, evitando agregação plaquetária espontânea e formação de trombos. (CNPq, CAPES)