

283

TRANSLOCAÇÃO CÁLCIO DEPENDENTE DA PLA₂ CITOSÓLICA PARA A MEMBRANA CELULAR DA LINHAGEM GRX. *Lavinia A. Cruz, Carla C. A. Cardoso, Adriana Camargo, Fátima C. R. Guma, Radovan Borojevic**, *Regina M. Guaragna.* Depto Bioquímica, ICBS-UFRGS * Depto Histologia e Embriologia, ICB-UFRJ.

A linhagem GRX é representativa das células estreladas hepáticas podendo apresentar dois fenótipos: um miofibroblastóide, outro lipocítico. Estas células parecem estar relacionadas com a homeostase hepática e sofrem hiperplasia e aumento de secreção de matriz extracelular na fibrose ou cirrose. Acredita-se que prostaglandinas, mediadoras de crescimento e diferenciação celular, estejam relacionadas com este processo. A síntese destes compostos depende da liberação de ácido araquidônico dos fosfolípidos de membrana, pela fosfolipase A₂ (PLA₂). Esta enzima pode ser classificada de acordo com a sua aparente localização celular: associada à membrana ou citosólica; dependente ou não de cálcio. Neste estudo homogeneizamos as células com tampão Tris-HCl pH 8,6 com diferentes concentrações de cálcio: 100, 250 e 500 nM ou com 10mM de EGTA. Após centrifugação, as frações microssomal e citosólica foram incubadas com [¹⁴C]-2-araquidonil-fosfatidiletanolamina (0,275 Ci). Obteve-se uma maior atividade de PLA₂ na membrana, quando tratou-se as células com 250 nM de cálcio. A medida que a concentração de cálcio aumentou no tampão, diminuiu a atividade da PLA₂ citosólica com efetivo aumento de atividade associada à membrana. Os resultados revelaram que a linhagem GRX apresenta uma PLA₂ citosólica que se transloca para a membrana na presença de cálcio. Também constatou-se uma atividade de PLA₂ associada à membrana independente de cálcio. Os trabalhos prosseguem com a parcial purificação por coluna de afinidade (heparina-sepharose) para posterior determinação do PM, por FPLC e eletroforese, destas duas PLA₂, encontradas nestas células do tecido conjuntivo hepático. (FINEP, CNPq, FAPERGS).