



Efeitos da endotoxemia sobre as atividades ectonucleotidásicas em membranas renais de camundongos.

Rachel Fernandes Jesus¹, Carla Denise Bonan¹ (orientador)

Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, PUCRS.

Os nucleotídeos e nucleosídeos extracelulares desempenham papéis importantes durante o processo inflamatório sendo que o ATP extracelular atua como um mediador pró-inflamatório e a adenosina é uma molécula sinalizadora com ações anti-inflamatórias, agindo através dos receptores A2A. Considerando que o rim é um órgão altamente afetado durante a resposta inflamatória sistêmica e que as ectonucleotidases controlam os níveis extracelulares de nucleotídeos e nucleosídeos, nós avaliamos os efeitos da endotoxemia induzida por lipopolissacarídeo microbiano (LPS) sobre a atividade e padrão de expressão gênica das ectonucleotidases e no metabolismo do ATP em membranas do rim de camundongos. O efeito do CGS-21680, um agonista seletivo dos receptores A2A de adenosina, foi também investigado sobre o catabolismo de nucleotídeos. Os animais foram injetados intraperitonealmente com salina (0,9%), 12 mg/kg de LPS e/ou 0,5 mg/kg CGS-21.680. As atividades das ecto-nucleosídeo trifosfato difosfohidrolases (NTPDases), ecto-nucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase (NPP) e ecto-5'-nucleotidase foram determinadas em preparações de membrana de rim e o metabolismo do ATP foi medido pelo ensaio de HPLC. A análise da expressão das ectonucleotidases foi realizada pela RT-PCR semi-quantitativa.

Após 48 horas de exposição ao LPS, houve um aumento na hidrólise de ATP (48%). A hidrólise do substrato artificial, *p*-Nph-5'-TMP, usado para determinar a atividade da E-NPP, aumentou 48h após a exposição ao LPS (47%) e LPS+CGS (51%). Para a hidrólise de AMP, houve uma diminuição no grupo LPS 24 h (40%) e com a co-administração de CGS-21680 (37%). O tratamento com CGS- 21680 não reverteu essas alterações. A análise do HPLC indicou uma diminuição nos níveis de ATP e adenosina extracelular e um acúmulo nos níveis de AMP. Desde que a adenosina também é um vasodilatador e o ATP age como um agente pró-inflamatório, nossos resultados sugerem que a redução nos níveis de adenosina e ATP no

rim poderia proteger este órgão dos efeitos deletérios destas moléculas durante eventos inflamatórios.

O padrão de expressão gênica das ectonucleotidases revelou um aumento nos níveis de RNAm para *Entpd3*, *Enpp2* e *Enpp3* após a injeção de LPS. Essas descobertas indicam que a disponibilidade de nucleotídeos e nucleosídeos em rins de camundongo é alterada em diferentes estágios da endotoxemia, a fim de proteger a integridade deste órgão, quando expostos à inflamação sistêmica.