

**Avaliação da atividade e expressão das E-NTPDases e ecto-5'NT em linhagens celulares de meduloblastoma humano**

<sup>1</sup>Clarimundo, V.; <sup>1</sup>Cappellari, A.R.; <sup>1</sup>Rockenbach, L; <sup>1</sup>Dietrich, F; <sup>1</sup>Braganhol, E.; <sup>2</sup>Ulrich, A.H; <sup>1</sup>Battastini, A.M.O.

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo; São Paulo, SP, Brasil

Os meduloblastomas (MB) são tumores de grau IV mais frequentes em crianças, principalmente do sexo masculino. O sistema purinérgico tem sido relacionado com o crescimento e progressão tumoral devido ao metabolismo alterado dos nucleotídeos extracelulares nas células cancerígenas. Além disso, dados evidenciam a participação da enzima ecto-5'NT, que degrada AMP em ADO, na progressão e na invasividade tumoral. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a secreção basal de nucleotídeos e nucleosídeos além da atividade e a expressão das enzimas do sistema purinérgico em diferentes linhagens de meduloblastoma humano. Para tanto foram utilizadas três diferentes linhagens celulares de MB humano: DAOY, ONS76 (tumores primários) e D283 (tumor secundário). Realizamos a análise da secreção basal de nucleotídeos através da incubação das células, seguida da aplicação das amostras em HPLC de fase reversa. Avaliamos a atividade enzimática das E-NTPDases e ecto-5'NT através de incubação enzimática e a expressão destas por RT-PCR. Através da secreção basal, observamos que as três linhagens secretaram principalmente ATP para o meio extracelular. As linhagens Daoy e ONS76 mostraram uma maior hidrólise de AMP e os dados obtidos em análise por HPLC evidenciaram que estas duas linhagens ao hidrolisarem AMP acumulam adenosina e inosina, respectivamente. Pela técnica de RT-PCR, observamos a expressão da enzima ecto-5'NT pelas linhagens Daoy e ONS76 e da E-NTPDase 5 pelas três linhagens, sendo que esta enzima, por ser intracelular, não interfere no metabolismo extracelular do ATP. A linhagem D283 mostrou baixa atividade AMPasica e não expressou a enzima ecto-5'NT. Por fim, podemos concluir que o acúmulo de ATP nas três linhagens celulares sugere que este possa favorecer a proliferação, como foi mostrado em outros tipos de processos tumorais. Os resultados da incubação enzimática e do HPLC, confirmados pelo RT-PCR, indicam que as linhagens DAOY e ONS76 hidrolisam o AMP, diferentemente da D283, o que deve estar relacionado com a expressão e atividade da enzima ecto-5'NT nessas linhagens celulares, evidenciando a ligação entre o sistema purinérgico e os MB.