

Avaliação de marcadores de neurotoxicidade em linhagem de neuroblastoma humano SH-SY5Y tratadas com retinol (vitamina A)



Eduardo Antônio Kolling¹, Daniel Pens Gelain²

¹ Autor, Departamento de Bioquímica, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

² Orientador, Departamento de Bioquímica, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

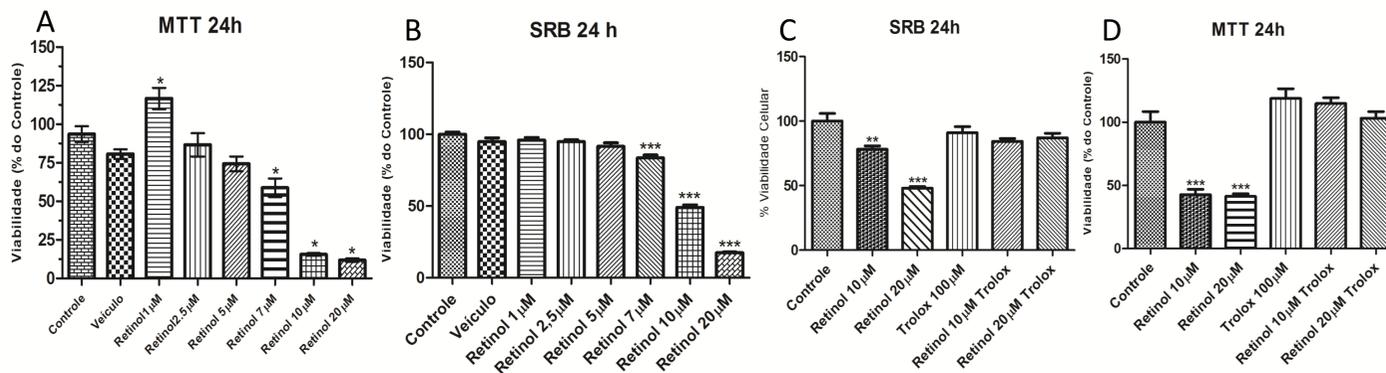
Introdução e Objetivos do Estudo

Os retinóides, tanto naturais quanto sintéticos, são alvos de diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, sendo propostos para uso em tratamento ou prevenção de doenças tais como câncer e doenças neurodegenerativas. Em estudos anteriores, foi observado que o retinol pode atuar como oxidante ou pró-oxidante em diferentes concentrações ou doses, dependendo do tipo celular. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos causados pelo retinol sobre parâmetros de viabilidade e em marcadores de neurotoxicidade em um modelo de neurônio catecolaminérgico (linhagem SH-SY5Y) utilizado para o estudo em doenças neurodegenerativas.

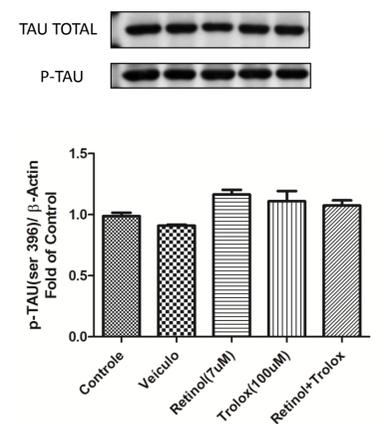
Materiais e Métodos

As células SH-SY5Y foram cultivadas em meio DMEM-F12 10% de soro fetal bovino (SFB) e tratadas por 24 horas com concentrações de retinol variando desde 1 a 20 μM em meio 1% SFB, e 48 horas com retinol 7 μM em meio 1% SFB. Parâmetros de viabilidade celular (incorporação de SRB e redução do MTT) foram avaliados, bem como a produção intracelular de espécies reativas (oxidação do DCFH-DA). O imunoconteúdo de α -sinucleína, de TAU fosforilada e de RAGE foram, igualmente, avaliados por western blot.

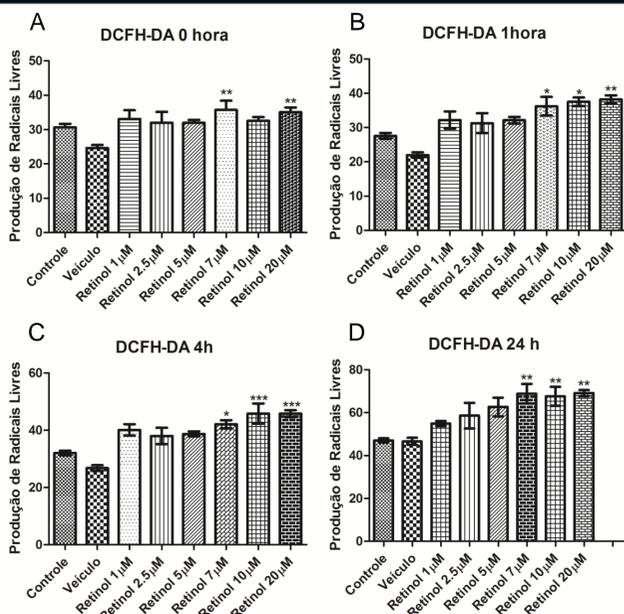
Resultados



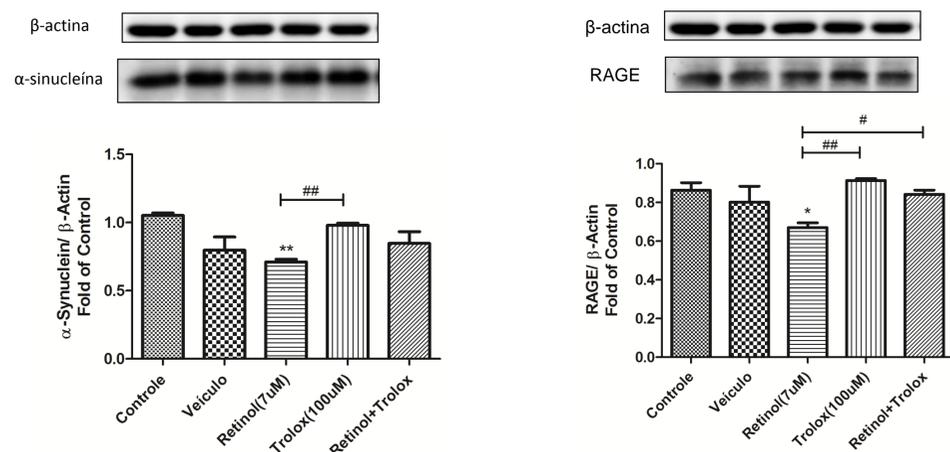
Redução de MTT e Quantificação de Sulforrodamina B: A, B, C, D – Retinol (Concentração dos compostos em μM). Valores expressos como \pm SEM (n= 6-12 em pelo menos 3 experimentos independentes). ANOVA seguida pelo teste de Comparação Múltipla de Tukey. *P<0,05, **P<0,001, ***P<0,0001; comparado ao controle.



Imunoblots representativos mostrando a detecção de (p-Tau) fosforilada estão representados. O imunocentido de p-TAU é quantificada em relação a tau TOTAL. ANOVA de uma via com o teste de Múltipla Comparação de Tukey foi aplicado.



Quantificação da Produção de Radicais Livres: A, B, C, D = Retinol (Concentrações dos compostos em μM). Valores expressos como \pm SEM (n= 6-12 em pelo menos 3 experimentos independentes). ANOVA seguida pelo teste de Comparação Múltipla de Tukey. *P<0,05; **P<0,001; ***P<0,0001; comparado ao controle.



Imunoblots representativos sendo como \pm SEM são representados. A mesma análise foi aplicada para verificar o imunocentido de RAGE e α -sinucleína. ANOVA de uma via com o teste de Múltipla Comparação de Tukey foram aplicados. Asteriscos diferentes do controle (*P<0,05, **P<0,001, ***P<0,0001) e diferentes entre os grupos (#P<0,005, ##P<0,001). Os experimentos foram repetidos três vezes.

Conclusões

O retinol diminuiu a viabilidade celular e aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio nas concentrações iguais ou acima de 10 μM . Na concentração de 7 μM o imunocentido de alfa-sinucleína e RAGE foram diminuídos. No entanto, a avaliação por western blot não revelou diferenças no conteúdo de TAU fosforilada. O co-tratamento com o antioxidante Trolox (100 μM) aumentou o imunocentido das proteínas avaliadas. Os dados sugerem que o retinol pode induzir a perda da viabilidade celular e o redução de proteínas relacionadas à neurotoxicidade através da produção de espécies reativas de oxigênio. O uso de antioxidantes reverteu os efeitos do retinol, não sendo recomendado seu uso como co-tratamento de doenças neurodegenerativas.

Financiamento

