



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Padronização de técnica de imunodeteção em células SH-SY5Y diferenciadas para avaliação da atividade da Fosfatase homóloga a tensina (PTEN)
<b>Autor</b>	ANDRÉ VINÍCIUS CONTRI PAZ
<b>Orientador</b>	CLARISSA SEVERINO GAMA

A via PI3K/Akt é responsável pela regulação de vários processos celulares no sistema nervoso central, tais como plasticidade e sobrevivência neuronal, e está altamente relacionada ao Transtorno de Humor Bipolar (THB). O valproato (VPA), um dos principais fármacos utilizados no tratamento do THB, é capaz de modular esta via, porém os mecanismos responsáveis por sua modulação permanecem desconhecidos. A principal proteína que regula esta via é a fosfatase homóloga a tensina (PTEN). Nossa hipótese é que o VPA esteja modulando a via da PI3K/Akt através da PTEN.

O objetivo principal deste trabalho é padronizar uma técnica de imunodeteção (western blot) para avaliar a atividade da PTEN em células SH-SY5Y diferenciadas, com o objetivo secundário de avaliar se o VPA é capaz de modular sua atividade.

As células da linhagem SH-SY5Y foram diferenciadas em neurônios dopaminérgicos através do tratamento com ácido retinóico por 7 dias e utilizadas na padronização da técnica de Western blot. Também foi realizada uma curva de dose-resposta do VPA em células SH-SY5Y diferenciadas com as doses de 50, 80, 100, 120, 300 e 1000 µg/mL por 24 horas, para avaliar a viabilidade celular através da técnica de MTT. Após a dose ideal ser definida, foi realizado western blot da PTEN para ver os efeitos do VPA sobre sua atividade, calculada pela razão entre PTEN total e PTEN fosforilada. Como controle endógeno foi utilizado a β-actina.

A técnica de Western blot foi padronizada com sucesso, sendo possível identificar PTEN total, fosforilada e β-actina nas diluições de anticorpo primário de 1:1000, 1:10000 e 1:20000, respectivamente. A diluição do anticorpo secundário foi padronizada em 1:20000. O tempo de eletroforese foi padronizado em 50 minutos, a transferência em 3 horas e o bloqueio em 1,5 horas. A curva de dose-resposta do VPA mostrou que a dose de 100 µg/mL seria a mais adequada, uma vez que além de não reduzir a viabilidade celular, encontra-se na faixa terapêutica para o tratamento de episódios maníacos do THB. O VPA foi capaz de induzir a inibição da atividade da PTEN ( $p=0,043$ ).

Este é o primeiro estudo a mostrar que o VPA é capaz de modular a atividade da PTEN, de forma que pode explicar ao menos em parte como o VPA modula a atividade da via PI3K/Akt. Além disso, nosso resultado sugere que a PTEN pode ser um novo alvo farmacológico para o tratamento do THB.