

# O papel da ativação do Nrf2 na diferenciação de células SH-SY5Y mediada por Ácido Retinóico.

Ramos, V.M.<sup>1</sup>; Moreira, J.C.F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aluno de graduação do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS.

<sup>2</sup> Orientador, professor do departamento de Bioquímica – Centro de Estudos em Estresse Oxidativo.



UFRGS  
PROPESQ  
XXV SIC  
Salão Iniciação Científica  
CB - Ciências Biológicas

## Objetivos:

Avaliar a participação das espécies reativas do oxigênio/nitrogênio na ativação do Nrf2 dentro do modelo de diferenciação neuronal das células SHSY-5Y mediada por ácido retinóico. Com isso, pretende-se melhorar terapias que se utilizam da modulação da neurogênese para combater Doença de Parkinson e Doença de Alzheimer.

## Materiais e métodos:

Para determinar a produção interna de espécies reativas após o tratamento com ácido retinóico, foi medida a oxidação da 2',7'-dicloro-hidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA) por fluorescência. O mesmo protocolo foi realizado para o tratamento com peróxido de hidrogênio (10nM, 100nM, 10µM e 100µM).

A concentração final de ácido retinóico utilizada foi de 10µM. Também foram realizados co-tratamentos com Trolox® (100µM), enzima catalase (500un/mL) e Peróxido de Hidrogênio (100µM) para avaliar o possível papel das espécies reativas na ativação do Nrf2. Os meios de cultura com os devidos tratamentos foram trocados a cada 72 horas.

A ativação do Nrf2 foi quantificada por western blotting, mediante separação da fração nuclear e citosólica das células e detecção da sua translocação na fração nuclear.

As células com diferentes dias de exposição ao tratamento com AR (dia 0, 1, 4 e 11) tiveram seu conteúdo de RNA isolado pelo KitPureLink® RNA Mini Kit - Life Technologies conforme o protocolo. O cDNA foi sintetizado usando SuperScript® III Reverse Transcriptase (RT). A expressão do Nrf2 e das enzimas antioxidantes foi então quantificada pelas reações em placas customizadas com primers para humanos junto a APPLIED biosystems.

## Resultados:

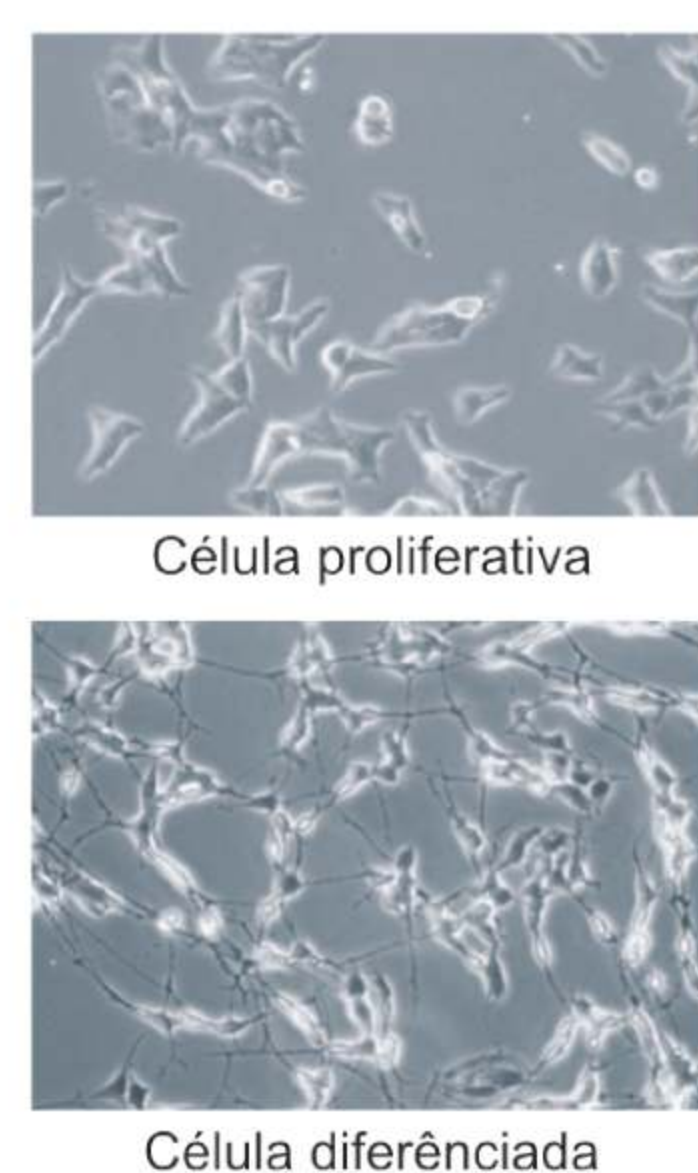
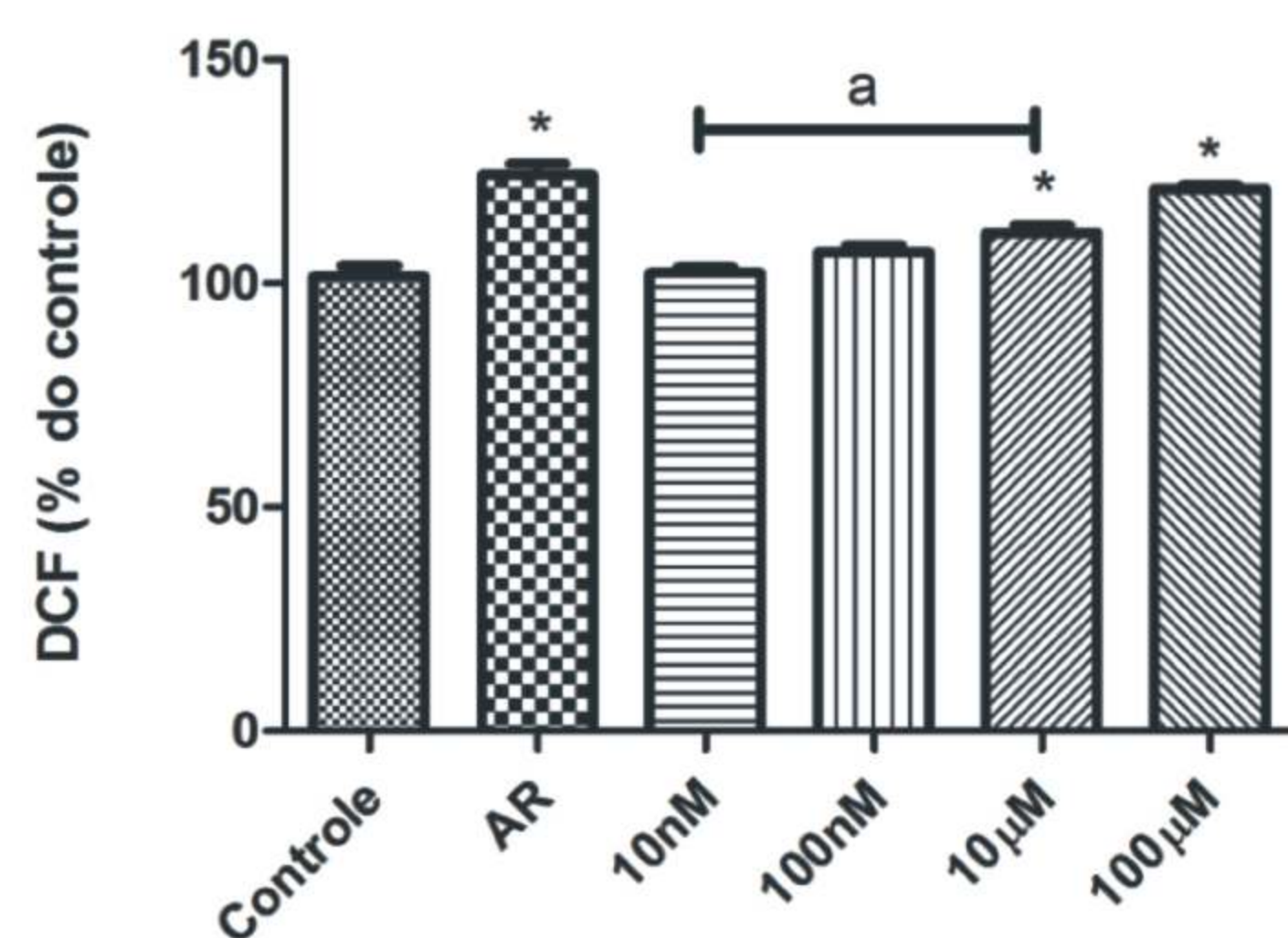


Figura 1: Produção de espécies reativas de oxigênio pelos tratamentos de ácido retinóico (AR 10µM) e peróxido de hidrogênio em curva de concentração. Marcações: \* diferente do controle; a diferente do AR. P<0,001.

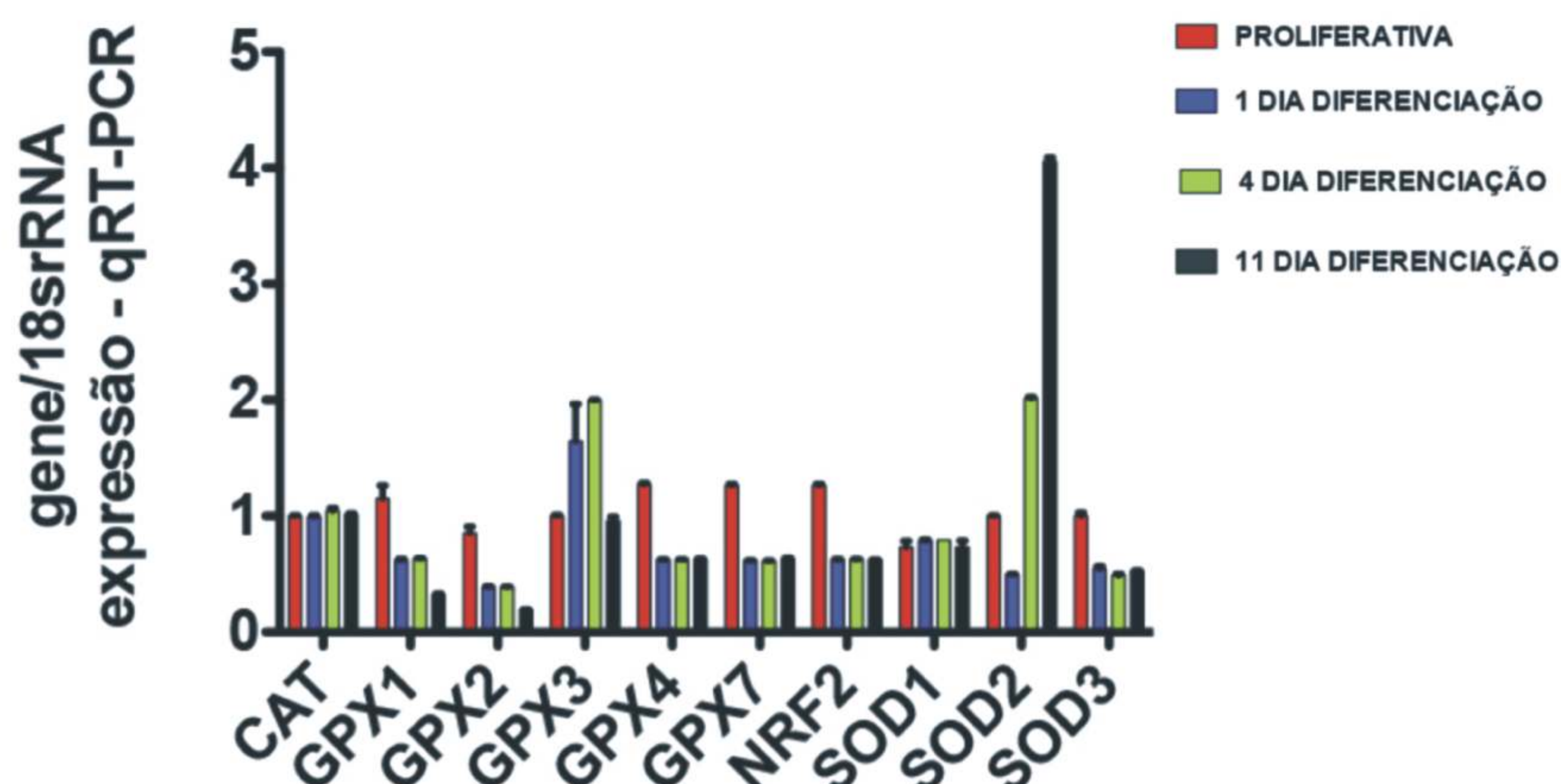


Figura 2: Expressão do Nrf2 e das enzimas antioxidantes em células tratadas com ácido retinóico durante o processo de diferenciação.

## CURVA TRANSLOCAÇÃO NRF2 - 2 h

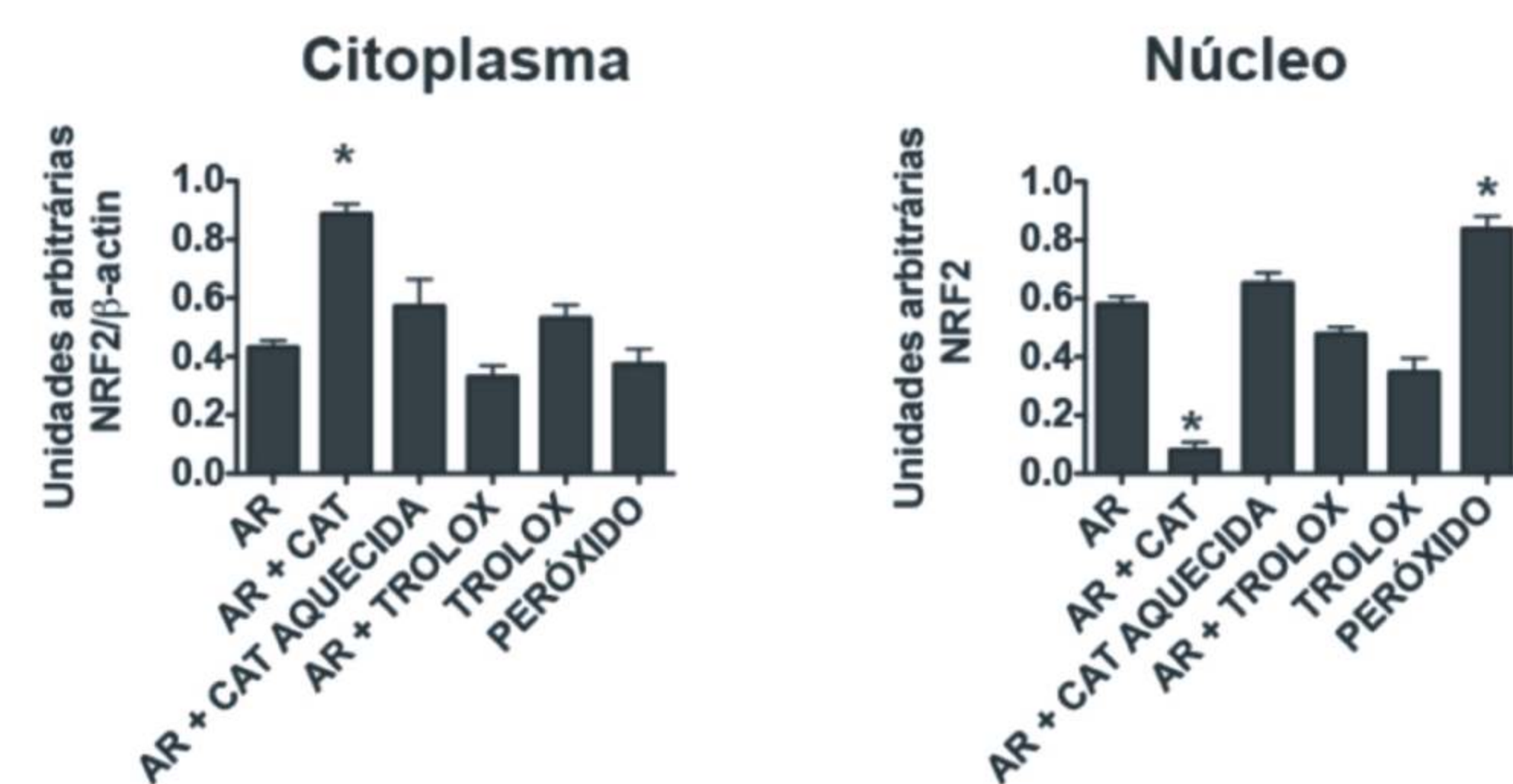
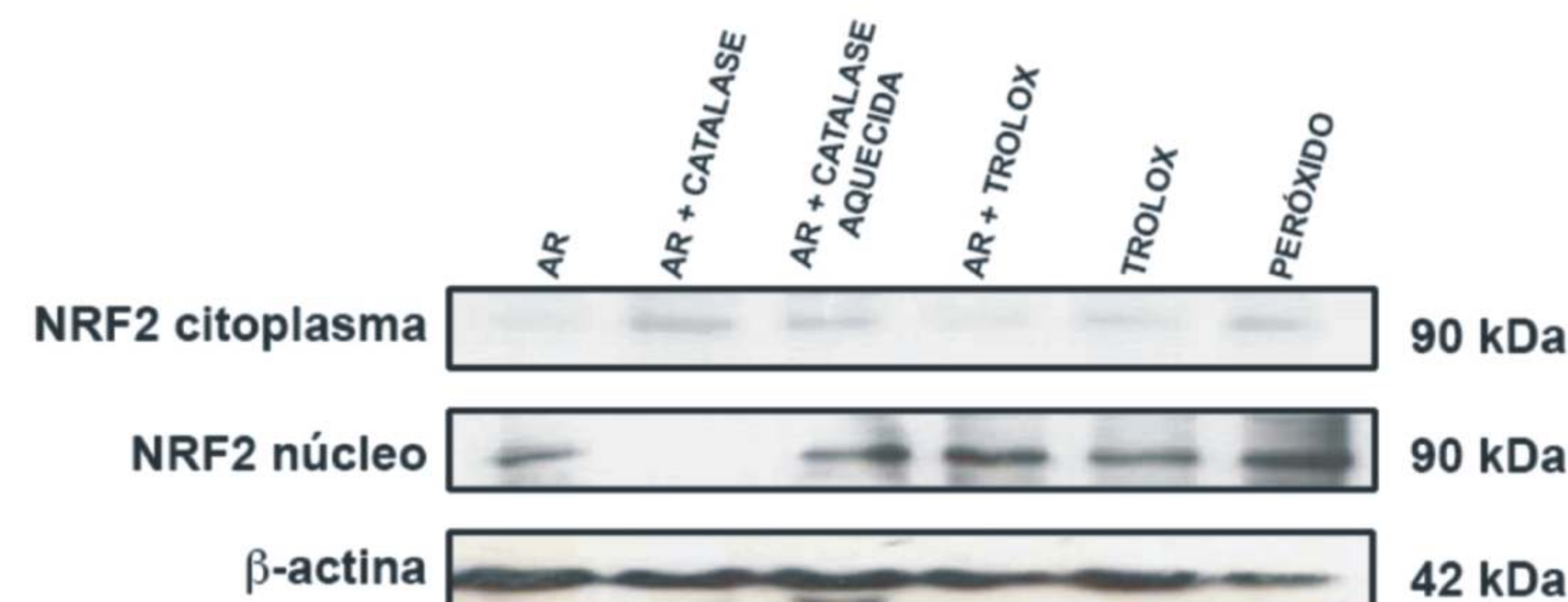
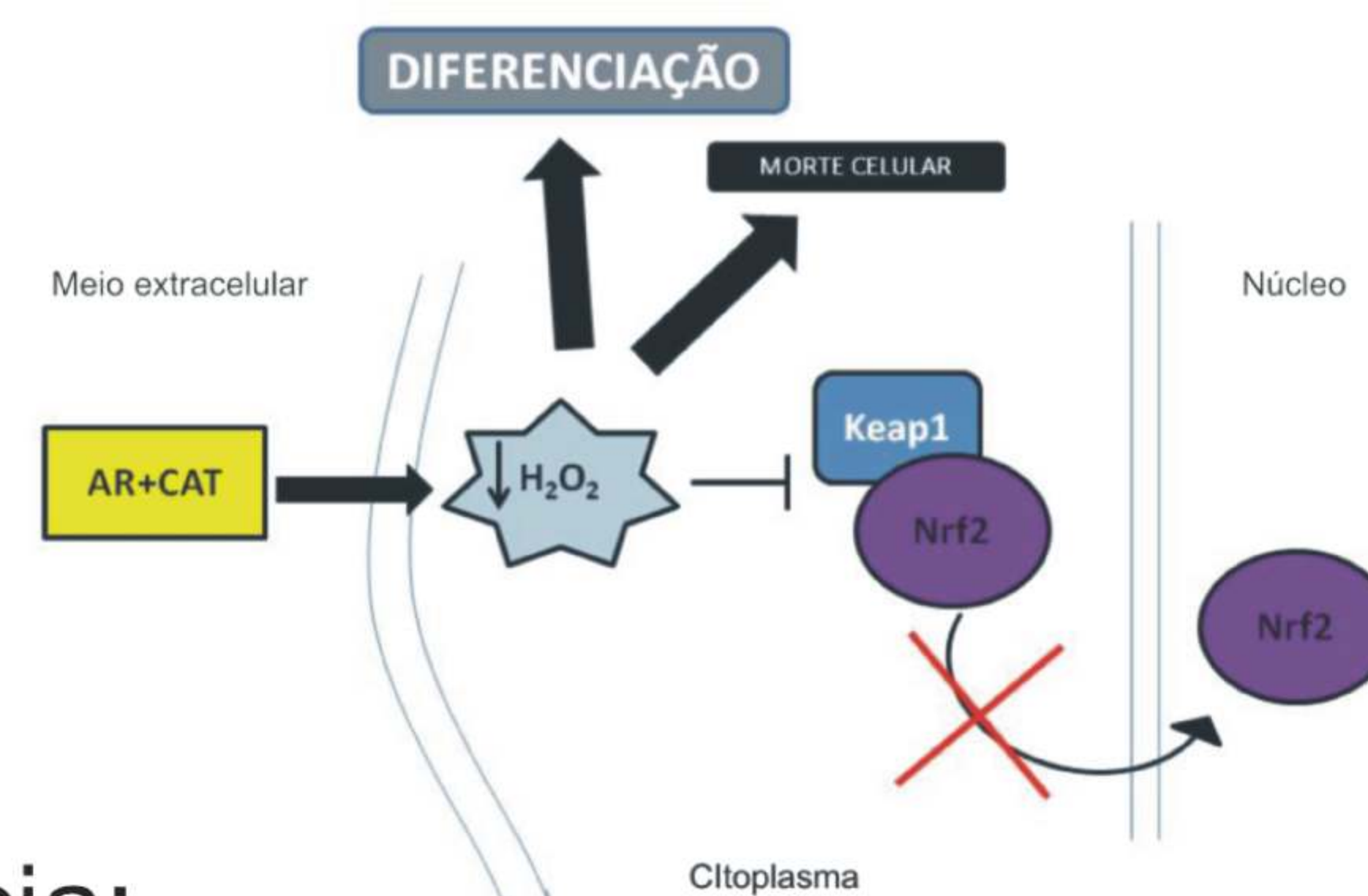
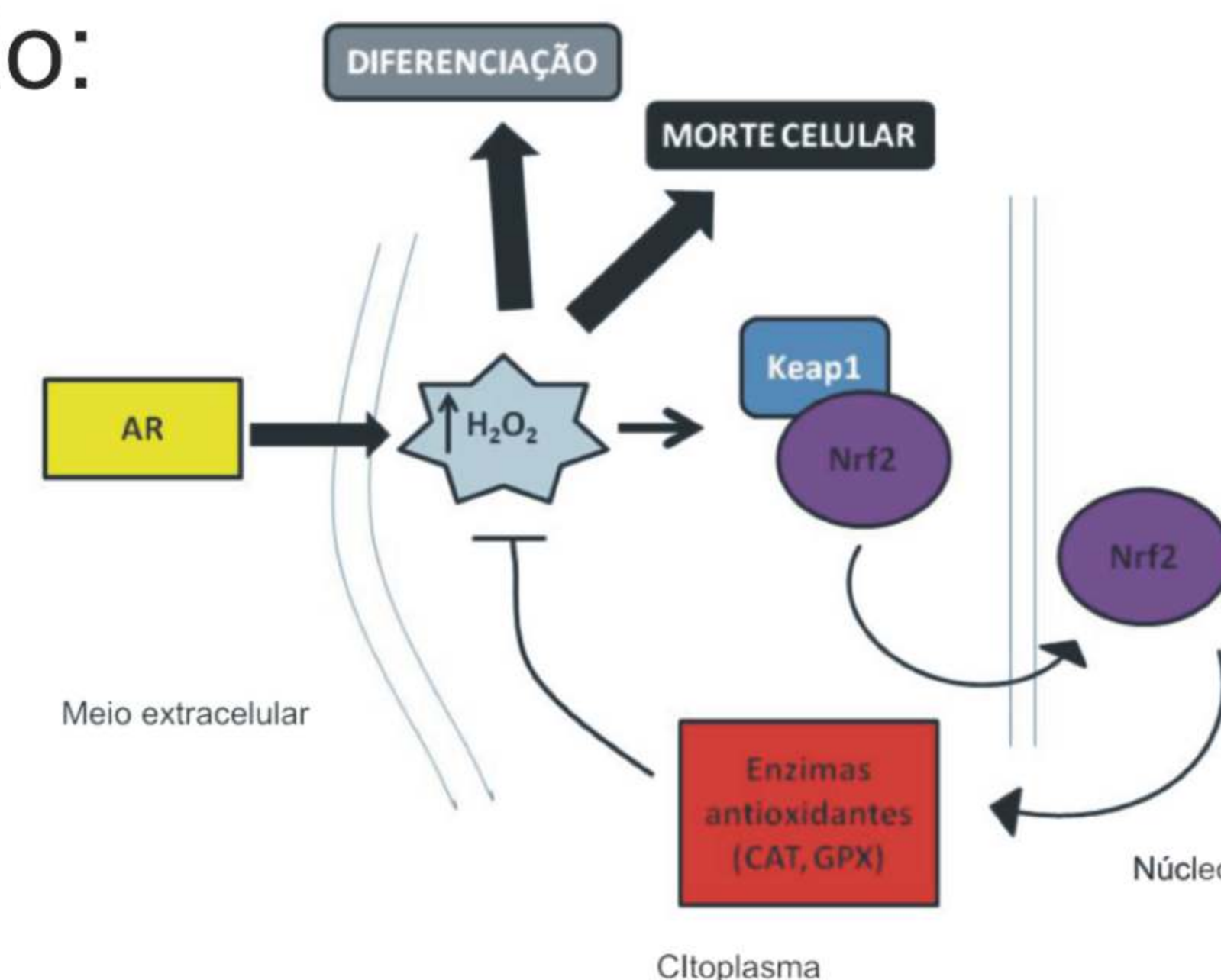


Figura 3: Ativação do Nrf2 em células após 2h de tratamento com ácido retinóico, enzima catalase e peróxido de hidrogênio.

## Conclusão:



## Referência:

Fruta Junior, M.L., Pires, A.S., Zeidán-Chuliá, F., Bristot, I.J., Lopes, F.M., de Bittencourt, Pasquali, M.A., Zanotto-Filho, A., Behr, G.A., Klamt, F., Gelain, D.P., Moreira, J.C., 2011. In vitro optimization of retinoic acid-induced neurogenesis and TH endogenous expression in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by the antioxidant Trolox. Mol. Cell Biochem. 358, 325–334.

Bolsista de Iniciação Científica CNPQ

