

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Padronização da Técnica para detecção de células senescentes proliferativamente através da atividade enzimática da β -galactosidase em tecido adiposo branco
Autor	HELENA TREVISAN SCHROEDER
Orientador	PAULO IVO HOMEM DE BITTENCOURT

Padronização da Técnica para detecção de células senescentes proliferativamente através da atividade enzimática da β -galactosidase em tecido adiposo branco.

Helena Trevisan Schroeder¹, Paulo Ivo Homem de Bittencourt Júnior¹

¹Instituto de Ciências Básicas da Saúde UFRGS

Introdução: O tecido adiposo branco (TAB) tem uma grande relação com o metabolismo energético, sendo também secretor de hormônios que podem agir na sinalização de fome e saciedade, bem como modular a resposta imune por liberação citocinas pró-inflamatórias. Essas ações sistêmicas do TAB são acentuadas na obesidade, patologia que hipertrofia do TAB associada à infiltração de macrófagos inflamatórios. No meio intracelular, ocorre acúmulo de ácidos graxos, aumento de sinalização externa e disponibilidade de nutrientes, incrementando a produção proteica. Isso gera estresse de retículo endoplasmático, que, de forma inicial, seria resolvido por uma resposta a proteínas desdobradas (UPR), mas que, cronicamente, não pode ser resolvido e guiará a célula para a via de senescência proliferativa. Esta senescência tem um perfil próprio de secreção (SASP) que influenciará na disseminação de senescência a outras células e tecidos. Um marcador de senescência celular é a atividade da enzima β -galactosidase em pH 6,0, pela incubação do tecido ou célula com o substrato X-Gal, que, após clivagem, forma um precipitado azul dentro da célula.

Objetivo: Padronizar a técnica para detecção da atividade enzimática da β -galactosidase em TAB de camundongos de linhagem C57BL/6J.

Metodologia: Foi utilizado TAB de camundongos C57BL/6J, divididos em grupo controle e obesos (14 semanas de tratamento com dieta hiperlipídica, HFD). Foram realizadas medidas de índice de massa corpórea, peso inicial e final dos animais e massa do tecido adiposo extraído. A incubação dos tecidos nos tempos de 10, 12 e 18 h com o substrato X-Gal em tampão citrato-fosfato, pH 6,0, para determinação de melhor tempo de incubação. O congelamento em meio de inclusão para criostato em Isopentano e nitrogênio líquido e posterior cortes de 20, 30, 50 e 100 μ m para determinação de espessura adequada para análise microscópica, adesão a lâmina e contracoloração com *Oil Red O* ou Hematoxilina para determinação de corante ideal à microscopia de luz.

Resultados: Os animais dos dois grupos partiram de pesos iniciais sem diferença estatística, mas após o tempo de dieta o grupo obesidade apresentou índice de massa corpórea final maior que seus controles e os tecidos adiposos extraídos apresentaram volume quatro vezes maior, mostrando a eficiência do tratamento. O tempo de incubação enzimática maior de 18 h não se demonstrou eficaz, pela não manutenção do pH em 6,0, apesar de demonstrar a mesma intensidade de cor obtida por 8 e 10 h de incubação. Cortes em 10 e 30 μ m apresentaram extravasamento do conteúdo intracelular, não podendo ser utilizados para esta técnica. Cortes com 100 μ m apresentara grande sobreposição de células, dificultando a visualização em microscopia de luz, já a espessura de 50 μ m foi apropriada para a visualização do precipitado dentro da célula.

Conclusão: Observou-se que o tempo de incubação ideal para medida de atividade enzimática ficou entre 8 a 10 h. A melhor espessura dos cortes dos tecidos ficou em 50 μ m e a coloração por *Oil Red O* foi a ideal como corante de fundo, padronizando-se a técnica.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, PROPESQ/UFRGS