



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2018
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	CARACTERIZAÇÃO DE UM MÉTODO DE DISSOCIAÇÃO DE TECIDO CEREBRAL DE PEIXE-ZEBRA ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL
<b>Autor</b>	AMANDA MARTINS LINAZZI
<b>Orientador</b>	DIOGO LOSCH DE OLIVEIRA

## CARACTERIZAÇÃO DE UM MÉTODO DE DISSOCIAÇÃO DE TECIDO CEREBRAL DE PEIXE-ZEBRA ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL.

Amanda Martins Linazzi<sup>1</sup>, Diogo Losch de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A mitocôndria é o principal local de biossíntese de ATP nas células eucariontes através da fosforilação oxidativa. Esse processo é essencial para a manutenção da vida e alterações nessa via podem estar relacionadas a múltiplas disfunções e doenças neurológicas. Atualmente é possível medir o consumo celular de  $O_2$  e inferir o estado da fosforilação oxidativa em tempo-real por meio da técnica de Respirometria de Alta Resolução. Neste contexto, nosso objetivo foi caracterizar um método de dissociação tecidual para uso na respirometria de alta resolução em cérebros de peixes-zebra adultos (CEUA 33922). Foram utilizados 172 peixes (50:50 machos: fêmeas, 6-8 meses de idade). Os animais foram dissecados, os cérebros retirados e as amostras foram submetidas a quatro diferentes dissociações teciduais: dissociação mecânica com *pasteur* de vidro; dissociação mecânica com pistilo para eppendorf; dissociação enzimática com collagenase IV; e dissociação enzimática com tripsina. A integridade da membrana foi avaliada pela incorporação de azul de Tripán e pela atividade extracelular da enzima lactato desidrogenase (LDH). A respirometria de alta resolução foi realizada no equipamento *Oroboros Oxygraph-2k* através da medida do consumo de oxigênio por meio da adição de inibidores da cadeia transportadora de elétrons e titulação com desacoplador mitocondrial. Os dados de integridade de membrana foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste *post-hoc* de Tukey e os dados de respirometria por teste-t pareado. Os resultados de viabilidade celular para as dissociações mecânicas com *pasteur* de vidro e pistilo não apresentaram diferença significativa, porém o grupo homogeneizado com *pasteur* de vidro apresentou menor variabilidade. As concentrações ótimas para dissociação com collagenase IV e tripsina foram respectivamente, 0,1mg/mL e 0,01%, ambas com 10 minutos de incubação no banho-maria a 37°C. Com base nesses dados, avaliamos a função mitocondrial das dissociações mecânica com *pasteur* de vidro em comparação às enzimáticas. Nos parâmetros avaliados ( $p < 0,05$ ), as dissociações enzimáticas apresentaram redução significativa na respiração de rotina, no consumo de oxigênio acoplado a síntese de ATP e na respiração extramitocondrial. Desta forma, a dissociação mecânica se demonstrou a melhor opção para a dissociação celular em relação às outras testadas no peixe-zebra.