



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Otimização e validação do método CLAE-EM para caracterizar oligômeros de A β : potencial uso na triagem de novos fármacos
Autor	ALESSANDRA AMARAL DE VASCONCELLOS
Orientador	DIOGO ONOFRE GOMES DE SOUZA

Otimização e validação do método CLAE-EM para caracterizar oligômeros de A β : potencial uso na triagem de novos fármacos

Aluno: Alessandra Amaral de Vasconcellos

Orientador: Prof. Dr. Diogo O. Souza

Instituição: Departamento de Bioquímica, UFRGS

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é a principal causa de demência em âmbito mundial. Sugere-se que uma disfunção no metabolismo da proteína beta-amiloide (A β) seja o principal gatilho para desencadear processos neurodegenerativos na DA. Atualmente, acredita-se que uma conformação solúvel e oligomérica de A β (A β Os), previa à formação das placas, possa ser um dos primeiros eventos tóxicos na DA. Os A β Os podem ser classificados de acordo com sua massa molecular: baixa massa molecular (BMM ~13.5 KDa) e alta massa molecular (AMM ~ 56 KDa). Metodologias que possam caracterizar as espécies de A β Os pela sua massa molecular são de grande interesse. Entre eles, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), acoplada à uma coluna de exclusão molecular (EM), parece ser uma metodologia promissora. Porém, parâmetros físico-químicos devem ser rigidamente controlados para obter alta resolução nos picos de fluorescência. O principal objetivo deste trabalho foi otimizar as condições para caracterização dos A β Os por CLAE-EM. Além disso, buscou-se validar esta técnica como uma nova plataforma experimental para avaliação de novas moléculas, potenciais fármacos, que interajam com os A β Os.

Métodos: Os A β Os foram obtidos de acordo com o método proposto por Lambert et al. 1998 (PNAS, 26;95(11):6448-53). A caracterização dos A β Os foi realizada por CLAE-EM acoplado a detector de fluorescência, de modo a monitorar a resolução dos picos. Para otimização da técnica realizou-se dois desenhos experimentais: 1) avaliou-se a concentração de fosfato de sódio e cloreto de sódio na fase móvel; 2) avaliou-se o pH da fase móvel, temperatura da coluna e fluxo. Posteriormente, buscou-se validar a técnica de acordo com os seguintes parâmetros: linearidade, precisão, estabilidade e limites de quantificação e detecção. Após, realizou-se ensaios preliminares de interação entre moléculas candidatas e A β Os.

Resultados: Obteve-se maior resolução nos picos de A β Os quando na fase móvel retirou-se o cloreto de sódio e utilizou-se baixas concentrações de fosfato de sódio (<3 mM). A temperatura da coluna parece não ter grande influência, porém determinou-se como condições ótimas de pH e fluxo, 7.4 e 0.6 mL/min, respectivamente. A partir destes parâmetros, realizou-se a validação do método, obtendo-se linearidade (R²= 0.9979), precisão (RSD < 15%), estabilidade e com limites de quantificação e detecção 17.5 e 5 μ M, respectivamente. Por fim, com ensaios preliminares, observou-se que é possível aplicar o método CLAE-EM para avaliar a interação entre potenciais moléculas e A β Os.

Conclusão: Através da otimização do método do CLAE-EM para caracterização dos A β Os, determinou-se que a resolução dos picos é altamente dependente da concentração de cloreto de sódio, fosfato de sódio e pH da fase móvel. Através da validação da técnica, observou-se que é possível aplicar esta técnica na triagem de novos candidatos a fármacos que interajam com os A β Os e desta maneira, possam ser utilizados em estudos experimentais com modelos da DA com alto potencial translacional.