

# Determinação de parâmetros de viabilidade celular e marcadores de neurotoxicidade em células SH-SY5Y tratadas com retinol (vitamina A)



Eduardo Antônio Kolling<sup>1</sup>, Daniel Pens Gelain<sup>2</sup>

**UFRGS** **XXV SIC**  
PROFESQ **Salão Iniciação Científica**  
CS - Ciências da Saúde

<sup>1</sup> Autor, Departamento de Bioquímica, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

<sup>2</sup> Orientador, Departamento de Bioquímica, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

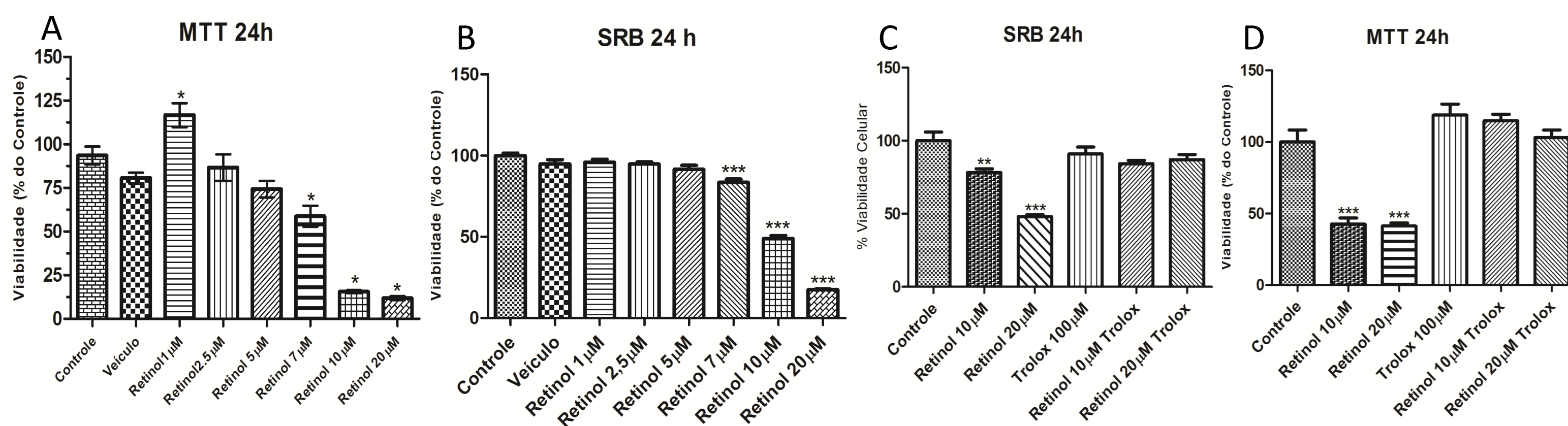
## Introdução e Objetivos do Estudo

Os retinóides, tanto naturais quanto sintéticos, são alvos de diversos estudos in vitro e in vivo, sendo propostos para uso em tratamento ou prevenção de doenças tais como câncer e doenças neurodegenerativas. Em estudos anteriores, foi observado que o retinol pode atuar como oxidante ou pró-oxidante em diferentes concentrações ou doses, dependendo do tipo celular. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos causados pelo retinol sobre parâmetros de viabilidade e em marcadores de neurotoxicidade em um modelo de neurônio catecolaminérgico (linhagem SH-SY5Y) utilizado para o estudo em doenças neurodegenerativas.

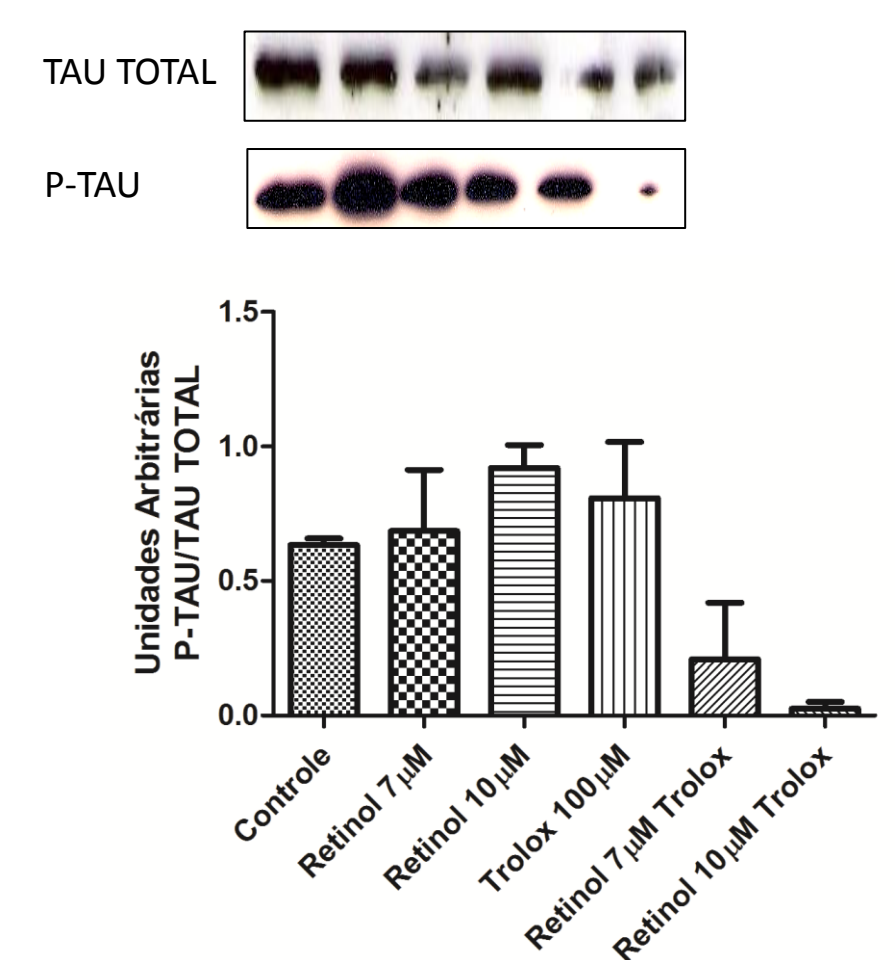
## Materiais e Métodos

As células SH-SY5Y foram cultivadas em meio DMEM-F12 10% de soro fetal bovino (SFB) e tratadas por 24 horas com concentrações de retinol variando desde 1 a 20  $\mu\text{M}$  em meio 1% SFB. Parâmetros de viabilidade celular (incorporação de SRB e redução do MTT) foram avaliados, bem como a produção intracelular de espécies reativas (oxidação do DCFH-DA). O imunocôntido de peptídeo  $\beta$ -amiloide, de  $\alpha$ -sinucleína, de TAU fosforilada e de RAGE foram, igualmente, avaliados por western blot.

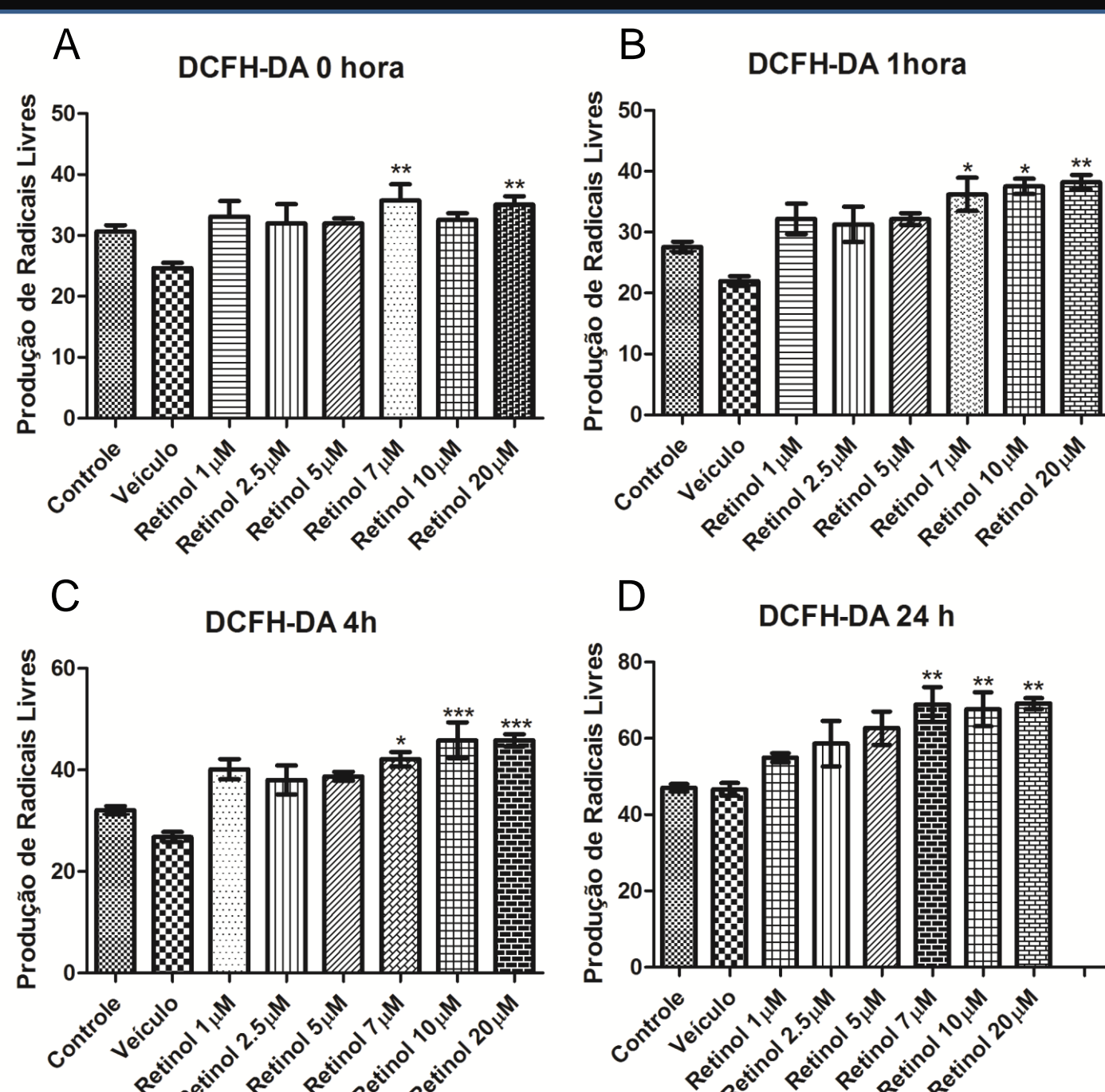
## Resultados



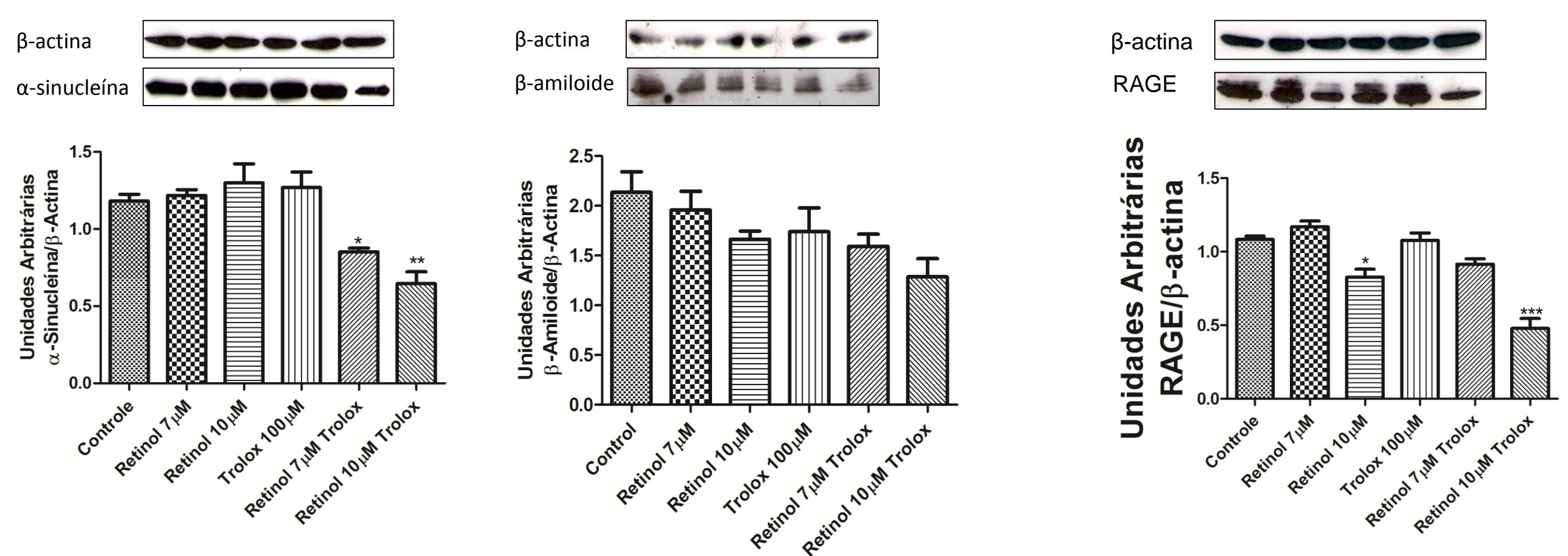
Redução de MTT e Quantificação de Sulforrodamina B: A, B, C, D – Retinol (Concentração dos compostos em  $\mu\text{M}$ ). Valores expressos como  $\pm$  SEM (n= 6-12 em pelo menos 3 experimentos independentes). ANOVA seguida pelo teste de Comparação Múltipla de Tukey. \*P<0,05, \*\*P<0,001, \*\*\*P<0,0001; comparado ao controle.



Imunoblots representativos mostrando a detecção de (p-Tau) fosforilada estão representados. O imunocôntido de p-TAU é quantificada em relação a tau TOTAL. ANOVA de uma via com o teste de Múltipla Comparação de Tukey foi aplicado.



Quantificação da Produção de Radicais Livres: A, B, C, D = Retinol (Concentrações dos compostos em  $\mu\text{M}$ ). Valores expressos como  $\pm$  SEM (n= 6-12 em pelo menos 3 experimentos independentes). ANOVA seguida pelo teste de Comparação Múltipla de Tukey. \*P<0,05; \*\*P<0,001; \*\*\*P<0,0001; comparado ao controle.



Imunoblots representativos sendo como  $\pm$  SEM são representados. A mesma análise foi aplicada para verificar o imunocôntido de RAGE,  $\beta$ -amiloide e  $\alpha$ -sinucleína. ANOVA de uma via com o teste de Múltipla Comparação de Tukey foram aplicados. Asteriscos diferentes do controle (\*P<0,05, \*\*P<0,001, \*\*\*P<0,0001). Os experimentos foram repetidos três vezes.

## Conclusões

O retinol diminuiu a viabilidade celular e aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio nas concentrações iguais ou acima de 10  $\mu\text{M}$ . Nesta concentração, o imunocôntido de  $\alpha$ -sinucleína e de RAGE aumentou. No entanto, o conteúdo de peptídeo  $\beta$ -amiloide foi aumentado apenas na concentração de 7  $\mu\text{M}$ . O co-tratamento com o antioxidante Trolox (0,1 mM) diminuiu o imunocôntido de todas as proteínas avaliadas. Os dados sugerem que o retinol pode induzir a perda da viabilidade celular e o aumento de proteínas relacionadas à neurotoxicidade através da produção de espécies reativas de oxigênio.

## Financiamento



MODALIDADE DE BOLSA

BIC UFRGS