PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM MODELO DE ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA EM CAENORHABDITIS ELEGANS

Alisson Gleysson Rodrigues dos Santos [1]

Daiana Silva De Avila [2]

Caroline Brandão Quines [3]

Resumo:

INTRODUÇÃO: A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma desordem neuronal fatal que afeta os neurônios motores causando paralisia muscular e posteriormente a morte do indivíduo de 2 á 5 anos após o diagnóstico. Aproximadamente 10% dos casos são de herança familiar onde o gene mais afetado é o da superoxido dismutase 1 (SOD1) representando 20% dos casos familiares. A expressão desse gene modificado causa um ganho de função da enzima SOD1 gerando espécies reativas de oxigênio (EROs). Desse modo, torna-se importante investigar e desenvolver metodologias para o estudo a nível molecular da ELA e, para isso, utilizamos o nematoide Caenorhabditis elegans como modelo experimental para avaliar os níveis de EROS em cepas que expressam SOD1 mutante. METODOLOGIA: Para esse estudo utilizamos vermes transgênicos que possuem SOD1 marcada com GFP (AM263) e uma cepa que expressa a SOD1 humana mutada (AM265) modelo para o estudo da ELA. Os nematoides grávidos foram sincronizados, e após a sincronização 3000 ovos foram transferidos para placas de petri com meio NGM, cada cepa em placas diferentes com bactéria. Após 72h, os vermes no estágio larval L4 foram coletados das placas e lavados 3x com salina. Após a lavagem, tratamos com diclorodiidrofluoresceína diacetato (DCFH2-DA), que é oxidada por EROs e emite fluorescescência, por 1 hora. Após 1 hora, lavamos 3x com salina, transferimos para placas de 96 poços e induzimos a produção de EROs com H2O2.Analisamos a emissão de fluorescência no fluorímetro por 1 hora. Os resultados obtidos foram corrigidos por valores de proteína da amostra. Foram feitos 3 experimentos em duplicatas e os dados foram analisados por pós teste de tukey. RESULTADOS e DISCUSSÃO: Nossos resultados mostram que a geração de EROs na cepa controle são baixos, entretanto quando induzido com H2O2 houve aumento significativo da fluorescência. A cepa mutante, entretanto, apresentou uma menor quantidade de EROs em níveis basais em relação à cepa controle, porém, após a indução com H2O2 os níveis de EROs foram mais elevados que a cepa controle+ H2O2. Nós propomos que a cepa AM265 em níveis basais possui menos EROs devido a uma super expressão de SOD1 ainda funcional, todavia, quando induzido com H2O2 é possível que a enzima já tenha atingido seu platô e não consiga eliminar EROs. CONSIDERAÇÕES FINAIS: Baseado nisso, concluímos que a cepa mutante AM265 quando exposta a H2O2 apresenta uma resposta diferente da cepa controle AM263, Sendo um importante parâmetro para

estudos terapêuticos.

Palavras-chave: ELA, C. elegans, espécies reativas de oxigênio

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM MODELO DE ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA EM CAENORHABDITIS ELEGANS

[1] Aluno de graduação. alisson.grs@gmail.com. Autor principal

[2] Docente. avilads1@gmail.com. Orientador

[3] Pesquisadora. carolbquines@gmail.com. Co-orientador

PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM MODELO DE ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA EM *Caenorhabditis elegans*

INTRODUÇÃO: A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma desordem neuronal fatal que afeta os neurônios motores causando paralisia muscular e posteriormente a morte do indivíduo de 2 á 5 anos após o diagnóstico. Aproximadamente 10% dos casos são de herança familiar onde o gene mais afetado é o da superoxido dismutase 1 (SOD1) representando 20% dos casos familiares. A expressão desse gene modificado causa um ganho de função da enzima SOD1 gerando espécies reativas de oxigênio (EROs). Desse modo, torna-se importante investigar e desenvolver metodologias para o estudo a nível molecular da ELA e, para isso, utilizamos o nematoide *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental para avaliar os níveis de EROS em cepas que expressam SOD1 mutante. **METODOLOGIA:** Para esse estudo utilizamos vermes transgênicos que possuem SOD1 marcada com GFP (AM263) e uma cepa que expressa a SOD1 humana mutada (AM265) modelo para o estudo da ELA. Os nematoides grávidos foram sincronizados, e após a sincronização 3000 ovos foram transferidos para placas de petri com meio NGM, cada cepa em placas diferentes com bactéria. Após 72h, os vermes no estágio larval L4 foram coletados das placas e lavados 3x com salina. Após a lavagem, tratamos com diclorodiidrofluoresceína diacetato (DCFH2-DA), que é oxidada por EROs e emite fluorescescência, por 1 hora. Após 1 hora, lavamos 3x com salina, transferimos para placas de 96 poços e induzimos a produção de EROs com H_2O_2.Analisamos a emissão de fluorescência no fluorímetro por 1 hora. Os resultados obtidos foram corrigidos por valores de proteína da amostra. Foram feitos 3 experimentos em duplicatas e os dados foram analisados por pós teste de tukey. **RESULTADOS e DISCUSSÃO:** Nossos resultados mostram que a geração de EROs na cepa controle são baixos, entretanto quando induzido com H_2O_2 houve aumento significativo da fluorescência. A cepa mutante, entretanto, apresentou uma menor quantidade de EROs em níveis basais em relação à cepa controle, porém, após a indução com H_2O_2 os níveis de EROs foram mais elevados que a cepa controle+ H_2O_2. Nós propomos que a cepa AM265 em níveis basais possui menos EROs devido a uma super expressão de SOD1 ainda funcional, todavia, quando induzido com H_2O_2 é possível que a enzima já tenha atingido seu platô e não consiga eliminar EROs. **CONSIDERAÇÕES FINAIS:** Baseado nisso, concluímos que a cepa mutante AM265 quando exposta a H_2O_2 apresenta uma resposta diferente da cepa controle AM263, sendo um importante parâmetro para estudos terapêuticos.