

O envolvimento do estresse oxidativo na morte neuronal causada pelas glicotoxinas Metilglioxal, Glioxal e Glicolaldeído

Stapenhorst, F., Londero, G.F., Lopes, F.M., Marengo, L., Moreira, J.C.F., Klamt, F.

O estresse oxidativo está relacionado a muitos processos patológicos, como a neuropatia diabética. Entretanto, muitos dos alvos protéicos de oxidação das glicotoxinas metilglioxal, glioxal e glicolaldeído ainda não foram identificados. Utilizamos a linhagem diferenciada de neuroblastoma humano SH-SY5Y como modelo experimental para os estudos de neurotoxicidade. Os valores de DL50 das toxinas por 48h de tratamento foram determinados através de testes de MTT, sendo 855 μ M para o metilglioxal, 6,5 mM para o glioxal e 67 μ M para o glicolaldeído. A produção de espécies reativas foi avaliada pelo ensaio de DCF-DA. As células tratadas com metilglioxal e glicolaldeído apresentaram grande aumento de espécies reativas, já nas células tratadas com glioxal observou-se a diminuição destas. O ensaio de JC-1 foi realizado para avaliar potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). Neste ensaio foi observada a perda do $\Delta\Psi_m$ após 48h de tratamento. Outros parâmetros como sulfidril, catalase e TRAP foram utilizados para avaliar o estado redox das células expostas às glicotoxinas. Determinado o envolvimento do estresse oxidativo na morte neuronal causada por estas glicotoxinas, pretendemos utilizar a abordagem do redox proteoma com o ensejo de descobrir novos alvos de oxidação protéica. As células tratadas serão homogeneizadas, os grupamentos tióis que se encontram reduzidos serão bloqueados com N-etilmaleimida e os grupamentos tióis que se encontram oxidados serão reduzidos com tris(2-carboxietil)fosfina e marcados com 5-iodoacetamidofluoresceína. As proteínas serão separadas por 2D-eletroforese. Os resultados obtidos poderão caracterizar potenciais alvos para intervenções terapêuticas. MCT/CNPq Universal 476114/2008-0 e MCT/CNPq INCT-TM 573671/2008-7.