



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Papel da ativação do fator de transcrição NRF2 na diferenciação de células SH-SY5Y mediada por Ácido Retinóico.
<b>Autor</b>	VITOR DE MIRANDA RAMOS
<b>Orientador</b>	JOSE CLAUDIO FONSECA MOREIRA

## **Papel da ativação do fator de transcrição NRF2 na diferenciação de células SH-SY5Y mediada por Ácido Retinóico.**

**Aluno:** Vitor de Miranda Ramos

**Orientador:** Prof. Dr. José Cláudio Fonseca Moreira

**Instituição sede:** Centro de Estudos em Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**INTRODUÇÃO:** Ácido Retinóico (AR), um derivado de Vitamina A com alta atividade biológica, é bem conhecido pela sua importância no desenvolvimento de tecidos e na diferenciação celular. As propriedades morfogênicas desta molécula vêm sendo usadas em diferentes terapias, desde doenças neurodegenerativas até alguns tipos de câncer como leucemia promielocítica e neuroblastoma. Entretanto, grande parte das vias de sinalização responsáveis pelos efeitos do AR permanecem desconhecidas. Para investigar tais vias, utilizamos a linhagem de neuroblastoma humano SH-SY5Y que, quando tratadas com doses farmacológicas de AR, passam por fases iniciais de diferenciação neuronal. Estudos recentes mostram a participação de espécies reativas e estresse oxidativo em efeitos subsequentes do tratamento com AR nesta célula. Também foi demonstrado que a ativação do fator de transcrição NRF2, uma das principais vias redox-sensíveis, possui relevância para o efeito morfogênico mediado pelo AR. Sendo assim, este trabalho tem como principal objetivo investigar as vias de regulação do NRF2 assim como o envolvimento das mesmas na viabilidade e diferenciação de células SH-SY5Y tratadas com AR. **MATERIAL E MÉTODOS:** Para medir a ativação do NRF2 utilizamos o kit comercial Cignal Antioxidant Response (ARE) Reporter Assay (luciferase). A produção intracelular de espécies reativas foi medida indiretamente pela oxidação da molécula 2',7'-Dichlorofluorescein (DCFH). A viabilidade celular foi medida pela técnica de *Sulforhodamina B* e pelo extravasamento de lactato desidrogenase (LDH) no meio de cultura celular. **RESULTADOS:** Nossos dados mostraram que n-acetil-cisteína (NAC) reduziu a taxa de proliferação das células assim como aumentou a sensibilidade ao efeito citotóxico do AR. Simultaneamente, a pré-incubação com NAC atenuou a ativação de NRF2 por AR. Nenhum destes efeitos foram obtidos usando Trolox como antioxidante, sugerindo uma sinalização tiol-dependente pelo AR. O diminuição da expressão de NRF2 aumentou a sensibilidade ao tratamento com AR, causando maior taxa de células mortas após 96 horas de tratamento além de diminuir a taxa de proliferação destas. Reciprocamente, a superexpressão de NRF2 limitou o efeito anti-proliferativo causado pelo AR assim como aumentou a taxa de proliferação das células. Além disso, uma ativação rápida e não-genômica das vias de ERK 1/2 e PI3K se revelaram igualmente importantes para promover a ativação do NRF2 e necessárias para a diferenciação induzidas por AR. **CONCLUSÃO:** Juntos, estes dados correlacionam a atividade de NRF2 com a proliferação das células de neuroblastoma assim como sua resistência ao tratamento com AR. Sendo assim, esta via de sinalização pode ser um alvo em potencial para otimizar respostas de neuroblastoma a quimioterapia assim como a otimização de protocolos de diferenciação neuronal *in vitro*.