



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Avaliação da resposta de choque térmico pela técnica do desafio térmico em sangue total de camundongos C57BL/6J
<b>Autor</b>	MARCELA ALVES DE AZEVEDO
<b>Orientador</b>	PAULO IVO HOMEM DE BITTENCOURT JUNIOR

## **Avaliação da resposta de choque térmico pela técnica do desafio térmico em sangue total de camundongos C57BL/6J**

Marcela Alves de Azevedo<sup>1</sup>, Paulo Ivo Homem de Bittencourt Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS.

**Introdução:** Humanos e animais submetidos a situações de estresse agudo apresentam uma resposta celular conhecida como resposta de choque térmico (HSR), que é centrada na indução da expressão de chaperonas anti-inflamatórias da família das proteínas de choque térmico, como a HSP70. Essa condição é observada em tecidos, como fígado, músculo esquelético e tecido adiposo, além de células imunológicas encontradas no sangue periférico. Entretanto, em situações de estresse homeostático crônico de natureza inflamatória, como obesidade, diabetes mellitus tipo II e doenças cardiovasculares, a HSR apresenta-se suprimida, permitindo a perpetuação do processo inflamatório. Para os estudos utilizando modelos animais tornarem-se translacionais é de interesse o desenvolvimento de técnicas minimamente invasivas que possam ser empregadas em animais e humanos, possibilitando a comparação da evolução de doenças crônicas de natureza inflamatória e a consequente extrapolação dos resultados. No entanto, não existe nenhuma técnica laboratorial simples que permita a avaliação clínica da HSR. Uma vez que se espera que células de animais munidos de boa resposta anti-inflamatória baseada na HSR respondam a desafios térmicos expressando HSP70 fortemente, o objetivo de nosso trabalho foi avaliar a intensidade da indução de HSP70, comparando-se a expressão desta chaperona em células de sangue periférico desafiadas a 42 °C em relação à expressão observada nas mesmas amostras incubadas a 37°C (controle).

**Métodos:** Foram empregados camundongos C57BL/6J mortos por decapitação. O estudo foi dividido em duas partes. Na primeira, os animais foram alocados em quatro grupos (n = 4/grupo): fêmeas alimentadas (FA), fêmeas em jejum de 10 h (FJ), machos alimentados (MA) e machos em jejum de 10 h (MJ). Cada animal teve seu sangue retirado, heparinizado, e dispersado em meio de cultura RPMI 1640 (1:10, v/v) para incubação em atmosfera com 5 % de CO<sub>2</sub> em ar, por 1 h a 42 °C (choque térmico) e 7 h adicionais a 37 °C (para permitir a HSR). Os controles foram mantidos a 37 °C por todo o período (8 h). Alternativamente, as células foram chocadas por 2 h a 42 °C, sendo posteriormente incubadas por mais 6 h a 37 °C (controles a 37 °C durante as 8 h). Na segunda parte, foram usados apenas animais machos (jejum de 10 h). O sangue foi preparado como anteriormente e incubado por 2 h a 42 °C (controles a 37 °C). Após o choque, as amostras foram tratadas de duas maneiras diferentes: na primeira, mantendo-se o protocolo de incubá-las imediatamente a 37 °C e, na segunda, as células foram lavadas trocando-se o meio de cultura por meio fresco (a 37 °C) antes das 6 h adicionais. Em ambas as partes experimentais, após as incubações, as amostras foram centrifugadas e tratadas com tampão de hemólise para posterior preparo para técnica de eletroforese SDS-PAGE e imunodeteção das proteínas HSP72 (*Hspa1a*), HSP73 (*Hspa8*) e GAPDH (normalizador).

**Resultados:** Foi observado aumento de HSP70 nas amostras de animais em jejum incubadas por 2 h a 42 °C em relação aos controles (37 °C), mas não nas dos alimentados. Não foi observado aumento significativo nas incubações de apenas 1 h em nenhum dos grupos. Importante, o grupo MJ demonstrou a diferença mais acentuada, tendo sido escolhido para a realização dos demais estudos que se encontram em andamento com animais obesos por dieta hiperlipídica (HFD).

**Conclusão:** Até o momento, é possível concluir que o protocolo de desafio térmico a 42 °C por 2 h permite nítida avaliação da HSR pela simples medida da expressão diferencial de HSP70 em sangue total.

**Apoio:** CNPq, CAPES, PROPESQ/UFRGS