

Avaliação de danos em biomoléculas e tecidos de camundongos deficientes em Reparo de DNA envelhecidos

LORRANA CACHUITE MENDES ROCHA (Autor), CAMILA CARRIAO MACHADO GARCIA (DECBI) (Orientador)

A via de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (NER) remove várias lesões que distorcem a dupla hélice, inclusive aquelas causadas pelas espécies reativas de oxigênio (EROs). Várias proteínas atuam na NER incluindo CSA da subvia de reparo acoplado a transcrição (TCR) e XPC da subvia de Reparo Global do Genoma (GGR). Pacientes com deficiência na TCR desenvolvem Síndrome de Cockayne e aqueles com deficiência na GGR desenvolvem Xeroderma Pigmentosum. A oxidação de biomoléculas promovida pelas EROs induz respostas celulares como peroxidação lipídica que gera produtos citotóxicos (como o MDA) e a oxidação do DNA que gera lesões distorcivas. A proposta deste estudo é avaliar em tecidos de camundongos, deficientes e proficientes em proteínas de NER, a integridade de biomoléculas e tecidos para entender a participação de proteínas de reparo (CSA e XPC) em mecanismos bioquímicos que possam estar relacionados com o envelhecimento. Fígados e cérebros de animais nocaute CSA, XPC e tipo selvagem foram preparados para análises histológicas (imersão em formol, álcool 70%, 80%, 90%, absoluto e xilol e depois conservado em parafina) e congelados. Os tecidos foram seccionados em micrótomo (6µm), corados com HE para verificar a estrutura tecidual. Em análise em microscópio óptico verificamos que grande parte dos tecidos teve sua estrutura preservada no preparo. Análises imunohistoquímicas e de morte celular estão em andamento como continuidade deste projeto. Os tecidos congelados foram homogeneizados com tampão TKM. Parte foi separada para dosagem de proteína (Bradford XX) e o restante para quantificação de MDA de acordo com o método de Tatum (Tatum et al, 1990) utilizando HPLC e com detecção de fluorescência (dados em análise). Nossos dados até o momento demonstram que os protocolos de inclusão e dosagem de lipoperoxidação foram padronizados com sucesso o que nos permitirá correlacionar os efeitos do envelhecimento e ausência de proteína de Reparo de DNA nos tecidos dos animais estudados.

Instituição de Ensino: Universidade Federal de Ouro Preto