

TÍTULO: Análise proteómica do efeito de agentes antioxidantes num modelo celular de neurodegeneração

LOCAL: Disease and Stress Biology laboratory, I.T.Q.B.

ORIENTADORES: Cláudia Nunes dos Santos e Marta Alves

INTRODUÇÃO:

A neurodegeneração é um processo multifactorial, já que inclui um conjunto complexo de reacções oxidativas que levam à morte neuronal, incluindo o mau funcionamento da via ubiquitina/proteassoma com formação dos corpos inclusos, estruturas comumente observadas nestas patologias. A terapia destas patologias requer um cocktail de fármacos com propriedades plurifarmacológicas, em vez de um único fármaco. Contudo, a progressão ou atraso da neurodegeneração ainda não foi alcançada. O estudo de como os antioxidantes naturais, fornecidos pela dieta, modelam a expressão proteica deverá permitir a identificação de novos biomarcadores e dos mecanismos moleculares pelos quais a nossa dieta pode exercer um efeito potencialmente protector contra as doenças neurodegenerativas.

O presente plano de trabalho insere-se num projecto mais amplo que visa estudar os mecanismos celulares e bioquímicos subjacentes aos modos de acção de antioxidantes naturais e que serão investigadas a vários níveis: (i) viabilidade celular e apoptose; (ii) produção de ROS; (iii) tióis totais (níveis de GSH e GSSG); (iv) medição dos hidroperóxidos lipídicos por substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico; (v) maquinaria endógena celular antioxidante e (vi) alterações redox nas proteínas.

O objectivo final deste trabalho será o de avaliar os efeitos dos antioxidantes no metabolismo proteico do modelo celular de neurodegeneração usando uma abordagem proteómica. Para o efeito decorerá a optimização do procedimento da obtenção do proteoma de células SK-N-MC. Esta optimização será fundamental para a subsequente avaliação da alterações na expressão proteica e estado de oxidação quando os neuroblastomas são incubados na presença de polifenóis antioxidantes num modelo de neurodegeneração induzido por peróxido de hidrogénio.

PLANO DE TRABALHO:

O material biológico utilizado para este estudo é um neuroblastoma humano (linha celular SK-N-MC). O plano de trabalho inclui várias fases:

Fase 1 - Obtenção de um padrão reprodutível para o proteoma das células SK-N-MC.

Fase 2 - Implementação do modelo de neurodegeneração induzido por H₂O₂ em células SK-N-MC

Fase 3 - Monitorização da produção de espécies reactivas de oxigénio no modelo de neurodegeneração com e sem pre-incubação de polifenóis.

Fase 4 – Monitorização do estado de oxidação das proteínas (avaliação dos grupos carbonilo) no modelo de neurodegeneração com e sem pre-incubação de polifenóis.

Fase 5 – Avaliação das alterações do proteoma no modelo de neurodegeneração induzido por peróxido de hidrogénio com e sem pre-incubação de polifenóis.

CONTACTOS: Cláudia Nunes dos Santos (csantos@itqb.unl.pt, 214469651) e Marta Alves (malves@itqb.unl.pt, 214469653)