



INVESTIGAÇÃO DE MODIFICAÇÕES EM BIOMOLÉCULAS INDUZIDAS POR ALDEÍDOS ENDÓGENOS

Isabel Rocha Pereira

Fernanda M. Prado

Marisa Helena Gennari de Medeiros

Instituto de Química – Universidade de São Paulo

isabel09@usp.br

Objetivos

Este estudo teve como objetivo detectar e quantificar a formação de adutos de DNA, como o 1,*N*²-eteno-2'-desoxiguanosina (1,*N*²-εdGuo) e o 1,*N*²-propanodGuo, causados pelo estresse oxidativo, em um modelo de rato de esclerose lateral amiotrófica (ELA) hSOD1^{G93A}. O objetivo foi determinar se o estresse oxidativo na ELA também afeta o fígado. Esses resultados podem auxiliar na correlação do marcador de estresse redox em diferentes tecidos com a ELA. Além da realização de análise proteômica em tecido cerebelar do mesmo modelo de rato ELA em grupos tratados e não tratados com carnosina, a fim de identificar alterações associadas ao estresse redox e potenciais efeitos desse dipeptídeo.

Métodos e Procedimentos

Ratos transgênicos com o gene SOD^{G93A} foram identificados utilizando a técnica de PCR aos 30 dias de idade. Foi empregada uma metodologia altamente sensível envolvendo cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa acoplada em linha à espectrometria de massas por electrospray em tandem, utilizando padrões internos marcados com isótopos estáveis antes da hidrólise do DNA, para a

quantificação dos níveis de 1,*N*²-εdGuo e 1,*N*²-propanodGuo. Adicionalmente, esta metodologia permite a quantificação direta em linha da 2'-desoxiguanosina na mesma análise. Além disso, a separação dos peptídeos nas amostras foi realizada em sistema de nano-LC, depois foram analisados em um espectrômetro de massas Orbitrap Fusion Lumos com ionização por nanospray no modo positivo. Os dados foram adquiridos em alta resolução, empregando aquisição independente de dados (DIA) para MS/MS, o que permitiu a identificação precisa e abrangente dos peptídeos.

Resultados

Os adutos (1,*N*²-εdGuo e 1,*N*²-propanodGuo) e foram quantificados com sucesso, embora não tenham sido observadas diferenças significativas os grupos analisados. A metodologia ultra-sensível descrita neste estudo possibilita a quantificação direta de 1,*N*²-εdGuo e 1,*N*²-propanodGuo no DNA tecidual. Além disso, a análise proteômica possibilitou a identificação de diferenças entre os grupos (controle e tratados com carnosina) e destacou proteínas associadas ao estresse oxidativo.

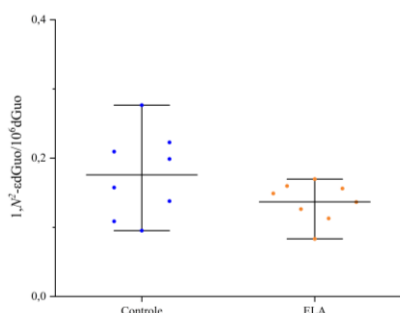


Figura 1: Distribuição de valores dos adutos de 1,N²-edGua nos grupos de amostras analisados.

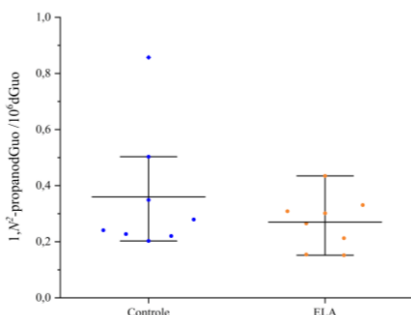


Figura 2: Distribuição de valores dos adutos de um isômero de 1,N²-propanodGua nos grupos de amostras analisados.

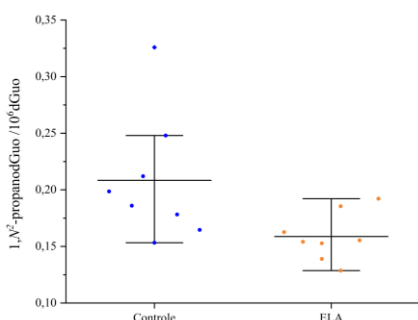


Figura 3: Distribuição de valores dos adutos de um isômero de 1,N²-propanodGua nos grupos de amostras analisados

Conclusões

A separação e quantificação dos nucleotídeos e adutos confirmam a sensibilidade e confiabilidade do método. Embora a ELA seja uma doença multissistêmica, os resultados

sugerem que o fígado pode não ser o tecido alvo para o acúmulo dessas lesões em DNA, apesar de seu papel na resposta inflamatória sistêmica. Já a análise proteômica foi bem-sucedida, evidenciando diferenças claras entre os grupos e indicando que a carnosina influencia a abundância relativa das proteínas, refletindo efeitos no proteoma dos animais. Os autores declaram não haver conflito de interesses. Autor Isabel Rocha Pereira realizou os procedimentos com as amostras em laboratório, coleta e análise dos dados e redigiu o resumo final concebeu e planejou o estudo. Todos os autores aprovaram a versão final do resumo.

Agradecimentos

FAPESP (CEPID-2013/07937-8), CNPq, Pró-reitoria de Pesquisa-USP.

Referências

BISPO, Vanderson da Silva. **Investigação dos mecanismos biológicos de detoxificação de aldeídos α,β -insaturados em ratos SOD^{G93A} modelo para ALS**. 2015. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SCHULZ, Mariane Leichsenring. **Investigação dos processos biológicos associados à produção endógena de aldeídos reativos**. 2019. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. doi:10.11606/D.46.2019.tde-24102019-144430.

GOMES, F. A. et al. Robust assessment of sample preparation protocols for proteomics of cells and tissues. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1872, n. 5, p. 141030, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2024.141030>. Acesso em: 18 jun. 2025.