

ÍNDICE

Índice de figuras.....	i
Abreviaturas.....	vi
Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1. Introdução.....	1
1.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	1
1.2. Biotransformação e toxicidade dos HPAs.....	8
1.3. Via Epigenética dos HPAs.....	11
1.4. Genotoxicidade via estresse oxidativo	12
1.5. Métodos para detecção de lesões emDNA.....	18
2. Objetivos.....	21
3. Materiais e métodos.....	22
3.1. Reagentes.....	22
3.2. Equipamentos.....	22
3.3. Oxidação dos HPAs (indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno e trifenileno) para obtenção de produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas).....	27
3.4. Investigação da formação de adutos.....	28
3.4.1. Incubações de indeno[1,2,3-cd]pireno com peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) e 2'-desoxiguanosina (dGuo).....	28
3.4.2. Incubação dos HPAs (indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno e trifenileno) e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) com dGuo.....	29
3.4.3. Incubação do trifenileno, indeno[1,2,3-cd]pireno e coroneno e seus respectivos produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) com dGuo na presença de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	30
3.4.4. Incubação do trifenileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno ou seus respectivos produtos de oxidação (quinonas ou hidroquinonas acetiladas) com dGuo na presença de THF (tetrahidrofurano) oxidado.....	31
3.4.5. Incubação dos HPAs (indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno ou trifenileno) ou seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) com	

microsomas de fígado de ratos submetidos a diferentes indutores enzimáticos.....	32
3.4.5.1. Indução enzimática por aroclor, fenobarbital e 3-metilcolantreno para obtenção de fração microsomal.....	32
3.4.5.2. Extração dos microsomas de fígado dos ratos.....	32
3.4.5.3. Dosagem de proteínas.....	33
3.4.5.4. Quantificação de Citocromo P450 nas amostras de microsomas de fígado de ratos.	34
3.4.5.5. Incubações de HPAs (indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno ou trifenileno) ou seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) com dGuo e microsomas.....	34
3.4.6. Investigação da formação de adutos DNA-HPA via Peroxidase.....	36
3.4.6.1. Incubações de DNA com HPAs (indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno ou trifenileno) ou seus produtos de oxidação (quinonas ou hidroquinonas) na presença de HRP/H ₂ O ₂	36
3.4.6.2. Precipitação do DNA.....	36
3.4.6.3. Análise espectrofluorimétrica do DNA.....	37
3.4.6.4. Hidrólise enzimática do DNA.....	37
3.4.6.5. Análise por HPLC/UV/fluorescência e HPLC/ESI/MS.....	38
3.5. Citotoxicidade e Genotoxicidade em células HepG2 e THLE-2 incubadas com indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno, trifenileno e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas).....	38
3.5.1 Cultivo e expansão celular.....	38
3.5.2 Determinação da viabilidade celular pelo ensaio do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT).....	40
3.5.3. Incubação de células (linhagem THLE-2) com indeno[1,2,3-c,d]pireno, coroneno, trifenileno e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) para determinação da viabilidade celular.....	41
3.5.4. Incubação de células (linhagem HepG2) com indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno, trifenileno e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) para determinação da viabilidade	

celular.....	41
3.5.5. Incubação de células (linhagem HepG2 em filme de colágeno) com indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno, trifenileno e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) para determinação da viabilidade celular.	42
3.5.6. Incubação de células (linhagem HepG2 cultivadas em meio Earle) com indeno[1,2,3-cd]pireno, coroneno, trifenileno e seus produtos de oxidação (quinonas e hidroquinonas acetiladas) para determinação da viabilidade celular.....	42
3.5.7. Incubações para extração de DNA e determinação de dano oxidativo (8-oxodGuo).....	43
3.5.8. Extração de DNA.....	43
3.5.9. Análise de 8-oxodGuo por HPLC com detecção eletroquímica.....	44
3.5.10. Incubações para determinação da peroxidação lipídica.....	45
3.5.11. Reação de MDA com TBA.....	46
3.5.12. Análise do aduto MDA-TBA por HPLC/PDA	47
3.6. Análise estatística.....	47
4. Resultados e Discussão	48
5. Conclusões.....	81
6. Referências Bibliográficas.....	82
7. Anexos.....	100