



PIBIC/CNPq

Viabilidade celular e avaliação do dano oxidativo em células endoteliais submetidas ao extrato de proantocianidinas frente a condição hiperglicêmica

Maria Antonia O. Scussiato; Aline F. Cerbaro; Victória S. B. Rodrigues; Mirian Salvador
Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Brasil.



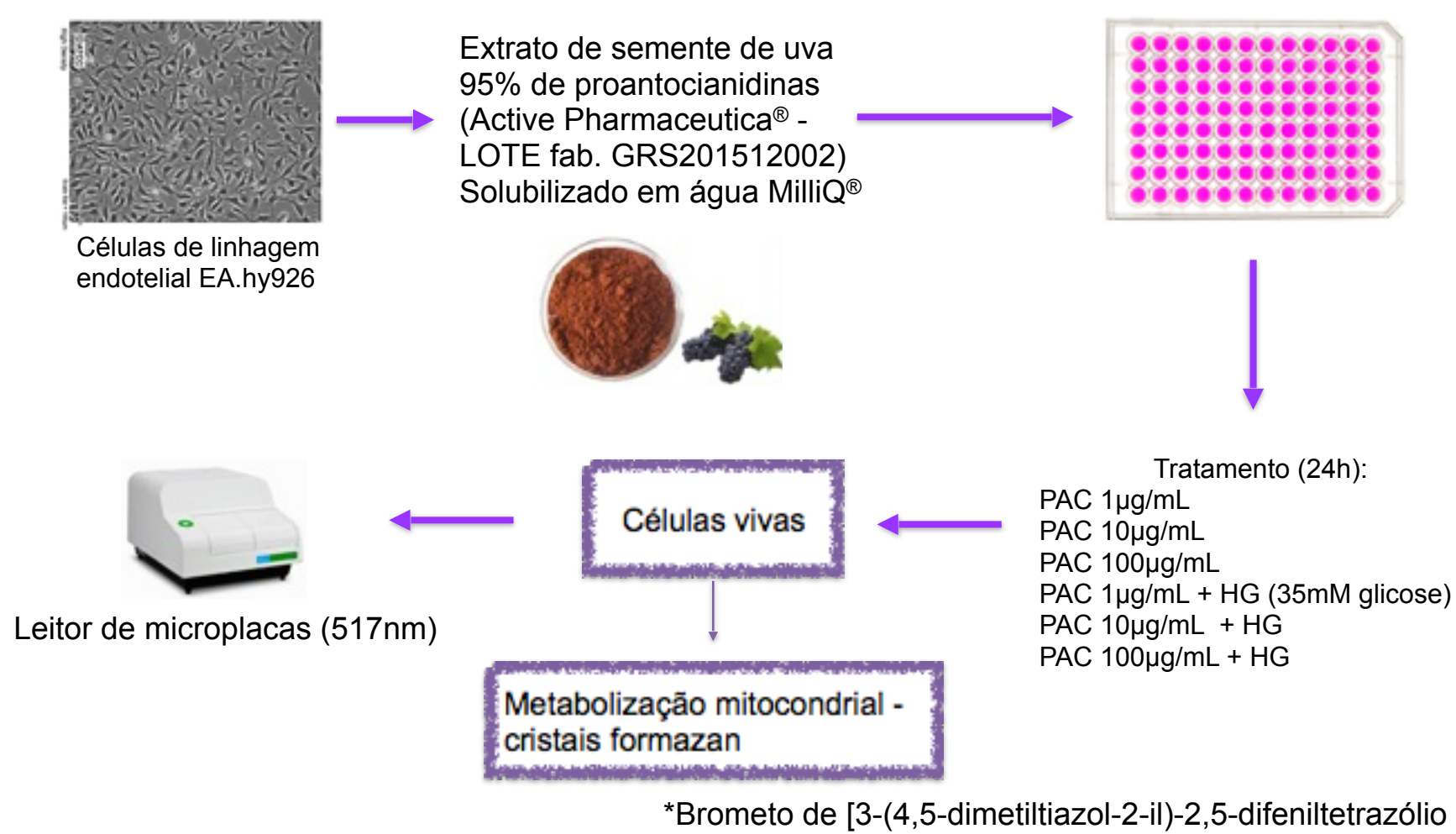
Sigla do Projeto: Mitochondria

Introdução

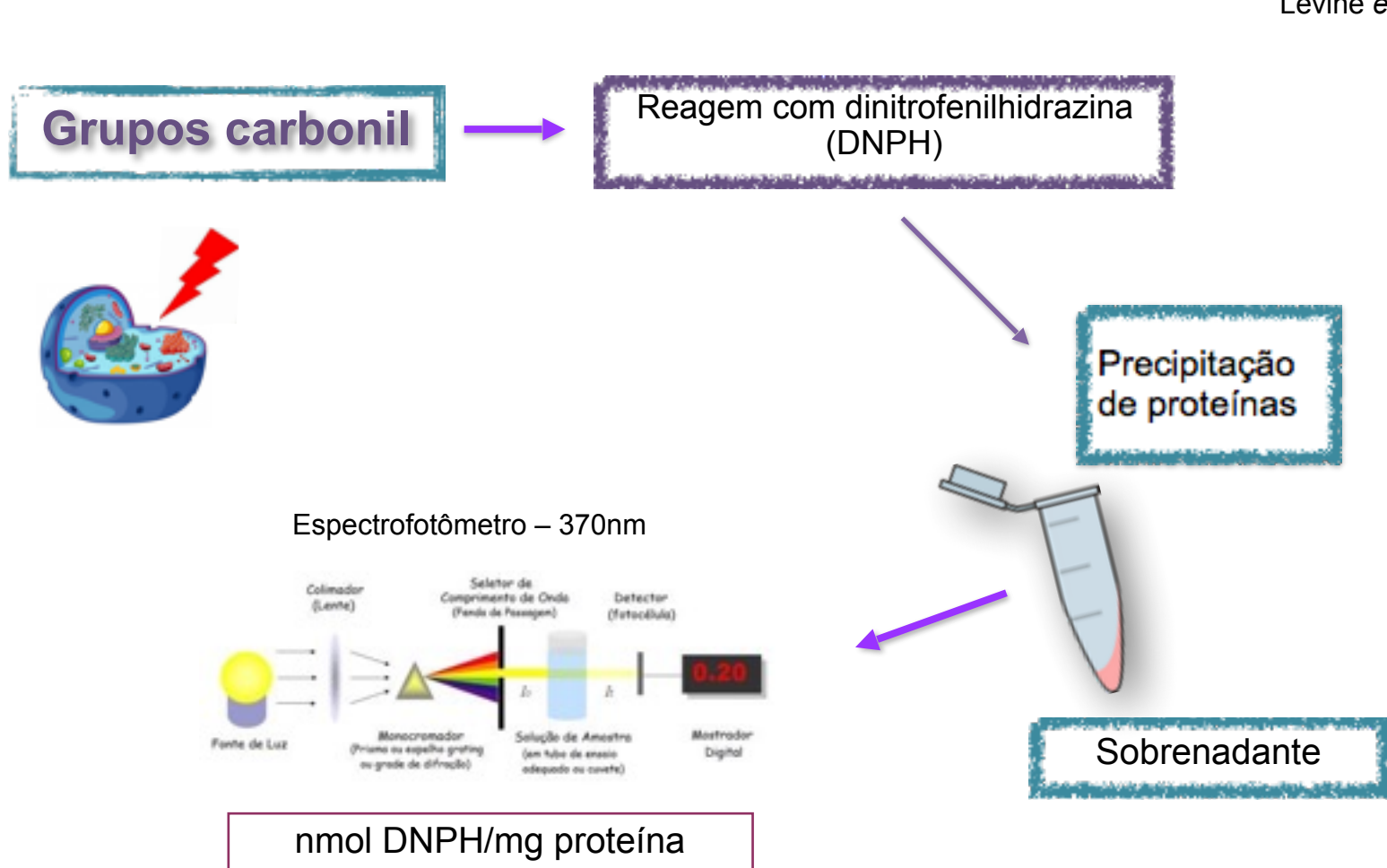
O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica, caracterizada por uma hiperglicemia contínua. Essa condição predispõe o estresse oxidativo pelo aumento das espécies reativas (ER) no organismo. Sabe-se que proantocianidinas (PACs) são compostos fenólicos que tem o poder de neutralizar ER, promovendo a diminuição do estresse oxidativo. As PACs são amplamente distribuídas na natureza, encontradas principalmente em frutas e vegetais como na uva e suas sementes. Já foi descrito para essa classe de compostos a capacidade antioxidante, entre outras. Sendo assim, o objetivo desse estudo é avaliar o efeito de PACs sobre a viabilidade celular e danos oxidativo provocados pela hiperglicemia (HG) em células de endotélio EA.hy926 durante 24 horas.

Metodologia

Avaliação da Viabilidade Celular (MTT*) (Denizot e Lang, 1986)



Avaliação do Dano Oxidativo a Proteínas (Proteínas Carboniladas) (Levine et al., 1990)



Resultados e Discussão

Com a realização do teste MTT foi possível observar que as menores concentrações de PACs (1 e 10µg/mL) não alteraram a viabilidade celular, demonstrando que PACs nessas concentrações não foram citotóxicas (Figura 1). Porém, quando as células foram tratadas somente com HG foi verificado uma redução da viabilidade, indicando um efeito citotóxico. Corroborando com a literatura, um estudo de 2015 também verificou redução da viabilidade celular em células renais quando expostas a HG por 48 h (Cai et al., 2015). No entanto, as PACs demonstraram um efeito protetor quando em presença de HG, evitando a morte celular (Figura 2). Por outro lado, porém, em uma concentração maior de PACs, 100µg/mL, observou-se citotoxicidade, tanto em presença, quanto em ausência de glicose (Figura 1 e 2).

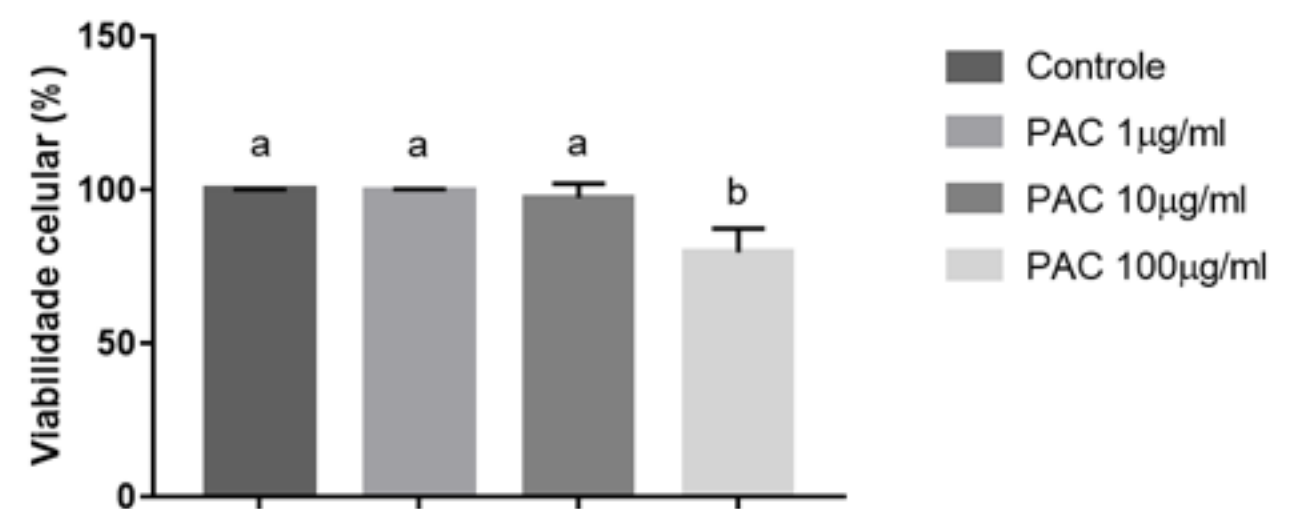


Figura 1. Viabilidade de células endoteliais tratadas com diferentes concentrações de PACs durante 24 horas. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos (p < 0,05). PACs: proantocianidinas.

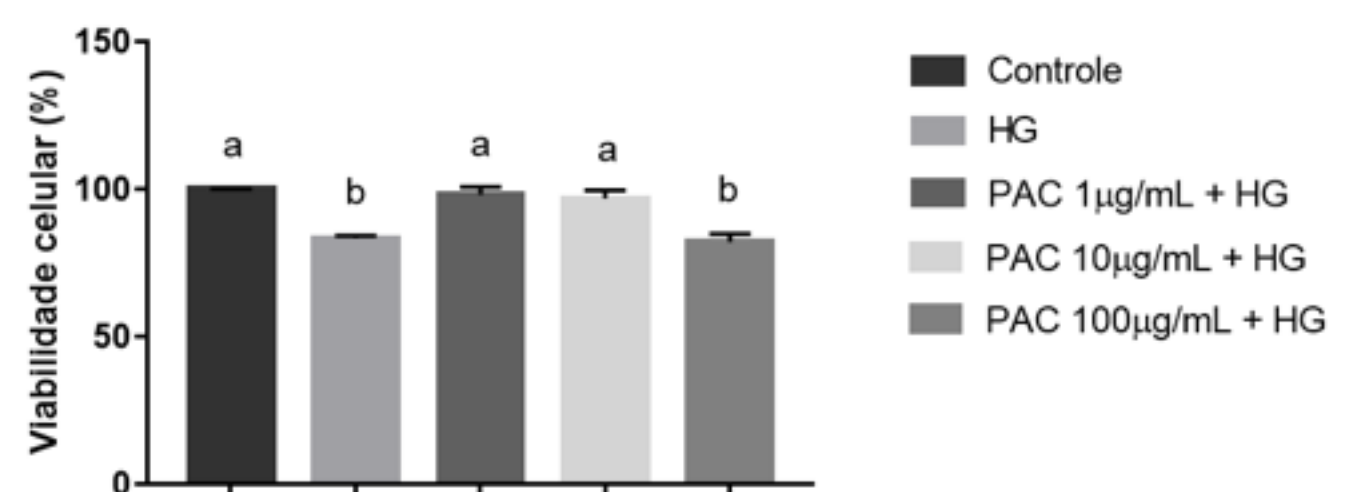


Figura 2. Viabilidade de células endoteliais tratadas com PACs em estado de hiperglicemia durante 24 horas. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos (p < 0,05).

A seguir foi avaliado o dano oxidativo a proteínas através do ensaio de proteínas carboniladas (Figura 3). Observou-se maior oxidação proteica no grupo HG em relação ao controle, indicando que as células sofreram maior dano oxidativo. As células que foram tratadas somente com PACs não sofreram oxidação proteica. O que foi igualmente observado no grupo PAC +HG, onde o extrato foi capaz de proteger as células do dano oxidativo mesmo que em presença de HG. Resultados similares a esse já foram encontrados para outros antioxidantes, onde foi relatado redução do dano oxidativo a lipídios em células HUVEC após o tratamento com um derivado do resveratrol (Zhao et al., 2016).

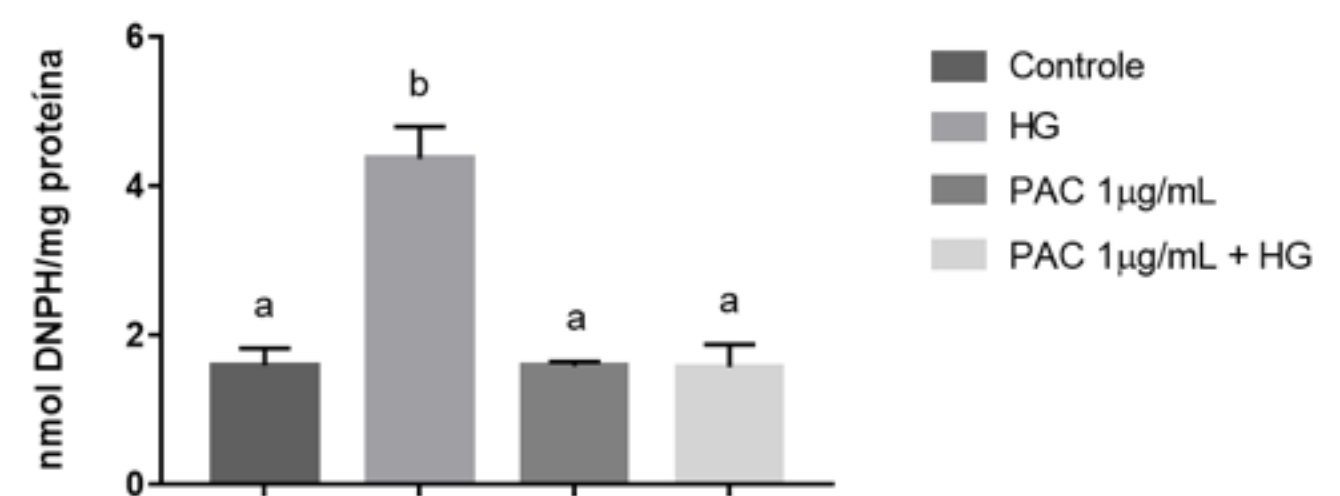


Figura 3. Oxidação proteica em células endoteliais tratadas com PAC em estado de hiperglicemia durante 24 horas. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos (p < 0,05).

Considerações finais

Esses dados preliminares sugerem que o extrato de PACs parece ter um papel importante na redução do dano oxidativo a proteínas celulares frente ao estresse oxidativo causado pela hiperglicemia, melhorando assim a viabilidade dessas células. Com isso, mais estudos devem ser conduzidos para elucidar melhor os mecanismos envolvidos na ação das PACs e seus possíveis efeitos benéficos para a saúde.

Referências

- Cai X, Bao L, Ren J, Li Y, Zhang Z (2016) Grape seed procyanidin B2 protects podocytes from high glucose-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis via the AMPK-SIRT1-PGC-1alpha axis in vitro. *Food Funct* 7(2):805–815.
- Denizot, F. & Lang, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89: 271.
- Levine, R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins assay and repair of biological damage. *Methods in Enzymology*. V. 136, 1990.
- Zhao, Huijun, Ting Ma, Boyi Fan, Lei Yang, Chao Han, Jianguang Luo & Lingyi Kong (2016) Protective effect of trans-δ-viniferin against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells through the SIRT1 pathway, *Free Radical Research*, 50:1, 68-83

AGRADECIMENTOS

