

Avaliação da função mitocondrial de células EA.hy926 tratadas com proantocianidinas em condição de hiperglicemia

Sigla do Projeto: Mitocôndria

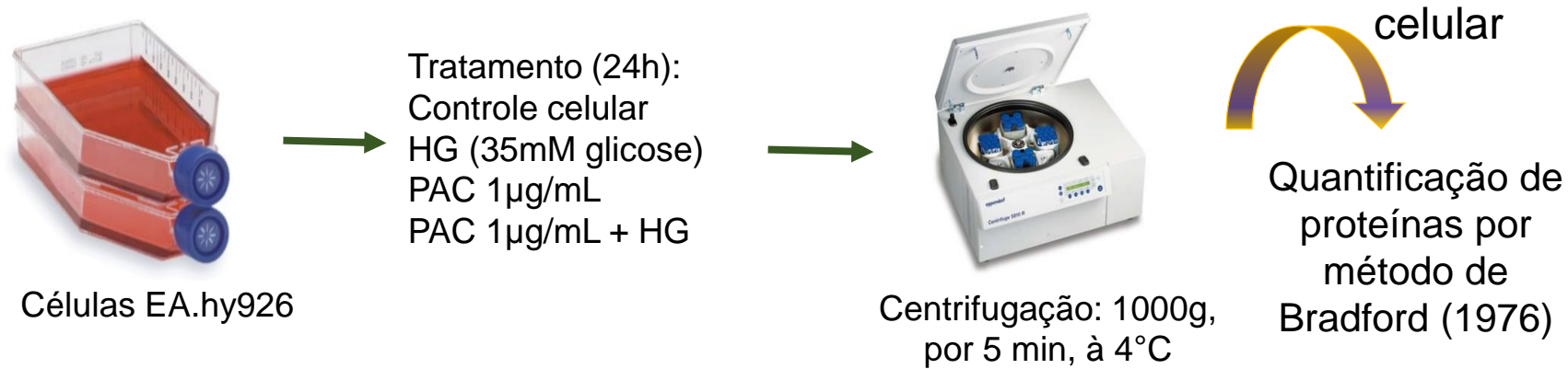
Paulina Ampessan Maccari; Victória S. B. Rodrigues, Aline F. Cerbaro, Maria Antônia O. Scussiato; Mirian Salvador
Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Brasil.

Introdução

As proantocianidinas (PAC) são bons exemplos de compostos fenólicos presentes na uva, agem como sequestradoras de espécies reativas (ER), reguladoras de fatores de transcrição, vias metabólicas e mitocondriais. O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica grave, caracterizada por um elevado nível de glicose no sangue e que vem crescendo de forma alarmante em todo mundo. Sabe-se que o DM está relacionado com disfunção do endotélio vascular ligada a alterações mitocondriais (Pagano *et al.*, 2014). Sendo assim, o principal objetivo desta pesquisa é identificar os efeitos das PAC na atividade dos complexos mitocondriais I e II e níveis de óxido nítrico em células endoteliais EA.hy926 em estado de hiperglicemia (HG).

Materiais e Métodos

Preparo da Amostra



Atividade do Complexo I da Cadeia Transportadora de Elétrons

Spinazzi *et al.*, 2012



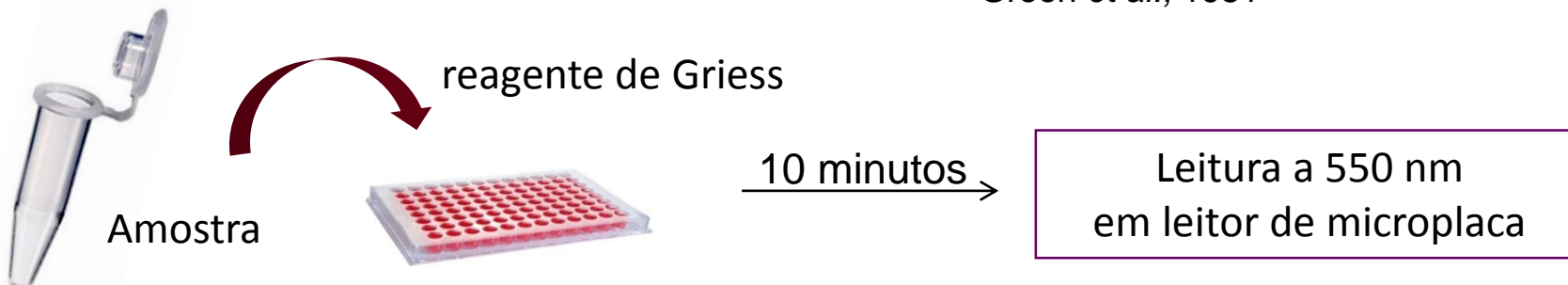
Atividade do Complexo II da Cadeia Transportadora de Elétrons

Spinazzi *et al.*, 2012



Quantificação dos Níveis de Óxido Nítrico (ON)

Green *et al.*, 1981



Resultados e Discussão

Após a realização do ensaio para avaliar a atividade do complexo I (**Figura 1A**), observou-se que no grupo HG houve uma atividade muito superior quando comparada ao grupo controle. No entanto, quando as células foram tratadas PAC mesmo na presença de HG, esse efeito não aconteceu. Da mesma forma, a atividade do complexo II (**Figura 1B**) também manteve-se elevada no grupo HG, sendo restabelecida no cotratamento de PAC+HG. De fato, sabe-se que o DM causa uma superativação dos complexos mitocondriais, devido ao acúmulo de substrato energético em decorrência da hiperglicemia (Luo *et al.*, 2016). Em contrapartida, os tratamentos somente com PAC não alteraram as atividades de ambos os complexos mitocondriais.

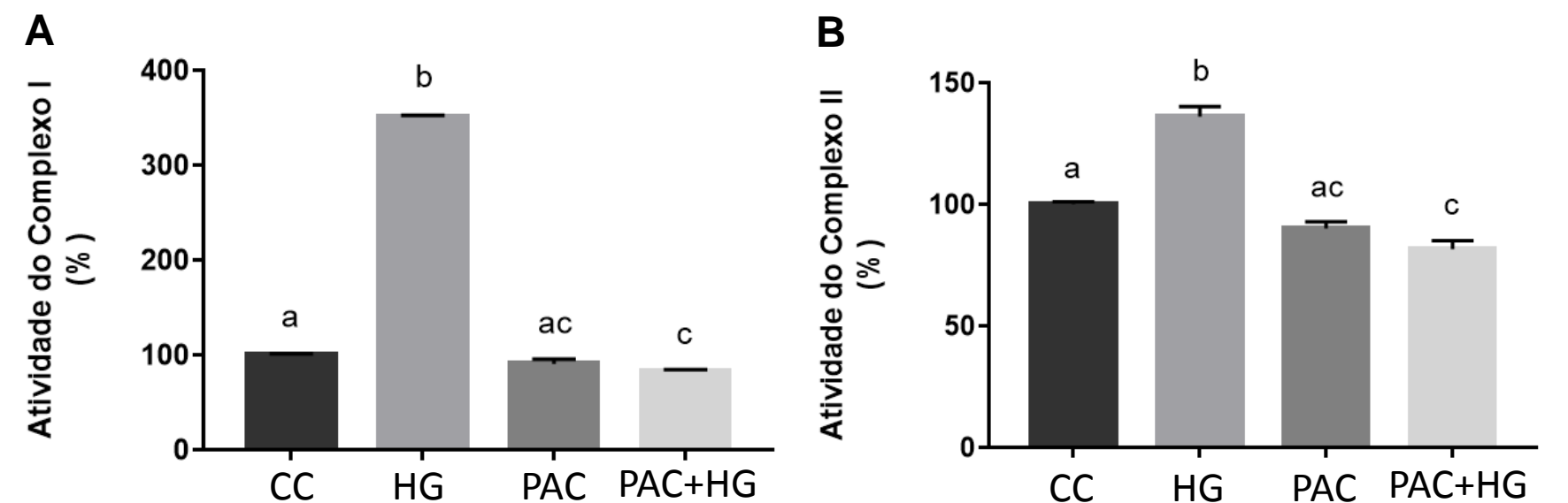


Figura 1. Atividade do complexo mitocondrial I (A) e II (B) em células endoteliais tratadas com PAC e/ou hiperglicemia durante 24 horas. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). CC: controle celular.

Em relação aos níveis de óxido nítrico (**Figura 2**), observou-se que no grupo HG houve uma redução na produção de ON. Porém, quando as células foram tratadas com PAC, mesmo na presença de HG, os níveis de ON não diminuíram. Um estudo em 2017 encontrou também redução na produção de ON na HG crônica em ratos diabéticos (Li *et al.*, 2017). Muito provavelmente, esse efeito está associado com a disfunção do endotélio vascular, que é uma das principais complicações do DM (Apostolova & Victor, 2015).

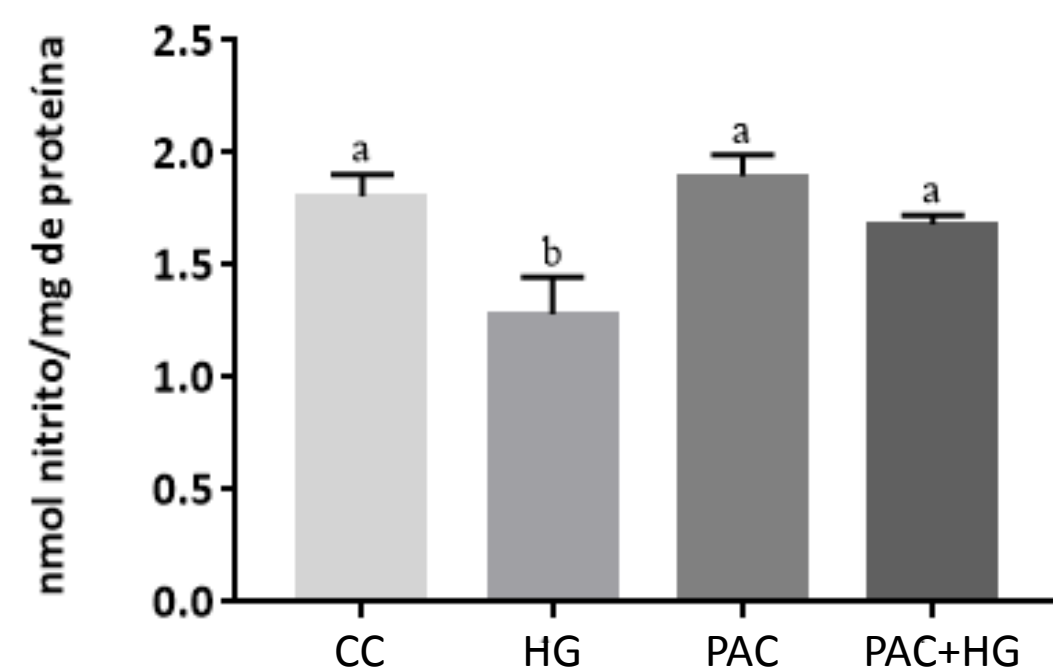


Figura 3. Níveis de óxido nítrico em células endoteliais tratadas com PAC em estado de hiperglicemia durante 24 horas. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos. PACs: proantocianidinas. HG: hiperglicemia 35mM.

Conclusão

Esses resultados preliminares sugerem que as PACs podem agir na regulação da mitocôndria, mais especialmente na cadeia transportadora de elétrons, contribuindo para uma melhora da atividade dos complexos mitocondriais e possivelmente uma menor geração de ER. Dessa forma, mais estudos acerca desse composto frente à hiperglicemia são necessários para esclarecer melhor os mecanismos de ação envolvidos nesse processo.

Referências

- Apostolova, N., & Victor, V. M. (2015). Molecular Strategies for Targeting Antioxidants to Mitochondria: Therapeutic Implications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 22(8), 686–729.
- Bradford, M.M. (1976). *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- 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.
- Green, L.C., Tannenbaum, S.R., Goldman, P. (1981). Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. *Science*, 212: 56–58.
- Luo, X., Wu, J., Jing, S., & Yan, L.-J. (2016). Hyperglycemic Stress and Carbon Stress in Diabetic Glucotoxicity. *Aging and Disease*, 7(1), 90–110.
- Pagano, G., Talamanca, A., Castello, G., Cordero, M.D., d'Ischia, M., Gadaleta, M.N., Pallardó, F.V., Petrovic, S., Tiano, L., Zatterale, A. (2014). Oxidative stress mitochondrial dysfunction across broad-ranging pathologies: toward mitochondrial-targeted clinical strategies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-27.
- Spinazzi, M. et al. (2012). Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nature Protocols*, vol. 7 n°6, 1235-1246.

Agradecimentos

