

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	A inibição da proteína fosfatase-2A altera a comunicação retículo-mitocôndria
Autor	AFONSO KOPCZYNSKI DE CARVALHO
Orientador	LUIS VALMOR CRUZ PORTELA

A inibição da proteína fosfatase-2A altera a comunicação retículo-mitocôndria

Afonso Kopczynski de Carvalho¹; Luis Valmor Cruz Portela¹

¹ Laboratório de Neurotrauma e Biomarcadores, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Introdução: A relação entre o retículo endoplasmático (ER) e a mitocôndria exerce fundamental importância na homeostasia de processos como tamponamento de cálcio, bioenergética e sobrevivência celular. Alterações que afetem a interação ER-mitocôndria contribuem para a progressão de doenças neurodegenerativas. A inibição da proteína fosfatase 2A (PP2A) causa estresse no retículo, aumento da proteína tau fosforilada e prejuízos cognitivos. Entretanto ainda não está elucidado se estas anormalidades afetam a homeostasia bioenergética e a sobrevivência celular.

Objetivos: O objetivo do trabalho foi investigar a influência da PP2A na interação ER-mitocôndria. **Métodos:** Camundongos CF1 com 90 dias de idade foram submetidos à cirurgia estereotáxica, e receberam uma injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de salina (CT, n=6) ou ácido ocadáico (OKA, n=6). Após 72 horas, avaliamos a memória de curta e longa duração (90 min e 24 h após o treino, respectivamente) no teste de reconhecimento de objetos (RO). Os animais foram eutanasiados 24 h após o RO. O hipocampo foi homogeneizado para avaliação do perfil bioenergético mitocondrial em um respirômetro de alta-resolução (Oxygraph-2k). A produção de peróxido de hidrogênio foi medida pelo ensaio com *Amplex-Red*[®], e o potencial de membrana pelo ensaio com *Safranina-O*. O imunoconteúdo hipocampal dos marcadores de estresse do retículo *EIF2a/pEIF2a*, *GRP78*, *CHOP*; e dos marcadores pro-apoptóticos *pTau^{ser396}*, *Bax*, *BCL-2*, *Citocromo-c* e *Caspase-3/Caspase-3* clivada foram analisados por *Western blot*. A viabilidade celular foi estimada pelo ensaio de *MTT*. Utilizamos a *Principal component analysis* (PCA) para estimar matematicamente as interações entre as variáveis. As diferenças estatísticas entre os grupos foram testadas pelo teste-t de Student, e o nível de relação entre as variáveis foi analisado pelo coeficiente de correlação linear de Pearson. O nível estabelecido de significância foi de $p < 0,05$. Este projeto foi aprovado em relação aos seus aspectos éticos (UFRGS #CEUA: 31443). **Resultados:** O grupo OKA apresentou prejuízo nos testes de memória de curta e longa duração, bem como um aumento nos níveis de fosforilação da proteína tau. Ainda, houve um aumento significativo nos níveis da proteína GRP78 e da razão *EIF2a/pEIF2a*, concomitante com uma diminuição no controle respiratório e aumento no extravasamento de prótons e peróxido de hidrogênio no grupo OKA. Não houve diferença no potencial de membrana mitocondrial entre os grupos. Além disso, observamos no grupo OKA um aumento das proteínas pró-apoptóticas *CHOP*, *Bax/BCL2*, *Citocromo-c*, e *Caspase-3* clivada, acompanhado da diminuição da viabilidade celular. As análises feitas pelo PCA demonstraram que estas variáveis combinadas (PC1) contribuem com 80% das alterações encontradas.

Conclusão: A inibição de PP2A alterou a comunicação ER-mitocôndria por mecanismos envolvendo estresse do retículo e prejuízos na bioenergética. Ao contrário do que tem sido proposto, nós sugerimos que estas alterações exercem igual contribuição para o prejuízo cognitivo e maior impacto na morte celular do que a hiperfosforilação da Tau.