XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

Controle molecular da função mitocondrial pela proteína ATM

Luciana Moreira Ferreira Leite*, Leonardo R. Silveira.

Resumo

A disfunção mitocondrial e o desenvolvimento da resistência à insulina no músculo esquelético são uma característica em diabéticos. Recentemente, foi demonstrada uma forte associação entre deficiência de ATM e estresse oxidativo, uma condição favorável ao surgimento de doenças neurodegenerativas, oncogênicas e metabólicas. Portanto, nossa hipótese é que a ATM possa regular a função mitocondrial protegendo as células musculares contra o desenvolvimento da resistência à insulina podendo abrir novas perspectivas terapêuticas no controle do diabetes tipo 2.

Palavras-chave:

ATM, disfunção mitocondrial, resistência à insulina..

Introdução

Recentemente, foi demonstrado que a proteína kinase ataxia-telangiectasia mutada (ATM), expressa na maioria dos tecidos, é membro da família de kinases relacionadas a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3-K). A atividade dessa proteína é induzida em resposta a danos no DNA ativando enzimas de reparo. Diante disso, células derivadas de pacientes com mutações no gene da ATM exibem baixa capacidade de controle do ciclo celular, bem como, instabilidade cromossomal seguido de danos ao DNA. Estudos tem demonstrado que ATM pode ser ativada por alterações redox intracelulares independentemente de danos ao DNA, por uma via independente de MRN. Foi demonstrada forte associação entre deficiência de ATM e estresse oxidativo, condição favorável à instalação de doenças neurodegenerativas, oncogênicas e metabólicas. Em camundongos nocautes para ATM, foi verificado aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) seguido de danos celulares em células do sistema nervoso central (1). Interessante, após análise proteômica, células expostas à radiação ionizante, uma condição conhecida de aumento na produção de oxidantes e danos genômicos, exibiram aumento em aproximadamente 700 proteínas possivelmente alvos de ATM. Embora a maioria tenha sido identificada como componentes da via de reparo de DNA, uma parte foi identificada como proteínas associadas à via de sinalização da insulina. Considerando a importância da ATM na captação de glicose e na expressão de antioxidantes intracelulares, estamos propondo a hipótese de que a ATM seja um importante regulador da expressão de PGC1 alfa no tecido muscular protegendo as células musculares contra a resistência à insulina.

Resultados e Discussão

Neste estudo investigamos o efeito da superexpressão e do silenciamento de ATM na transcrição e no conteúdo da proteína PGC1, no consumo de oxigênio e na resposta à insulina em cultura de células musculares. Inicialmente, estabelecemos o cultivo de células musculares da linhagem C2C12 no laboratório e posteriormente padronizamos a técnica de consumo de oxigênio em células musculares controles. Numa próxima etapa, foi utilizado um protocolo já padronizado pelo grupo para indução de resistência à insulina, com exposição das células C2C12 ao ácido palmítico (600 μ M) por 24 horas. Como forma de estimular a maior atividade mitocondrial e

tentar relacionar este efeito com a expressão de ATM, as células C2C12 foram expostas ácido graxo poliinsaturado linoléico (100 μ M). Não foram observadas alterações significativas na expressão de ATM após tratamento com o ácido palmítico sugerindo que seria necessário avaliar outros tempos de tratamento e concentrações do ácido graxo para um melhor entendimento da relação entre resistência à insulina e modulação de ATM. No grupo de células expostas ao ácido graxo insaturado linoléico foi observado aumento na expressão de ATM sugerindo que aumento na proteção da função mitocondrial pelos ácidos graxos insaturados pode estar associado ao aumento de ATM. Por outro lado, as análises de expressão do PGC1 α mostraram que a expressão desse gene foi aumentada somente após exposição ao ácido graxo saturado (ácido palmítico) sugerindo que agudamente os ácidos graxos saturados, compostos conhecidos de indução de disfunção mitocondrial, possam estar induzindo aumento na sinalização de biogênese de mitocôndrias. Embora esses resultados são preliminares, eles sugerem que o aumento da função mitocondrial contribui para o aumento da expressão de ATM, uma proteína que foi recentemente mostrada na mitocôndria exercendo possivelmente a função de proteção de genoma.

Expressão gênica

	Controle	AGS	AGI
ATM	1.15 $\pm$ 0.1	0.97 $\pm$ 0.2	1.52 $\pm$ 0.2
PGC1 α	1.09 $\pm$ 0.13	1.33 $\pm$ 0.2	0.92 $\pm$ 0.1

Tabela 1. Expressão dos genes ATM e PGC1 α em células musculares C2C12 controles, expostas ao ácido palmítico (AGS) ou ao ácido graxo insaturado (AGI) durante 24h.

Conclusões

Nossos resultados preliminares indicam que a proteína ATM pode ser uma proteína importante na regulação do PGC1 α e consequentemente da função mitocondrial em células musculares.

Agradecimentos

Agradecimento ao Centro de Pesquisa em Obesidade e Comorbidades da UNICAMP e ao PIBIC pela bolsa de iniciação científica.

1.Valentin-Vega YA, Milasta S, Steeves M, Dorsey FC, Cleveland JL, Green DR, Kastan MB. Mitochondrial dysfunction in ataxia-telangiectasia. Blood. 9;119(6):1490-500, 2012.
DOI: 10.19146/pibic-2017-79164