

## INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM MELATONINA SOBRE MECANISMOS CELULARES DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CÉLULAS ERITROLEUCÊMICAS K562

FF Torres<sup>a</sup>, VS Bernardo<sup>a</sup>, ACA Zucão<sup>a</sup>, DGH Silva<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

O presente trabalho teve como objetivo investigar o possível efeito modulador da melatonina (MEL) – uma indolamina particularmente eficiente no combate ao estresse oxidativo por agir de forma direta contra o mesmo e/ou indireta, atuando na indução da expressão de enzimas antioxidantes – sobre as vias de sinalização redox PI3K/AKT/FOXO3 e KEAP1/NRF2/ARE, em células eritroleucêmicas K562 induzidas a diferenciação eritroide e submetidas a indução de estresse oxidativo, favorecendo a manutenção da homeostase redox celular. O estudo contou com três amostras pseudoreplicadas acompanhadas durante cinco dias, sendo as avaliações realizadas: antes do início (D0), no início (D2) e no final da diferenciação (D4). Nestes dias, a diferenciação eritroide foi avaliada pelo teste de benzidina, a viabilidade celular pelo método de azul de Trypan, os níveis de transcritos dos genes de importantes enzimas antioxidantes por qRT-PCR e as análises univariadas foram realizadas usando *General Linear Models (GLM)* no formato ANOVA *two-way* seguido de *post hoc* de Bonferroni, considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo. Além disso, cada amostra foi dividida nos seguintes grupos experimentais: células sem indução de estresse oxidativo e tratamento antioxidante (Referência); células sob indução de estresse com peróxido de hidrogênio (100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ); células tratadas com 1 nM (C1) e com 1 mM (C2) de MEL; por fim, células tratadas com as mesmas concentrações de MEL associados a indução do estresse (C1 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  e C2 +  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente). Dentre os principais resultados, observou-se o restabelecimento de níveis fisiológicos de NRF2 em ambas concentrações de MEL, sob indução de estresse, quando comparado ao grupo sob a ação apenas do estressor, sugerindo um efeito citoprotetor. O tratamento C1 relacionou-se com indução da expressão de genes antioxidantes por meio da via NRF2-ARE, quando comparados com suas respectivas referências. Este padrão foi observado no D0 para os genes da CAT, SOD1, PRDX1 e 6; no D2 para CAT, PRDX1 e 6 e no D4 para SOD1, PRDX1 e 6, sugerindo, inclusive, um efeito protetor da MEL em relação a PRDX1, uma vez que os tratamentos com MEL ocasionaram uma expressão semelhante aos níveis fisiológicos. Quanto a C2, esta relacionou-se com a indução da expressão de FOXO3, quando associada ou não a indução de estresse oxidativo por peróxido de hidrogênio; sendo que, no D4, C2 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  mostrou-se relacionada a uma redução de viabilidade celular possivelmente associada a ativação de vias apoptóticas. Dessa forma, os efeitos da administração de MEL em células eritroleucêmicas K562 apresentaram um padrão período e dose-dependentes contra o

estresse oxidativo induzido por  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com ação direta sobre a detoxificação do mesmo e indireta, visto que a via FOXO3 apresentou papel sugestivo de indução de vias apoptóticas, enquanto o fator de transcrição predominantemente responsável pela manutenção da homeostase redox foi o NRF2. Assim, conclui-se que a MEL desempenha papel importante na regulação da homeostase celular, sendo uma alternativa terapêutica promissora para doenças que apresentam um dano oxidativo exacerbado devido ao seu potente efeito redutor.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.042>

## ERGOTIONEÍNA COMO TERAPIA ANTIOXIDANTE: MECANISMOS CELULARES DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CÉLULAS ERITROLEUCÊMICAS K562

VS Bernardo<sup>a</sup>, FF Torres<sup>a</sup>, ACA Zucão<sup>a</sup>, DGH Silva<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o papel potencial que a ergotioneína (ERT), um antioxidante natural com uma ampla gama de propriedades citoprotetoras e mitigadoras de doenças, desempenha nos mecanismos de adaptação eritroide ao avaliar os níveis de expressão de vários genes associados às vias de sinalização redox MST1-FoxO3 e Keap1-Nrf2-ARE, utilizando células K562 induzidas a diferenciação eritroide como modelo experimental. Para tanto, foram avaliados a viabilidade celular por azul de Tripan e os níveis de transcritos dos fatores de transcrição FoxO3 e Nrf2, seus moduladores (MST1, KEAP1 e YWHAQ), bem como de importantes antioxidantes (SOD1, CAT, TRX, PRDX1 e PRDX2) envolvidos na adaptação redox por qRT-PCR. O estudo contou com três amostras pseudoreplicadas acompanhadas durante cinco dias de diferenciação celular, com avaliações em três períodos do processo de diferenciação: antes do início (D0), no início (D2) e final da diferenciação (D4); divididas nos seguintes grupos experimentais: células eritroides sem indução de estresse oxidativo e tratamento antioxidante (Referência); células sob indução de estresse com peróxido de hidrogênio (100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ); células tratadas com 1 nM (C1) e com 100  $\mu\text{M}$  (C2) de ERT; por fim, dois conjuntos de células tratados com as mesmas concentrações de ERT associados com a indução do estresse (C1 +  $\text{H}_2\text{O}_2$  e C2 +  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente). Análises univariadas foram realizadas utilizando *General Linear Models (GLM)* no formato ANOVA *two-ways*, seguido de *post hoc* de Bonferroni e, como alternativa multivariada de análise de grau de associação, foi adotada a análise de *General Regression Model (GRM)* com desenho de regressão, ambas considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo. Dentre os resultados obtidos, destaca-se que o tratamento C1 promoveu a indução de FOXO3 (D0 e 2), enquanto em C2 houve uma