

eP1220

O polimorfismo -866G/A no gene UCP2 promove uma diminuição da expressão de UCP2 em condições de estresse oxidativo em células HUVECS

Michelle Rodrigues de Oliveira, Liana Paula Abreu da Silva, Ana Paula Bouças, Rodrigo Carlessi, Taís Silveira Assmann, Letícia de Almeida Brondani, Daisy Crispim Moreira, Bianca Marmontel de Souza - HCPA

Introdução: A proteína desacopladora 2 (UCP2) é expressa em diferentes tecidos e atua dissipando o gradiente de prótons da cadeia respiratória mitocondrial, diminuindo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). A superprodução de EROs está associada com a retinopatia diabética (RD), uma complicação crônica do diabetes mellitus (DM). Um estudo do nosso grupo mostrou a associação do haplótipo -866A/55Val/Ins (polimorfismos -866G/A, Ala55Val e Ins/Del no gene UCP2) com risco para RD proliferativa em pacientes diabéticos e também com diminuição da expressão de UCP2 na retina humana. Estudos sugerem que o polimorfismo -866G/A afeta diretamente a expressão de UCP2 em alguns tipos celulares; entretanto, o efeito deste polimorfismo em células endoteliais sob diferentes condições de estresse oxidativo não é bem definido. **Objetivo:** Investigar o efeito do polimorfismo -866G/A sob a expressão de UCP2 em diferentes condições de estresse oxidativo em uma linhagem de células endoteliais humanas. **Métodos:** Células HUVECs foram transfectadas com plasmídeos pGL3 incluindo a região promotora do gene UCP2 (incluindo o alelo G ou A) e a sequência codificante da luciferase firefly, usando-se Lipofectamina LTX (Life Technologies). Após a transfecção, as células foram expostas a diferentes condições: 1) concentrações normais de glicose (4mM) ou glicose elevada (25mM) depois de 24h e 48h ou 2) incubadas com peróxido de hidrogênio (H₂O₂-0,1mM/l) por 1h. O plasmídeo pCMV que codifica a luciferase renila foi co-transfectado como controle interno. Após cada condição, os níveis de luciferase foram medidos com o Ensaio Dual-luciferase (Promega). **Resultados:** Células transfectadas por 24h e 48h com o plasmídeo contendo o alelo A em condições basais, apresentaram uma diminuição de 47% e 37% de UCP2 comparadas com células transfectadas com o plasmídeo contendo o alelo G (p=0,011 e p=0,0001). Além disso, em condições de glicose elevada, essa diminuição foi mais drástica (70% e 54%) nessas células (em relação ao alelo G; p=0,0001 e p=0,028). Após a incubação com H₂O₂, células contendo o alelo A, apresentaram níveis aumentados (20%) de UCP2 quando comparadas com células em condições basais (p=0,005). Além disso, houve uma diminuição de 15% de UCP2 em células transfectadas com o alelo A em relação a células com o alelo G (p=0,018). **Conclusão:** Nossos resultados mostram que o alelo -866A causa uma menor expressão de UCP2 em células HUVECs em condições de estresse oxidativo. **Palavras-chaves:** UCP2, estresse oxidativo, HUVECS