

## Administração de testosterona previne disfunção mitocondrial e atenua morte celular após trauma crânio encefálico.

Afonso Kopczynski de Carvalho<sup>1</sup>, Luis Valmor Portela, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Neurotrauma e Biomarcadores - Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.



### Introdução

O traumatismo crânio encefálico (TCE) está associado com um dano secundário caracterizado por disfunção mitocondrial, sinalização pró-apoptótica e a neurodegeneração. No TCE, a disfunção mitocondrial tem sido comumente descrita como uma fonte de crise metabólica celular, caracterizada pela diminuição da produção de ATP e aumento de espécies reativas de oxigênio. Acredita-se que isso aconteça, em parte, por uma deficiência da mitocôndria em tamponar os níveis de  $Ca^{2+}$ . Entretanto não está descrito ainda se essa alteração reflete um prejuízo no influxo ou efluxo de  $Ca^{2+}$ . Além disso, níveis aumentados de  $Ca^{2+}$  acionam mecanismos neurodegenerativos.

Sabe-se que os níveis de testosterona estão diminuídos após um TCE severo, e que esse hormônio influencia a função mitocondrial, o que justificaria a sua utilização como estratégia terapêutica. Nós hipotetizamos que uma terapia baseada em testosterona preservaria a bioenergética mitocondrial levando a uma diminuição da expressão de ativadores moleculares de neurodegeneração apoptótica.

### Métodos

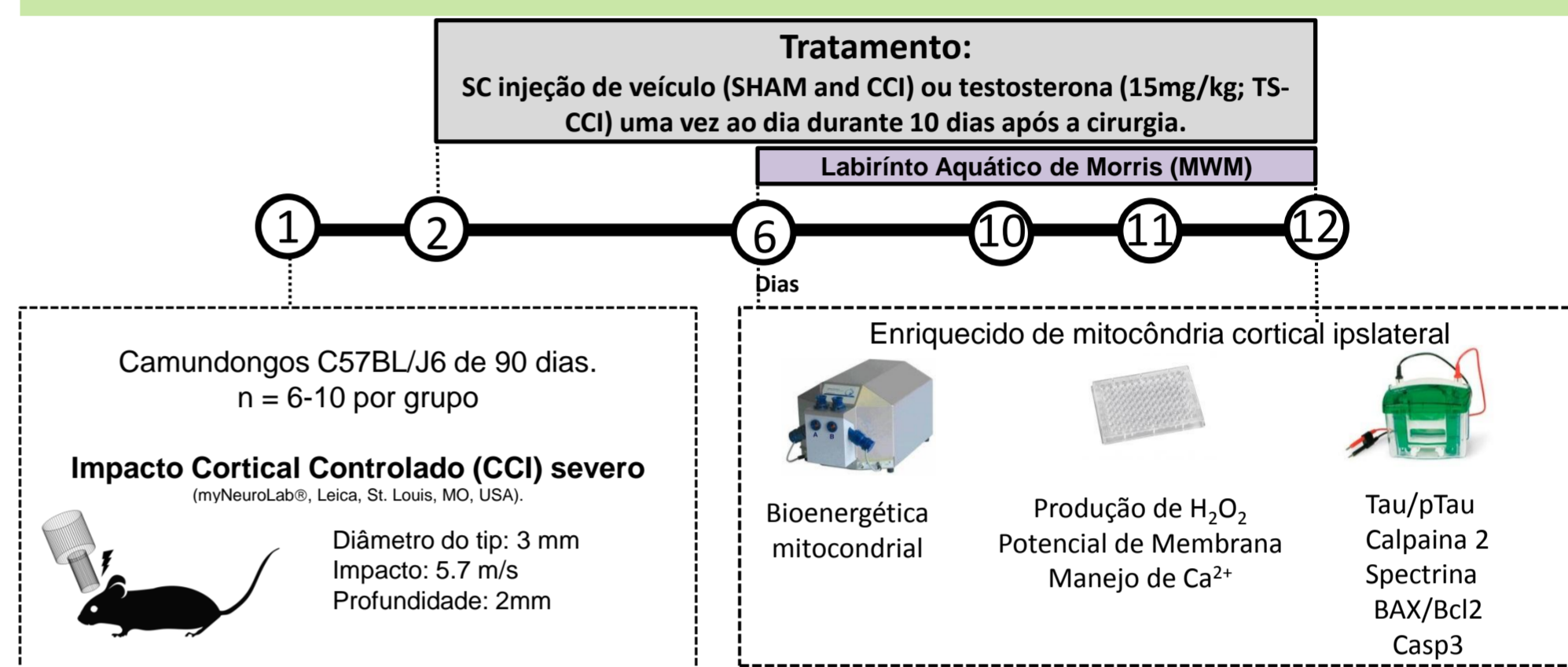


Figura 1. Desenho Experimental

STRING: foi realizado para avaliar o nível de interação entre as proteínas alvo.

Análise estatística: ANOVA de uma via com post-hoc de Tuckey ou Kruskal-Wallis (\* $p < 0,05$ ).

### Resultados e Discussão

#### Comportamento

#### Manejo de $Ca^{2+}$ mitocondrial e $\Delta\psi_m$ .

#### Função mitocondrial e Parâmetros oxidativos.

#### Marcadores de neurodegeneração

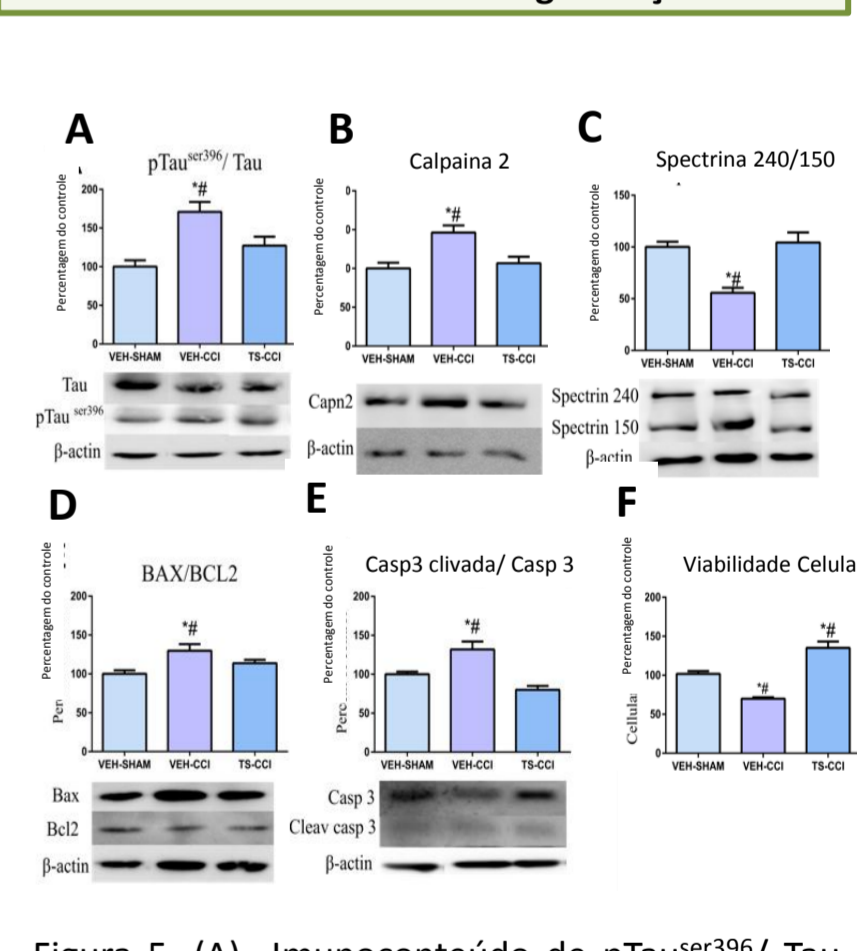
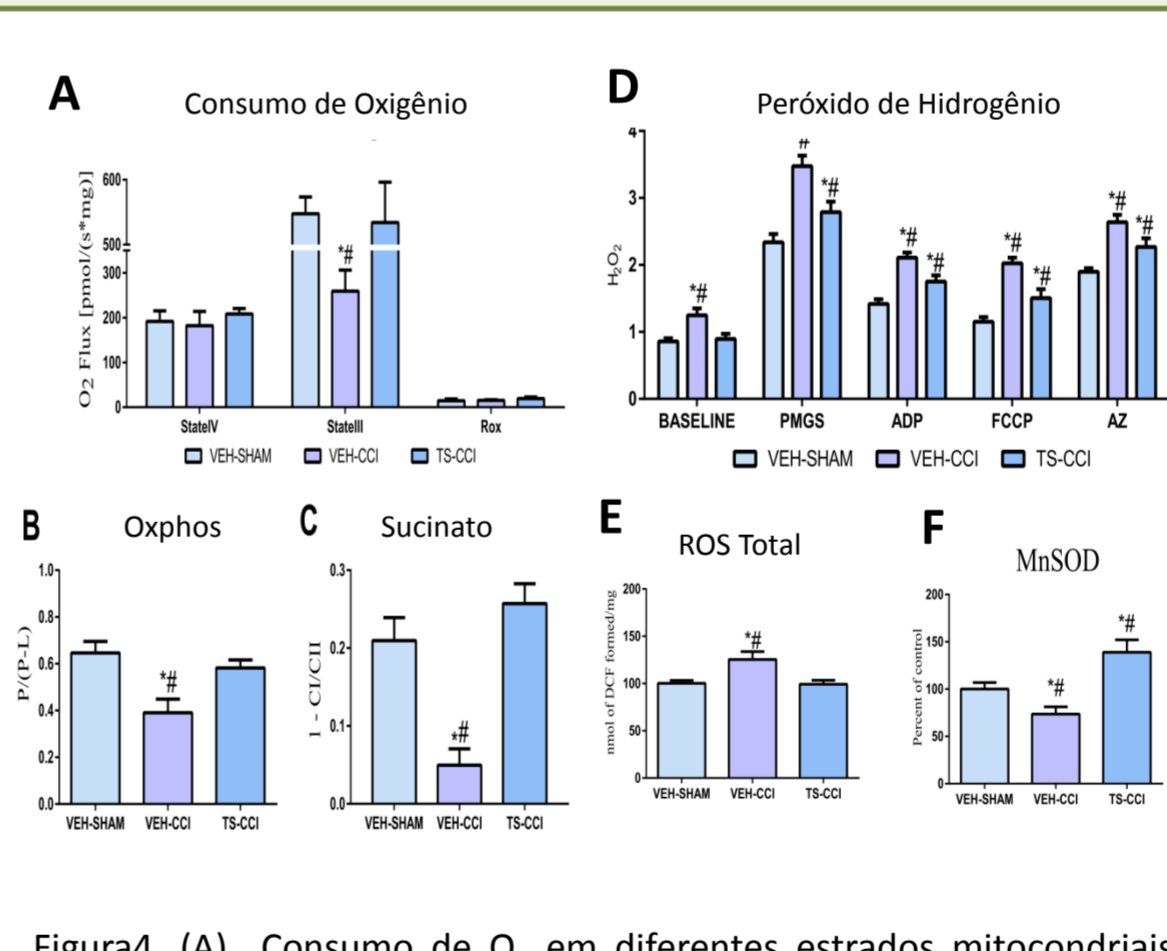
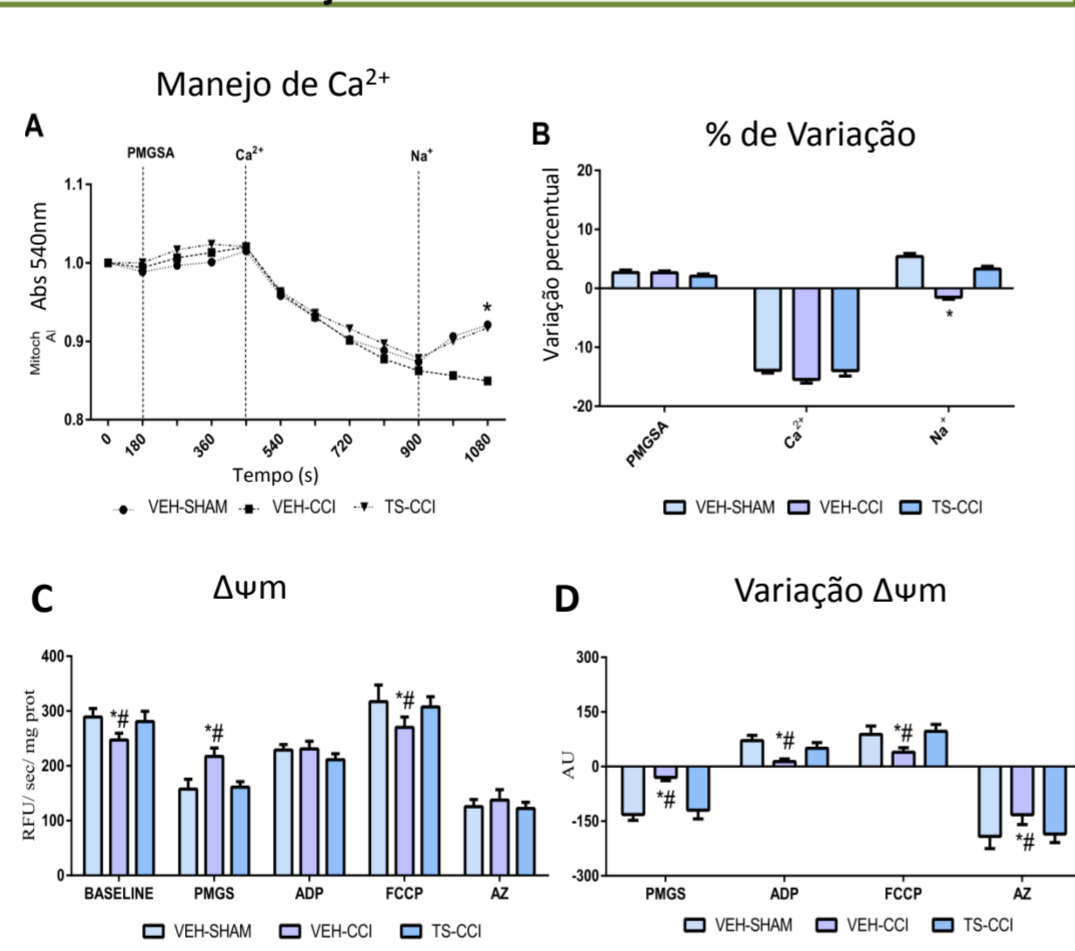
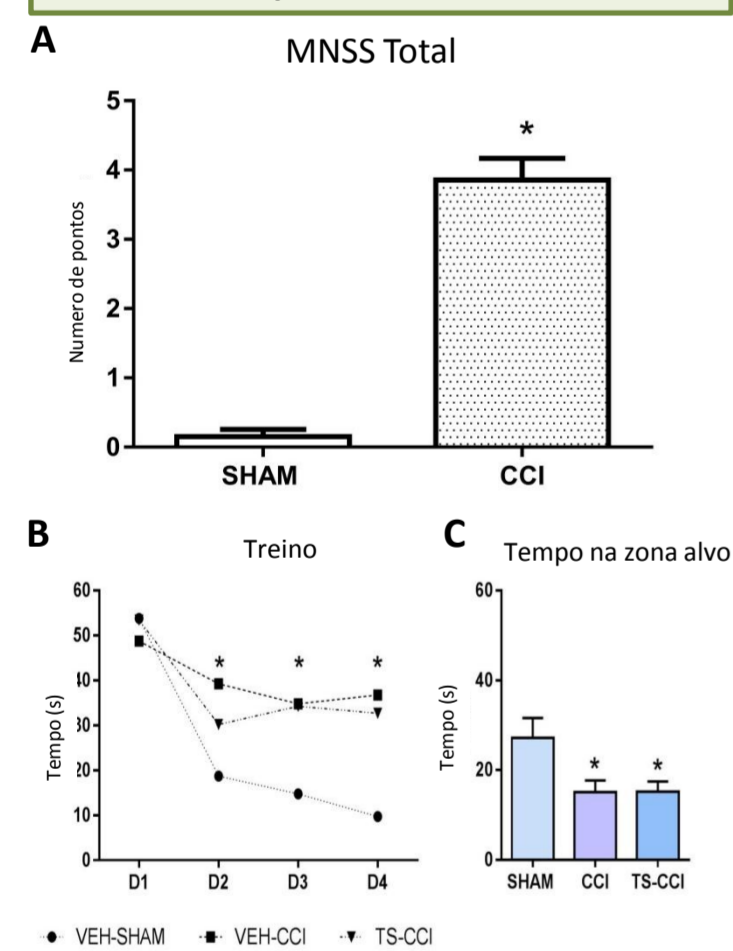


Figura 2. (A) Numero total de pontos obtidos no teste de escore neurológico comprovando a eficácia do TCE. (B) Treino do MWM. (C) Tempo na zona alvo do MWM mostrando o dano na memória causado pelo trauma.

Figura 3. (A) Protocolo utilizado para avaliar a capacidade da mitocôndria de tamponar  $Ca^{2+}$ . (B) Variação da Absorbância nos pontos de energização mitocondrial, influxo e efluxo de  $Ca^{2+}$ . (C) Protocolo para avaliação do  $\Delta\psi_m$ . (D) Variação do  $\Delta\psi_m$  que demonstra a capacidade da mitocôndria de formar e dissipar potencial.

Figura 4. (A) Consumo de  $O_2$  em diferentes estrados mitocondriais após adição sequencial de diferentes substratos e inibidores do sistema de transporte de elétrons. (B) Consumo de oxigênio acoplado a síntese de ATP. (C) O efeito do succinato na respirometria. (D) Produção de  $H_2O_2$  mitocondrial. (E) Produção total de espécies reativas de oxigênio. (F) Imunoconteúdo de MnSOD.

Figura 5. (A) Imunoconteúdo de pTau<sup>ser396</sup>/ Tau total. (B) Imunoconteúdo de Calpaina 2. (C) Imunoconteúdo de Spectrina 240/150. (D) Imunoconteúdo de BAX/BCL2. (E) Imunoconteúdo de Caspase 3 clivada/ Caspase 3 total. (F) Ensaio de Viabilidade Celular.

#### Interação gênica. Representação diferencial de análise de expressão

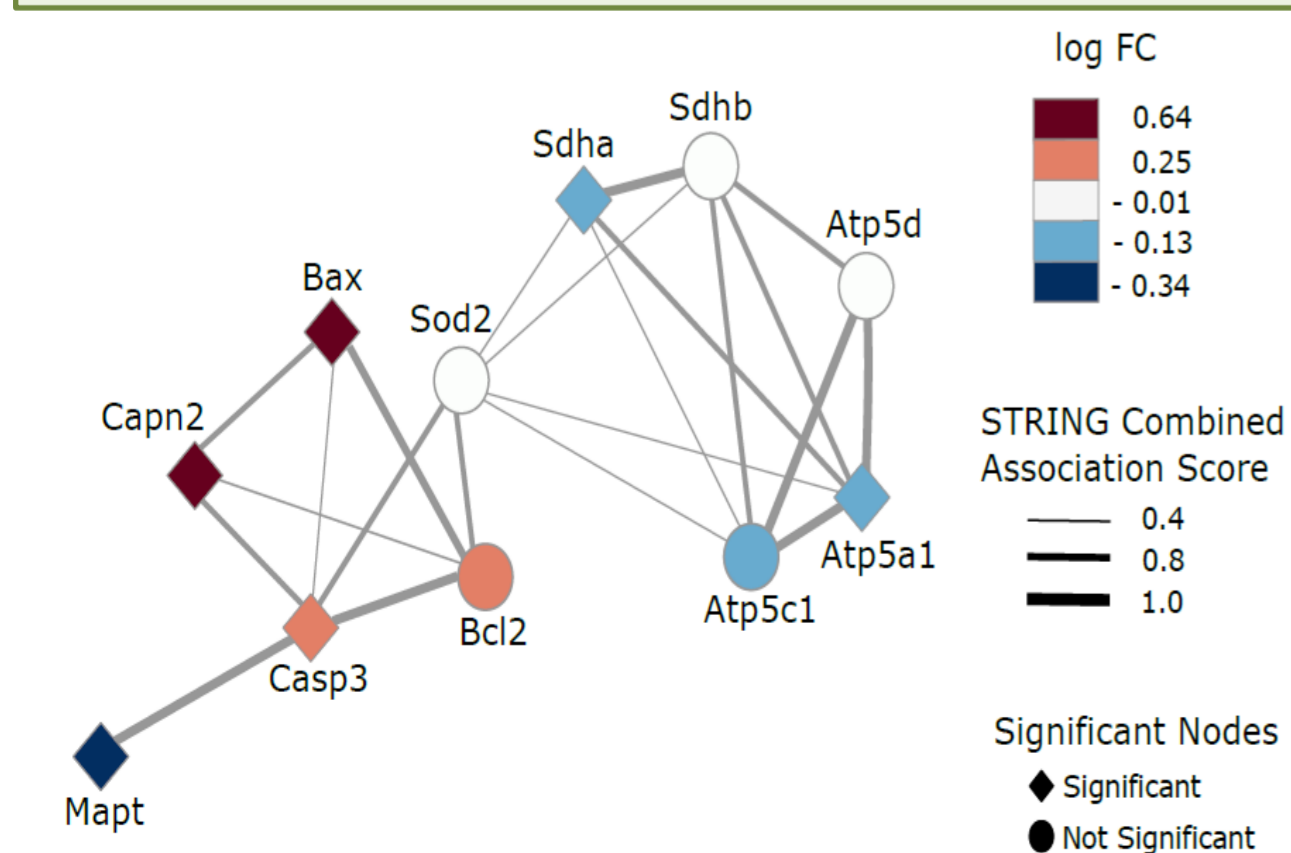


Figura 6. Foi utilizado GEO dataset (GSE 58485) e STRING para avaliar a interação entre as proteínas de interesse. A rede de interação formou dois grupos distintos, um de genes mitocondriais e outro de genes pró-apoptóticos. Esses dois grupos apresentam a SOD2 como uma ponte de interação entre eles.

### Conclusão

Em resumo, a administração de TS após um TCE grave preservou a regulação mitocondrial do efluxo de  $Ca^{2+}$  via NCLX, a capacidade de síntese de ATP e diminuiu a sinalização pró-apoptótica.

Estes resultados destacam o potencial da modulação do NCLX mitocondrial na prevenção da neurodegeneração associada ao TCE. Esses resultados fornecem evidências funcionais e moleculares para sugerir a TS como uma droga candidata para combater a disfunção mitocondrial após um TCE grave.