

Trabajos Seleccionados

PRESENTACIONES ORALES

O6 Evolución temporal de la disfunción mitocondrial cardíaca en diabetes tipo 1

Ivana Rukavina Mikusic¹, Micaela Rey², Manuela Martinefski³, Valeria Trípodí³, Laura Beatriz Valdez¹

¹UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, FISCOQUÍMICA, INSTITUTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR (IBIMOL), UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (UBA-CONICET), CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA; ²UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, FISCOQUÍMICA, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA; ³UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: ivirukavina@gmail.com

Introducción: hemos demostrado (Bombicino et al., 2016 y 2017) que 25 días de hiperglucemia sostenida conducen a una disfunción mitocondrial cardíaca generalizada que incluye disminución del consumo de O₂ tisular y mitocondrial, de las actividades de los complejos I-III, II-III y IV, de la producción de ATP, de la relación ADP/O y de la actividad de Mn-SOD, acompañado de un aumento en las velocidades de producción de H₂O₂, NO y ONOO-, y al desencadenamiento de biogénesis mitocondrial, aunque las “nuevas” mitocondrias muestran alteraciones estructurales. Dicha disfunción se presenta en ausencia de hipertrofia y de cambios en la función cardíaca en reposo, pero con compromiso cardíaco ante una sobrecarga de trabajo, sugiriendo que la disfunción mitocondrial precede a la falla miocárdica en pacientes diabéticos.

Objetivos: estudiar los eventos tempranos y analizar la evolución temporal de la disfunción mitocondrial cardíaca en un modelo de diabetes tipo 1.

Materiales y métodos: se indujo diabetes en ratas Wistar macho mediante una dosis de estreptozotocina (STZ, 60 mg/kg, ip). La glucemia se determinó a las 72 h (C: 127±5, DM: 415±23 mg/dl). Los animales se sacrificaron 7, 10 ó 14 días post-inyección de STZ (4, 7 ó 11 días de hiperglucemia) y se extrajeron los corazones. Se determinó la funcionalidad y biogénesis mitocondrial, la generación de especies reactivas del oxígeno y nitrógeno y el estado redox.

Resultados: no se observaron cambios ni en el consumo de O₂ mitocondrial ni en la actividad de los complejos respiratorios en los corazones de los animales sometidos a 4 días de hiperglucemia. Sin embargo, si la hiperglucemia se prolonga por 7 días se observa una reducción del consumo de O₂ en estado 3 sostenido por malato-glutamato (21%) y de la actividad del complejo I (17%), sin cambios en el ADP/O, acompañado de un aumento en las velocidades de producción de H₂O₂ (117%), NO (30%) y ONOO- (225%), una reducción en la actividad de Mn-SOD (15%) y de [GSSG+GSH] (28%). La [NO] y [O₂-] en estado estacionario son mayores en las mitocondrias cardíacas del grupo diabético. Aunque el aumento en la [NO]_{ss} fue similar a 7 y 25 días de hiperglucemia (25-30%), el incremento en la [O₂-]_{ss} fue superior luego de 25 días de hiperglucemia (350% a 25 días vs 150% a 7 días), al igual que la velocidad de producción de ONOO- (450% a 25 días vs 225% a 7 días). Contrariamente a lo observado luego de 25 días de hiperglucemia, la biogénesis mitocondrial -evaluada mediante la expresión de PGC-1alfa y la masa mitocondrial cardíaca-, después de 7 días de glucemia elevada no se encuentra desencadenada. Cuando la hiperglucemia se sostiene por 11 días, no sólo disminuye la respiración en estado 3 sustentada por malato-glutamato (21%) y la actividad del complejo I (27%), sino también las actividades

de los complejos II-III (24%) y IV (22%) y la respiración en estado 3 utilizando succinato (16%). Esta disfunción mitocondrial cardíaca se deteriora aún más si la hiperglucemia se mantiene durante 25 días observándose una disfunción mitocondrial generalizada (Bombicino et al. 2016 y 2017).

Conclusiones: el análisis del curso temporal de la disfunción mitocondrial cardíaca, desencadenada directa o indirectamente por la hiperglucemia, muestra que la disfunción del complejo I y el aumento de las velocidades de producción de H₂O₂, NO y, consecuentemente, de ONOO, constituyen señales prodrómicas de la disfunción mitocondrial que precede a la falla miocárdica en la diabetes.

O6 Cardiac mitochondrial dysfunction time course in Type 1 Diabetes

*Ivana Rukavina Mikusic*¹, *Micaela Rey*², *Manuela Martinefski*³, *Valeria Trípodí*³, *Laura Beatriz Valdez*¹

¹UNIVERSITY OF BUENOS AIRES, FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY, PHYSICO-CHEMISTRY, INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR MEDICINE (IBIMOL), UNIVERSITY OF BUENOS AIRES, NATIONAL COUNCIL OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL INVESTIGATIONS (UBA-CONICET), AUTONOMOUS CITY OF BUENOS AIRES, ARGENTINA; ²UNIVERSITY OF BUENOS AIRES, FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY, PHYSICO-CHEMICAL, AUTONOMOUS CITY OF BUENOS AIRES, ARGENTINA; ³UNIVERSITY OF BUENOS AIRES, FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY, PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY, AUTONOMOUS CITY OF BUENOS AIRES, ARGENTINA
Contacto: ivirukavina@gmail.com

Introduction: Results from our laboratory (Bombicino et al., 2016, 2017) have shown that sustained hyperglycemia for 25 days leads to generalized cardiac mitochondrial dysfunction that includes reduction of tissue and mitochondrial O₂ consumption, complexes I-III, II-III and IV activities, ATP production, ADP/O, and Mn-SOD activity; accompanied by enhancement of H₂O₂, NO and ONOO- generation rates, in addition to the triggering of mitochondrial biogenesis, although the "new" cardiac mitochondria of diabetic animals show structural alterations. This mitochondrial dysfunction occurs in the absence of hypertrophy and of changes in resting cardiac performance, but with cardiac compromise after a work overload, suggesting that mitochondrial dysfunction precedes myocardial failure in diabetic patients.

Aim: To study the early events and to analyze the cardiac mitochondrial dysfunction time course in a type 1 Diabetes Mellitus model.

Materials and methods: Diabetes was induced by Streptozotocin (STZ, single ip dose, 60 mg/kg) in male Wistar rats. Glycemia was measured at 72 h (C: 127 ± 5, DM: 415 ± 23 mg/dl). Animals were sacrificed 7, 10 or 14 days after STZ-injection (4, 7 or 11 days of hyperglycemia) and hearts were removed. Mitochondrial function and biogenesis, reactive oxygen and nitrogen species generation and redox state were determined.

Results: No changes were observed neither in mitochondrial O₂ consumption nor in the respiratory complexes activities in the hearts of the animals subjected to 4 days of hyperglycemia. However, if hyperglycemia persists for 7 days, state 3 O₂ consumption sustained by malate-glutamate (21%) and complex I activity (17%) were decreased, with no ADP/O variations. These changes were accompanied by increase in H₂O₂ (117%), NO (30%) and ONOO- (225%) generation rates, and reduction in Mn-SOD activity (15%) and [GSSG+GSH] (28%). [NO]ss and [O₂]-ss are higher in heart mitochondria of diabetic animals than in controls. Although the relative increase (to controls) in [NO]ss was similar after 7 and 25 days of hyperglycemia (25-30%), the relative increase in [O₂]-ss was greater after 25 days of hyperglycemia (350% at 25 days vs. 150% at 7 days), as well as the ONOO- production rate (450% at 25 days vs. 225% at 7 days). In contrast to the results obtained after 25 days of hyperglycemia, mitochondrial biogenesis -assessed from PGC-1 α expression and cardiac mitochondrial mass-, after 7 days of high blood [glucose] was not triggered. When hyperglycemia was sustained for 11 days, not only state 3 respiration supported by malate-glutamate (21%) and complex I activity (27%), but also complex II-III (24%) and IV (22%) activities and state 3 respiration supported by succinate (16%) were declined. This cardiac mitochondrial dysfunction deteriorated even more if hyperglycemia was sustained for 25 days, observing a generalized mitochondrial dysfunction (Bombicino et al. 2016, 2017).

Conclusions: The time course analysis of cardiac mitochondrial dysfunction -triggered directly or indirectly by hyperglycemia- shows that complex I dysfunction and increased production rates of H₂O₂, NO and, consequently, ONOO- are prodromal signals of mitochondrial dysfunction that precedes myocardial failure in diabetes.