

**XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica**

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



**UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação**

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Modulação de H⁺-ATPases por curcumina associada ao estresse oxidativo e disfunção mitocondrial em *Schizosaccharomyces pombe*

Daphne Alves Dias, Mayara Cristina de Freitas Correia, Manuela Izabel Paes Pinto, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Arnoldo Rocha Façanha, Anna Okorokova-Façanha

A manutenção dos níveis de H⁺ celular é alcançada pelo funcionamento coordenado das P/V-H⁺-ATPases, que geram gradiente eletroquímico de prótons através das membranas celulares. As H⁺-ATPases participam de diversos processos fundamentais, como regulação do pH citoplasmático, acidificação de organelas, homeostase do íons incluindo ferro, que está diretamente relacionado com a função mitocondrial e estresse oxidativo, tanto na levedura de fissão, quanto em células de câncer. A curcumina é um composto vegetal dotado de atividades antioxidante, antiproliferativa e antitumoral, capaz de quelar diversos íons metálicos como o ferro e atravessar facilmente as membranas. Dados prévios mostram intensa fragmentação vacuolar sugerindo que curcumina interfere com funções vacuolares como controle de pH, crucial para resistência ao estresse oxidativo. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da curcumina nas ATPases do tipo P e V, assim como modulação do estresse oxidativo e de mitocôndrias. Cepas do tipo selvagem (972h e Fy1180) e mutante sem Cta4 P5-ATPase de *Schizosaccharomyces pombe* foram cultivadas na presença de 50µM curcumina e/ou 50µM FeSO₄ e analisadas por microscopia de fluorescência utilizando marcador mitocondrial Mitotracker Red FM e a sonda não-fluorescente H2DCFDA. As cepas também foram submetidas ao fracionamento celular para análise da atividade das P/V-H⁺-ATPases. O tratamento com curcumina resultou na redução da amplitude máxima do transporte de H⁺ mediada por P-H⁺-ATPases, sendo 75%, 57% e 30% em wt 972h, wt Fy1180 e cta4Δ, respectivamente, enquanto a inibição das V-ATPases foi similar entre as cepas (48%), revelando energização diferencial das membranas. Observamos que efeito inibitório da curcumina no crescimento foi mais evidente em pH extracelular ácido. O tratamento com curcumina impediu a marcação das mitocôndrias com Mitotracker Red FM, em todas as cepas. Todavia, a suplementação com ferro não foi capaz de reverter o efeito da curcumina. Mitocôndrias danificadas liberam moléculas sinalizadoras, como espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem levar à morte celular. Demonstramos que a curcumina induziu ao acúmulo de ROS somente em mutante deficiente de Cta4p, evidenciando o papel essencial da Cta4 translocase para defesa antioxidativa e balanço de níveis de ROS na célula. Os dados mostram que a curcumina interfere no gradiente eletroquímico de H⁺ estabelecido por P/V-H⁺-ATPases, e no potencial de membrana mitocondrial. Podemos concluir que curcumina perturba homeostase de pH celular, causa disfunção mitocondrial e vacuolar/endossomal, impactando possivelmente nos sítios de contato e na sinalização e comunicação interorganelar.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF
Eixo temático: PPG Biociências e Biotecnologia
Fomento da bolsa (quando aplicável): CAPES*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Modulation of H⁺-ATPases by curcumin associated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction in *Schizosaccharomyces pombe*

Daphne Alves Dias, Mayara Cristina de Freitas Correia, Manuela Izabel Paes Pinto, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Arnoldo Rocha Façanha, Anna Okorokova-Façanha

Maintenance of cellular H⁺ levels is achieved by the coordinated function of P/V-H⁺-ATPases, which generate electrochemical proton gradients across cell membranes. H⁺-ATPases participate in several fundamental processes, such as cytoplasmic pH regulation, organelles acidification, ion homeostasis including iron, which is directly related to mitochondrial function and oxidative stress, both in yeast and cancer cells. Curcumin is a plant compound easily crossing membranes and endowed with antioxidant, antiproliferative and antitumor activities, able of chelating several metal ions such as iron. Previous results demonstrate intense vacuolar fragmentation implying that curcumin interferes with vacuolar functions such as pH control, crucial for resistance to oxidative stress. The goal of this study was to investigate the effect of curcumin on P and V type ATPases, as well as modulation of oxidative stress and mitochondria. Wild-type (*972h* and *Fy1180*) strains and mutant lacking Cta4 P5-ATPase of *Schizosaccharomyces pombe* were cultured in the presence of 50µM curcumin or 50µM FeSO₄ and analyzed by fluorescence microscopy using mitochondrial marker Mitotracker Red FM and the non-fluorescent probe H2DCFDA. The strains were also submitted to cell fractionation for analysis of P/V-H⁺-ATPase activity. Treatment with curcumin resulted in reduction of maximum amplitude of H⁺ transport mediated by P-H⁺-ATPases, being 75%, 57% and 30% in wt *972h*, wt *Fy1180* and *cta4Δ*, respectively, while V-ATPases inhibition was similar between strains (48%), revealing differential membranes energization. We observed that the inhibitory effect of curcumin on growth was more evident at acidic extracellular pH. Curcumin treatment prevented mitochondrial labeling with Mitotracker Red FM in all strains, however iron supplementation was not able to reverse the curcumin effect. Damaged mitochondria release signaling molecules, such as reactive oxygen species (ROS), which can lead to cell death. We demonstrated that curcumin induced ROS accumulation only in mutants lacking Cta4p, evidencing the essential role of Cta4 translocase for antioxidative defense and balance of ROS levels in the cell. Our data demonstrate that curcumin interferes with the electrochemical H⁺ gradient established by P/V-H⁺-ATPases, and with the mitochondrial membrane potential. In conclusion, curcumin disturbs cellular pH homeostasis, causes mitochondrial and vacuolar/endosomal dysfunction, possibly impacting contact sites and interorganellar signaling and communication.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

