

Rastreio *in vitro* de cianobactérias para isolar novos compostos para o tratamento de comorbidades relacionadas com a obesidade

M. Castro¹, M. Preto¹, C. Marques^{2,3}, D. Pestana^{2,3}, V. Vasconcelos^{1,4}, e R. Urbatzka¹

¹ CIIMAR / CIMAR - Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental da Universidade do Porto, Portugal

² Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

³ CINTESIS, Centro de Investigação em Tecnologias e Sistemas de Informação em Saúde, Porto, Portugal

⁴ Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal

Introdução

A obesidade tem vindo a aumentar gradualmente ao longo das últimas três décadas, em particular nos países ocidentais industrializados. Investigação recente tem-se focado na descoberta de produtos naturais para o tratamento da obesidade, e compostos de animais, plantas, fungos e fitoplâncton marinho mostraram promissoras propriedades anti-obesidade.

Cianobactérias, conhecidas como algas verde-azuladas e como produtoras de cianotoxinas, produzem muitos metabolitos secundários com atividades biológicas relevantes, como por exemplo, agentes anti-cancerígenos aprovados pela Federal Drug Agency (FDA, EUA) para a sua utilização clínica.

Objectivos

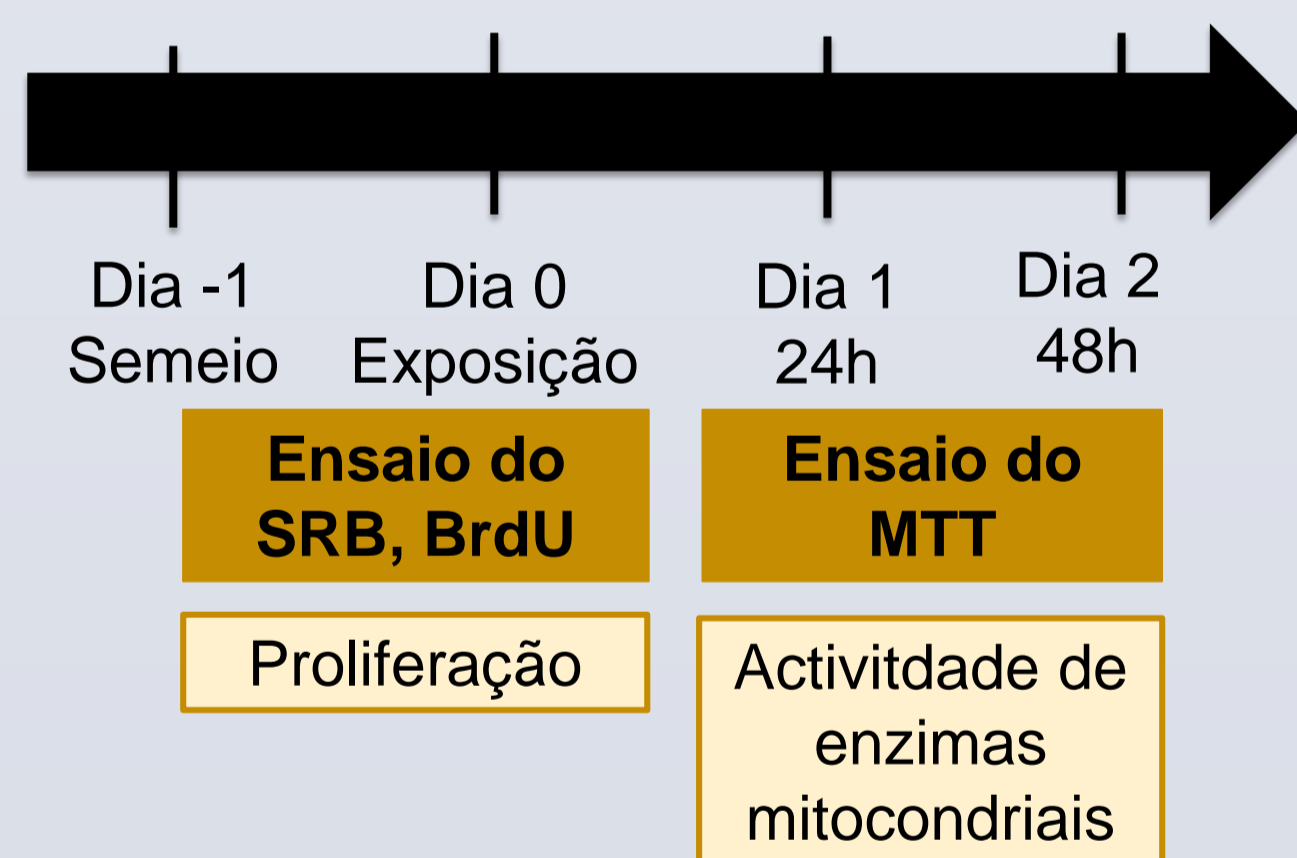
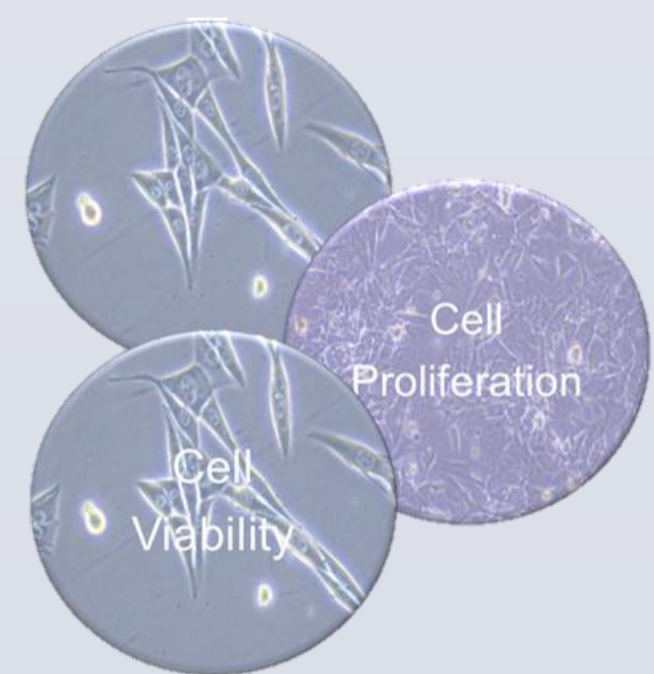
O nosso principal objectivo é explorar a riqueza química desses procariontes através do rastreio das frações de cianobactérias produzidas para actividade relevante no tratamento das comorbidades da obesidade em células de (pré-)adipócitos.

Modelo de estudo

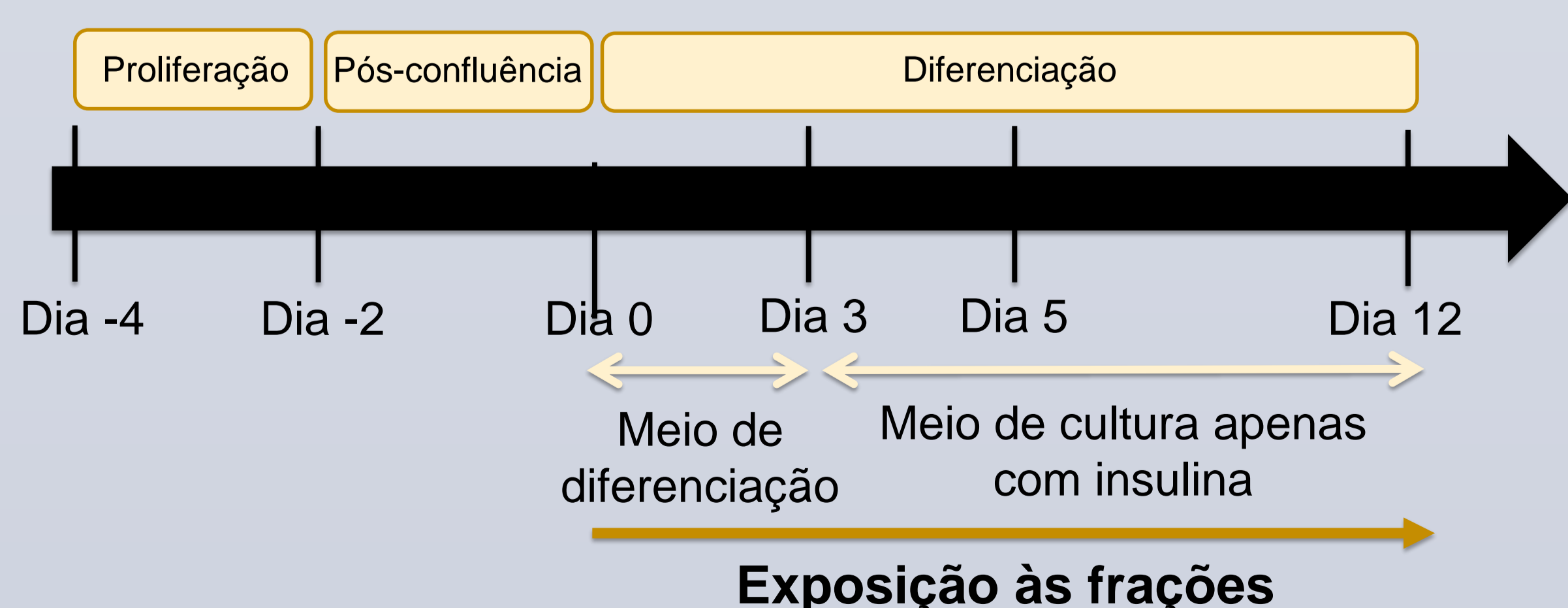
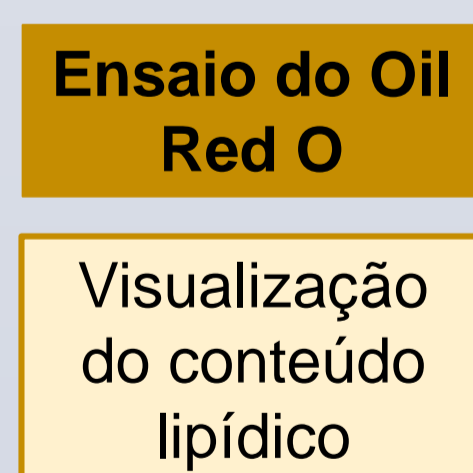
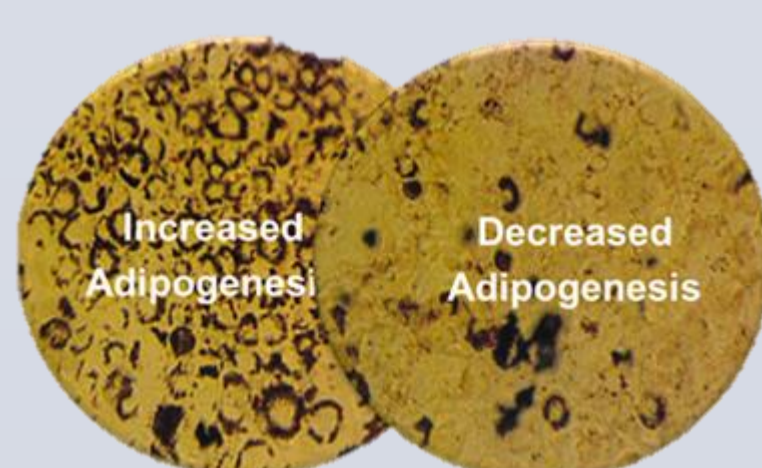
Utilizando a linha celular 3T3-L1, dois diferentes ensaios podem ser feitos:

- 1) Proliferação de pré-adipócitos
- 2) Adipogénese de pré-adipócitos para adipócitos maduros

1 Estudos em pré-adipócitos 24-48H



2 Estudos em adipócitos 10-12 Dias



Resultados

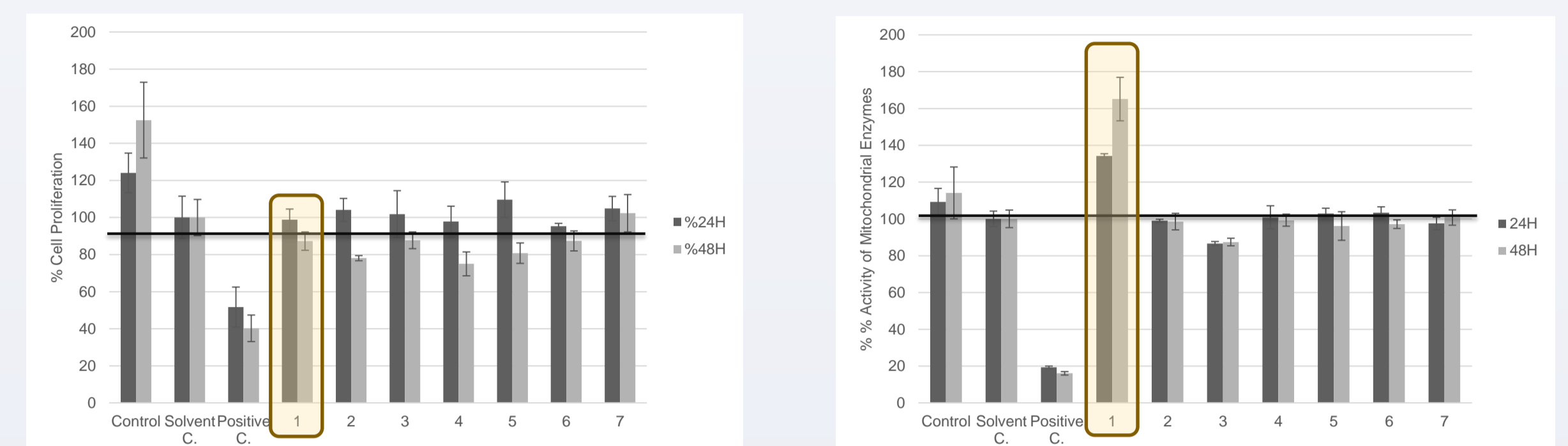


Figura 1 – Proliferação celular (ensaio do SRB, esquerda) e actividade de enzimas mitocondriais (ensaio do MTT, direita), em percentagem de controlo do solvente, para a sub-fração E14028 I7 8A+9 E7 J (1-7), com a concentração de exposição de 25 µg mL⁻¹, após 24 e 48 horas. O controlo de solvente corresponde a 1% DMSO e o controlo positivo a 20% DMSO.

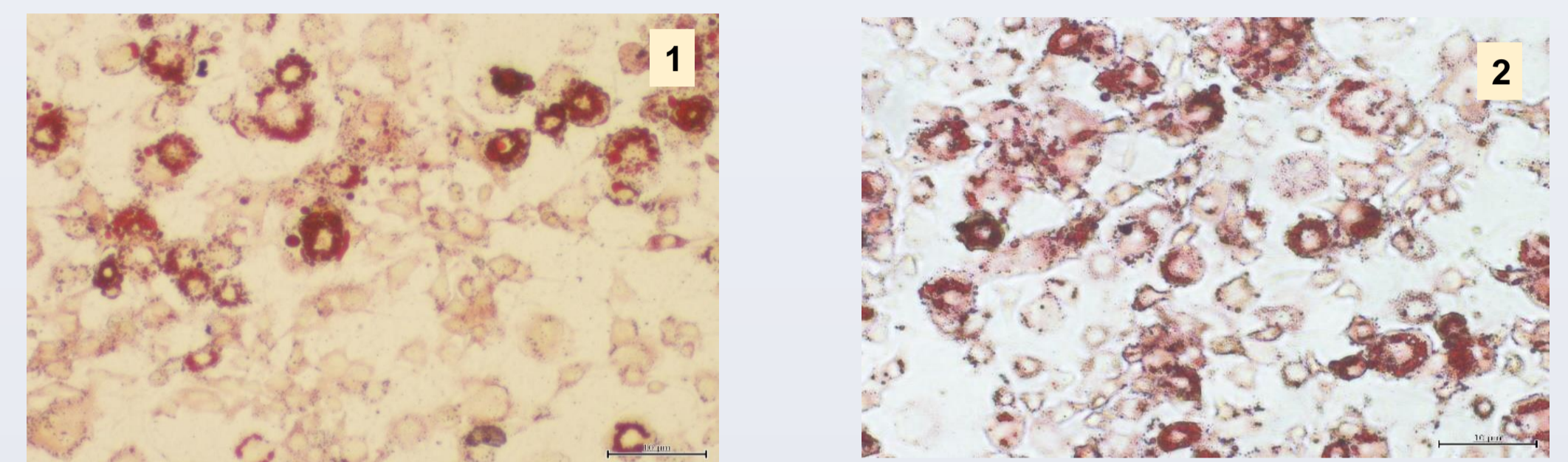


Figura 2 – Imagem de microscopia óptica (40x) de adipócitos maduros após coloração de Oil Red O após 12 dias de exposição (1) a 0,2% DMSO utilizado como controlo de solvente; (2) à sub-fração de cianobactéria E14031 D7, a uma concentração de 10 µg mL⁻¹.

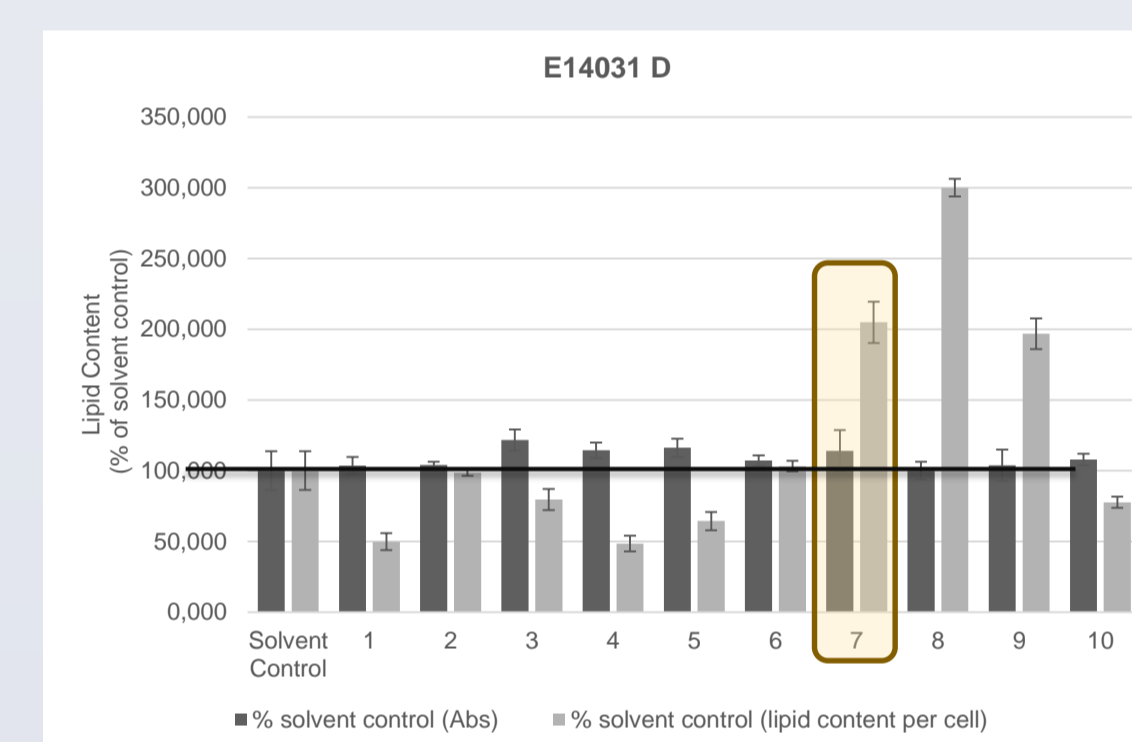


Figura 3 – Resultados para o ensaio de adipogénese (coloração de Oil Red O), em percentagem de controlo do solvente, para as sub-frações E14031 D sub-fractions 1-10 com a concentração de exposição de 10 µg mL⁻¹, após 12 dias de exposição. Controlo de solvente corresponde a 0,2% DMSO.

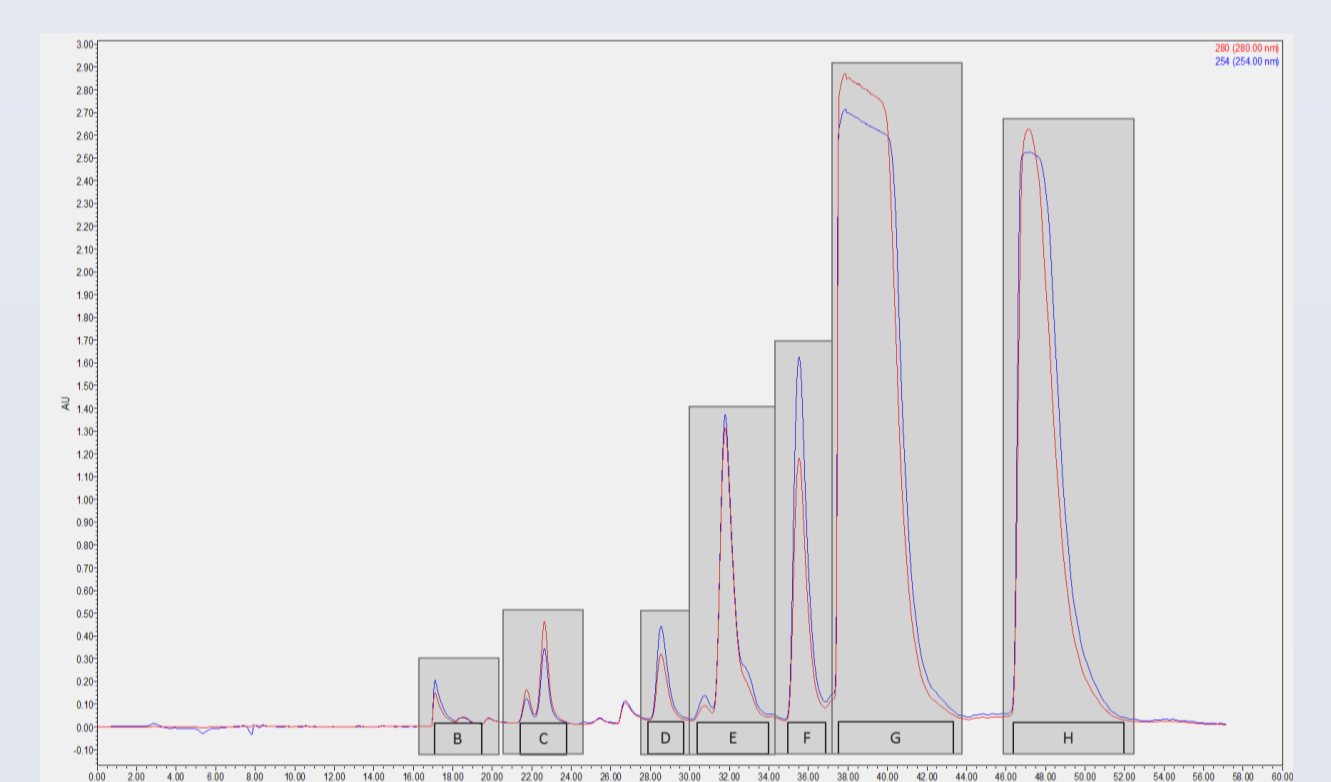


Figura 4 – Cromatograma para a separação (UV-Vis HPLC) da sub-fração E14031 D7 com as sub-frações resultantes destacadas.

Conclusões e trabalho futuro

- ✓ Efeitos promissores na atividade proliferativa e atividade de enzimas mitocondriais foram encontrados após exposição a frações de *Planktothrix planctonica* LEGEXX280 (E14028I) e *Aphanizomenon sp.* LEGE03283; enquanto que os efeitos mais forte sobre a adipogénese foram obtidos a partir de fracções de *Synechocystis sp.* LEGE07211 (E14031 D) e *Oscillatoria limnetica* LEGE0023.
- ✓ A sub-fração E14028 I7 8A + 9 E7 J1 (Figura 1) é o resultado de sete fraccionamentos, que mostra atividade pró-proliferativa. O composto está agora isolado, apresentando apenas algumas impurezas.
- ✓ A sub-fração E14031 D7 exerceu fortes efeitos pró-adipogénicos e um outro sub-fracionamento está sendo processado (Figura 3). O isolamento do composto procede-se.
- ✓ O rastreio *in vitro* de 3T3-L1 das frações de cianobactérias permitiu-nos avançar no isolamento de compostos naturais com atividades pró-proliferativa e pró-adipogénicas.
- ✓ A estimulação da proliferação e diferenciação de adipocitos pode ser benéfica para acomodar o excesso de energia, e para reduzir comorbidades associadas à obesidade como diabetes, doença de fígado gordo ou doença cardíaca.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Projeto MARBIOTECH (referência NORTE-07-0124-FEDER-000047) enquadrado no Programa Integrado de IC&DT MARVALOR - Building research and innovation capacity for improved management and valorization of marine resources, suportado pelo Programa Operacional Regional do Norte (ON.2 – O Novo Norte) e pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional, pelo projeto NovoMar (referência 0687-NovoMar-1-P) apoiados pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional, e por Financiamento Estratégico UID / multi / 04423/2013 através de fundos nacionais fornecidos pela FCT - Fundação de Ciência e Tecnologia e Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), no âmbito do programa PT2020. Cláudia Marques foi apoiada por uma bolsa de doutoramento do FCT (SFRH/BD/78367/2011).