

BUCINDOLOL ATENUOU A SINALIZAÇÃO PARA A APOPTOSE E REDUZIU O ESTRESSE OXIDATIVO EM UM MODELO *IN VITRO* DE DOENÇA CARDÍACA INDUZIDA POR NOREPINEFRINA

Bruna Gazzi de Lima Seolin¹, Ashley Nemec-Bakk², Heidi Forsyth², Stefanie Kirk², Paulo Cavalheiro Schenkel³, Adriane Bello-Klein¹ e Neelam Khaper²

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Northern Ontario School of Medicine (NOSM), Lakehead University

³ Universidade Federal de Pelotas

E-mail: bruna.gazzi@hotmail.com

Introdução: A perda de cardiomiócitos, característica nas cardiopatias, leva o miocárdio a um dano irrecuperável, sendo a morte celular o desfecho final do remodelamento cardíaco. A apoptose é um processo ordenado de morte celular, permitindo que a célula cometa suicídio. Sabe-se que o aumento da atividade simpática causada pela noradrenalina, presente nas doenças cardiovasculares, desencadeia a ativação da maquinaria da morte por induzir a apoptose e o estresse oxidativo. **Objetivo:** Explorar a ação do bucindolol, um bloqueador β_1 , β_2 , α_1 , com efeitos simpatolíticos, na sinalização da apoptose, no modelo *in vitro* de cardiopatia causada pela exposição das células à noradrenalina. **Materiais e Métodos:** Células cardíacas ventriculares de rato (H9c2) foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de SFB e 1% de antibiótico-antimicótico, e incubadas a 37°C com 5% de CO₂ e 100% de umidade. Grupos experimentais foram estabelecidos: células H9c2 que não foram expostas ao tratamento com noradrenalina ou bucindolol (CTL); células H9c2 expostas à noradrenalina (NE); células H9c2 tratadas com bucindolol (CTL+BCD); e células H9c2 expostas ao tratamento com noradrenalina e bucindolol (NE+BCD). A concentração de 10 μ M (24h) foi utilizada para a incubação com noradrenalina, seguida pelo tratamento com bucindolol (10 μ M) por 8h. A apoptose celular, medida pela presença de caspase-3/7 ativa, e a quantificação dos níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio (EROs) foram avaliadas por citometria de fluxo. Western blotting foi usado para analisar o imunoconteúdo de um marcador de dano lipídico, 4-HNE. Resultados: O bucindolol foi capaz de reduzir (66%) a coloração positiva para caspases ativas-3/7 no grupo NE+BCD quando comparado ao NE. Em relação à expressão de EROs e 4-HNE, o grupo NE+BCD demonstrou uma redução significativa de 34% e 20%, respectivamente, em relação ao NE. Conclusão: O

bloqueio adrenérgico causado pelo bucindolol foi eficiente na mitigação do aumento da apoptose causada pela noradrenalina, associada à redução do estresse oxidativo. Este trabalho foi financiado pelas agências de pesquisa (CAPES - Programa CAPES / DFATD) e CNPq.

BUCINDOLOL ATTENUATED THE SIGNALING FOR APOPTOSIS AND REDUCED OXIDATIVE STRESS IN AN *IN VITRO* MODEL OF HEART DISEASE NOREPINEPHRINE-INDUCED

Bruna Gazzi de Lima Seolin¹, Ashley Nemec-Bakk², Heidi Forsyth², Stefanie Kirk², Paulo Cavalheiro Schenkel³, Adriane Bello-Klein¹ e Neelam Khaper²

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Northern Ontario School of Medicine (NOSM), Lakehead University

³ Universidade Federal de Pelotas

E-mail: bruna.gazzi@hotmail.com

Introduction: The loss of cardiomyocytes, characteristic in heart diseases, leads the myocardium to an irrecoverable damage, with cell death being the outcome of cardiac remodeling. Apoptosis is an ordered process of cell death, allowing the cell to commit suicide. It is known that the increased sympathetic activity by norepinephrine, present in cardiovascular diseases, is a trigger for the activation of death machinery by apoptosis, and oxidative stress. . **Aim:** To explore the action of bucindolol, a β 1-, β 2-, α 1-blocker, with sympatholytic effects, in the apoptosis signaling, in the *in vitro* model of heart disease caused by exposure of cells to norepinephrine. **Materials and Methods:** Rat ventricle cardiac cells (H9c2) were cultivated in DMEM supplemented with 10% FBS and 1% antibiotic-antimycotic, and incubated at 37°C with 5% CO₂ and 100% humidity. Experimental groups were established: H9c2 cells that were not exposed to norepinephrine or bucindolol treatment (CTL); H9c2 cells exposed to norepinephrine (NE); H9c2 cells treated with bucindolol (CTL+BCD); and H9c2 cells exposed to norepinephrine and bucindolol treatment (NE+BCD). The concentration of 10 μ M (24h) was used for norepinephrine incubation, followed by bucindolol treatment (10 μ M) for 8h. Cellular apoptosis, measured by the presence of active caspase-3/7, and the quantification of intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were assessed by flow cytometry. Western blotting was used to analyze the immunoccontent of a lipid damage marker, 4-HNE. **Results:** Bucindolol was able to reduce (66%) positive staining for active caspases-3/7 in the NE+BCD group when compared to NE. In relation to ROS and 4-HNE expression, NE+BCD group demonstrated a significant reduction of 34% and 20%, respectively, in relation to NE. **Conclusion:** The adrenergic blockade caused by bucindolol was efficient in mitigating the increase of apoptosis caused by norepinephrine,

associated with reduced oxidative stress. This work was funded by the research agencies (CAPES – Program CAPES/DFATD) and CNPq.