

EFEITOS DA HIPERGLICEMIA E DO ENVELHECIMENTO SOBRE A



FRAGMENTAÇÃO DO DNA EM HEPATÓCITOS DE CAMUNDONGOS

Vitolo, A.C.; Ghiraldini, F.G.; Mello, M.L.S.

UNICAMP

Universidade de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, Brasil

Introdução

Evidências apontam que a hiperglicemia causada pela diabetes mellitus é o principal fator de contribuição do envelhecimento precoce em pacientes afetados, possivelmente devido ao dano oxidativo causado no DNA, levando à sua fragmentação. Essa alteração metabólica poderia acarretar em mudanças na estrutura e dinâmica da cromatina, como aquelas anteriormente observadas em hepatócitos de um grupo de camundongos NOD, que apresentavam glicemia maior do que 600 mg/dL. O objetivo desse estudo foi entender se a diabetes severa era comparável ao envelhecimento em termos de indução de fragmentação no DNA de hepatócitos de camundongos.

Materiais e Métodos

Os resultados do Teste Cometa foram analisados em hepatócitos dos grupos de camundongos abaixo:

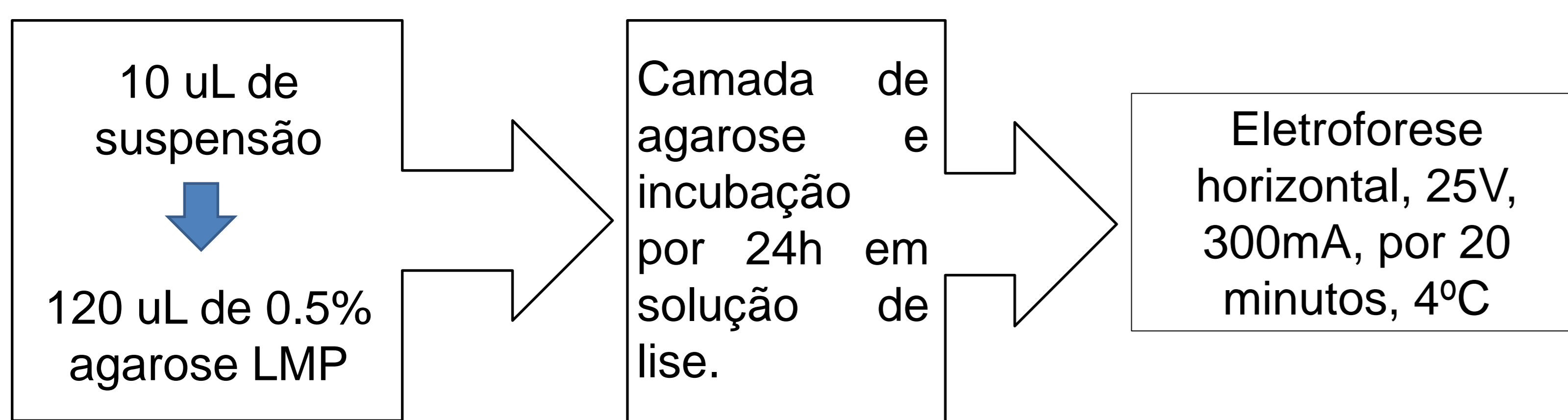
Grupo 1 – NOD

-normoglicêmicos
-hiperglicemia severa (>500 mg/dL)

Grupo 2 – Balb/c

-adultos-jovens (8 semanas)
-idosos (56 semanas)
-normoglicêmicos (controle diabetes severa)

Para cada condição experimental, n=5.



Células tratadas com peróxido de hidrogênio foram usadas como controle positivo. As preparações de nucleóide foram coradas com brometo de etídio e analisadas visualmente sob teste cego com microscópio de fluorescência. Os Cometas foram colocados em categorias (0-4) de acordo com a extensão da fragmentação do DNA.

Conclusão

Concluindo, danos oxidativos são induzidos no DNA de hepatócitos de camundongos expressando hiperglicemia severa, mas sem a queda no metabolismo associada com o envelhecimento, o que torna esses dois processos fisiológicos não indênticos para hepatócitos de camundongos.

Referências

- GONTIJO, A.M.M.C.; TICE, R. **Teste do cometa para detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas.** In: *Mutagenese Ambiental.* (RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K., eds). (2003), 1ª ed. Editora Ulbra, Canoas, p. 247-279.
- SINGH, N.P.; McCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHMEIDER, E.L. **A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.** *Exp Cell Res* (1988) 175:184-191
- SPEIT, G.; HARTMANN, A. **The comet assay: a sensitive cytotoxicity test for the detection of DNA damage.** *Methods Mol Biol* (2005) 291: 85-95.
- Moraes, AS; Guaraldo, AMA; Mello, MLS. **Chromatin supraorganization and extensibility in mouse hepatocytes with development and aging.** (2007) *Cytometry Part A* 71: 28-37.

Resultados

Foi observado que somente camundongos com diabetes severa apresentaram um aumento significativo na fragmentação do DNA e no Índice de Danos no DNA. Apesar dos camundongos idosos terem apresentado um pequeno aumento nesses parâmetros, não foi o suficiente para ser considerado diferente dos camundongos jovens (Fig 1 e 2).

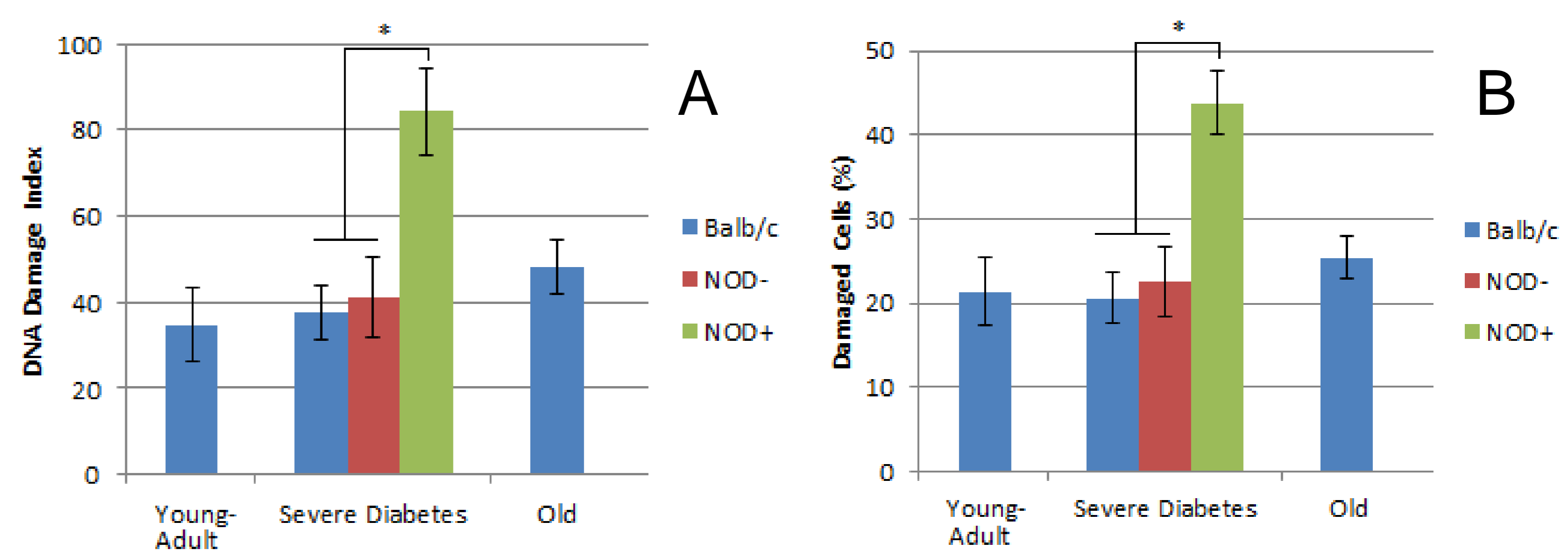


Figura 1 - Porcentagem de células danificadas (A) e índice de dano no DNA (B) para nucleóides de hepatócitos com teste cometa. *, diferença significativa em $P < 0.05$ (ANOVA); n = 5

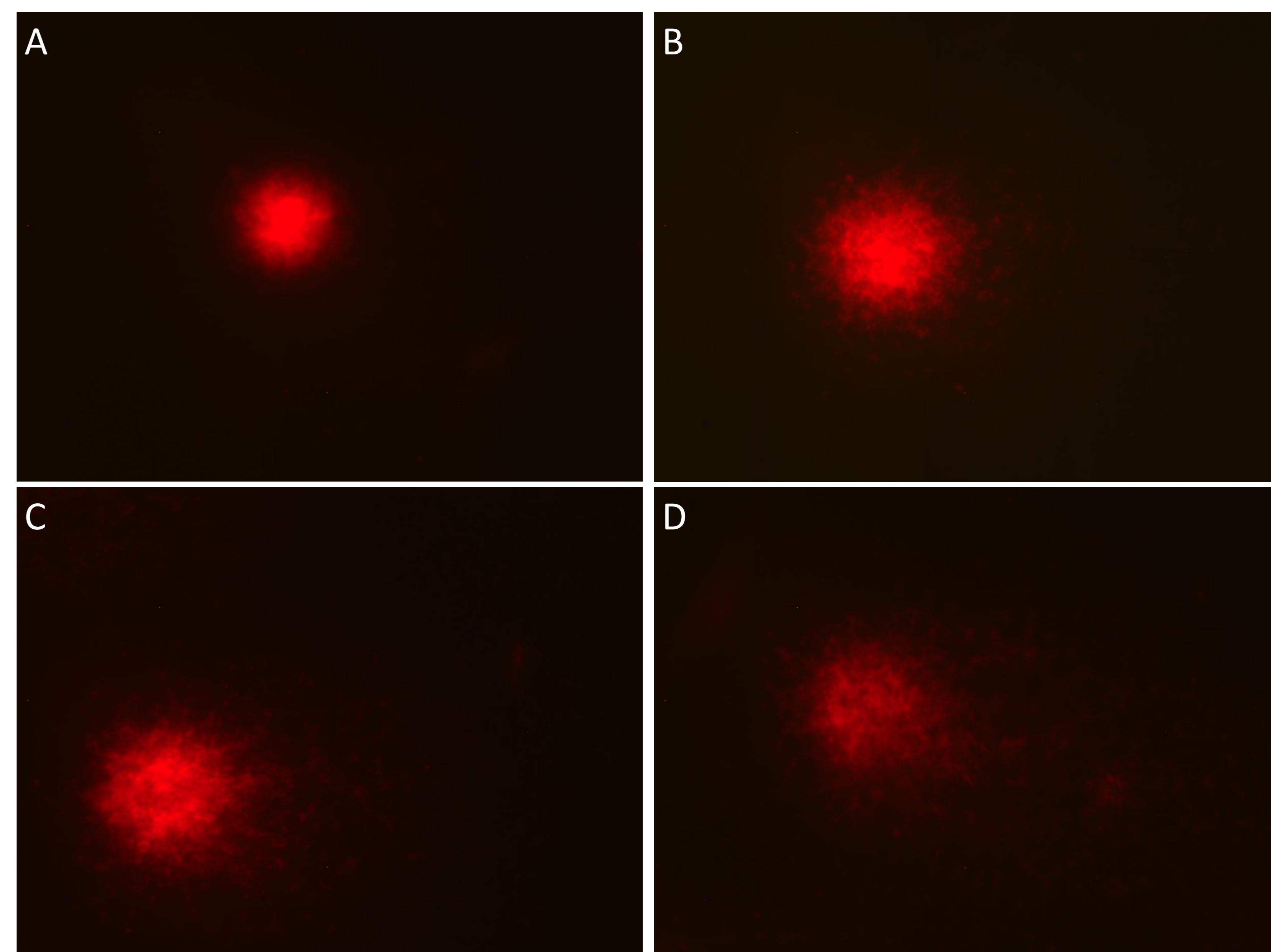


Figura 2 – A – D, Categorias dos cometas 0, 1, 2 and 3, respectivamente para nucleóides de hepatócitos de camundongos.

