

# DIVISÕES CELULARES ANORMAIS EM LINHAGENS CELULARES COM EXPRESSÃO DIFERENCIADA DE GENE *LOX*

Elenice Monte Alvarenga (IC)<sup>1</sup>; Maria Luiza Silveira Mello (PQ)<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>)INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP)

CNPq / Fapesp

Palavras-chave: lisiloxidases – cromossomos – mitose.

elenice\_ma@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Proteínas da família LOX (lisil-oxidases) são responsáveis pela formação de ligações cruzadas em colágenos e elastina, mas também realizam interações com a histona H1, resultando, em algumas células, em descompactação da cromatina (células interfásicas). Supondo-se que tais alterações na organização dos complexos DNA-proteína poderiam afetar os cromossomos durante a divisão celular, foram aqui estudadas imagens mitóticas em células transfectadas com um gene *lox* e células transfectadas com uma construção *antisense* do mesmo gene, afim de se identificar possíveis relações entre a expressão do gene *lox* e as características normais das divisões celulares.

## MATERIAL E MÉTODOS

COS-7 (fibroblastos renais transformados de macaco)  
Transfecção com plasmídeo *lox*- sense  
(polietilenimina 25 kDa)[1]

NRK-49F (fibroblastos renais normais de rato)  
Transfecção com plasmídeo *lox*- antisense  
(polietilenimina 25 kDa)[1]

Coloração com Azul de Toluidina e  
contra-coloração com Fast-Green

Análise em  
microscopia

Captura de imagens por câmera digital  
(Microscópio Zeiss Axiophot 2/video-  
analisador de imagem)

## RESULTADOS

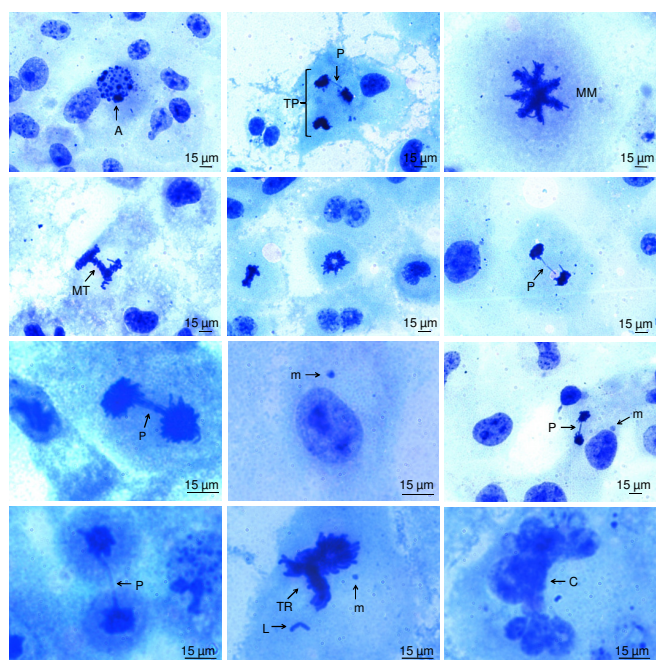


Figura 1: A, apoptose (seta); TP, segregação tripolar; P, ponte cromossômica (seta); MM, metáfase multi-polar; MT, metáfase tetrapolar (seta); m, micronúcleo (seta); L, cromossomo *lagging* (seta); TR, metáfase tripolar (seta); C, morte celular catastrófica (seta).

## REFERÊNCIAS

- [1] Giampuzzi, M., *et al*; 2005; *Biochim. Biophys. Acta*, 1745:370–381.  
[2] Lucero, H. A.; Kagan, H. M.; 2006, *Cell. Mol. Life Sci.*, 63:2304–2316.  
[3] Giampuzzi, M., *et al*; 2001; *J. Biol. Chem.*, 276(31):29226–29232.

Table 1: Freqüência de anomalias de divisão celular e morte celular em células COS-7 (%).

ITENS	COS-7 controle			COS-7 s-LOX		
	X	S.D.	n	X	S.D.	n
ÍNDICE MITÓTICO	4,05 <sup>a</sup>	0,59	4073	3,48 <sup>b</sup>	0,30	4089
MITOSSES ANÔMALAS	27,25 <sup>a</sup>	13,92	400	22,25 <sup>a</sup>	12,99	400
METÁFASES ANÔMALAS	40,50 <sup>a</sup>	4,50	200	35 <sup>b</sup>	0	200
PONTES CROMOSSÔMICAS	14 <sup>a</sup>	4	200	9,50 <sup>b</sup>	3,50	200
CROMOSSOMOS LAGGING	0,17 <sup>a</sup>	0,08	4264	0,07 <sup>a</sup>	0,03	4322
MICRONÚCLEOS	0,88 <sup>a</sup>	0,12	4225	0,45 <sup>b</sup>	0,20	4058
ÍNDICE APOPTÓTICO	0,40 <sup>a</sup>	0,04	4264	0,07 <sup>b</sup>	0,02	4322
MORTE CELULAR CATASTRÓFICA	0,26 <sup>a</sup>	0,06	4225	0,20 <sup>b</sup>	0,05	4016

Table 2: Freqüência de anomalias de divisão celular e morte celular em células NRK-49F (%).

ITENS	NRK-49F controle			NRK-49F as-LOX		
	X	S.D.	n	X	S.D.	n
ÍNDICE MITÓTICO	0,39 <sup>a</sup>	0,05	4112	2,64 <sup>b</sup>	0,13	4094
MITOSSES ANÔMALAS	22,33 <sup>a</sup>	7,45	76	5 <sup>b</sup>	1,87	400
METÁFASES ANÔMALAS	15,50 <sup>a</sup>	0,50	45	6,50 <sup>b</sup>	0,50	200
PONTES CROMOSSÔMICAS	29,17 <sup>a</sup>	4,17	31	3,50 <sup>b</sup>	1,50	200
CROMOSSOMOS LAGGING	0	0	4103	0,07	0,02	4090
MICRONÚCLEOS	0,44 <sup>a</sup>	0,01	4130	0,57 <sup>b</sup>	0,18	4182
ÍNDICE APOPTÓTICO	0,46 <sup>a</sup>	0,07	4103	0,61 <sup>b</sup>	0,08	4090
MORTE CELULAR CATASTRÓFICA	0,05 <sup>a</sup>	0,0030	4291	0,05 <sup>a</sup>	0,0005	4081

Letras diferentes, mesma linha, diferenças significativas, p 0,05 (Teste de Goodman).  
s-sense: as-antisense

## DISCUSSÃO

Nas células COS-7 transfectadas observou-se diminuição significativa nas freqüências de morte celular e de algumas anomalias associadas à divisão celular. Isto sugeriria que as interações LOX-H1 atuam reduzindo os sinais responsáveis por uma relação cromossomos-fuso mitótico anômala. Nestas células, o índice mitótico também foi reduzido em relação ao controle, o que poderia ser atribuído à perda de grupos amina na histona H1 pela ação de LOX, alterando significativamente as interações DNA-histonas e a disponibilidade dos elementos promotores no DNA aos fatores de transcrição [2] envolvidos na indução e controle da divisão celular. Em células NRK-49F as-LOX, ocorreram maiores freqüências de algumas anomalias relacionadas à divisão celular (cromossomos *lagging* e micronúcleos) e apoptose, consistente com a função de LOX na redução de sinais anormais para o fuso mitótico. Houve também um aumento significativo do índice mitótico, indicando que a redução de LOX provavelmente determine um tipo de independência de fatores de crescimento. Estes fatores, embora não sejam sinônimo de mitose, atuam como controladores do ciclo celular, mantendo um balanço com os sinais extra-celulares [3].