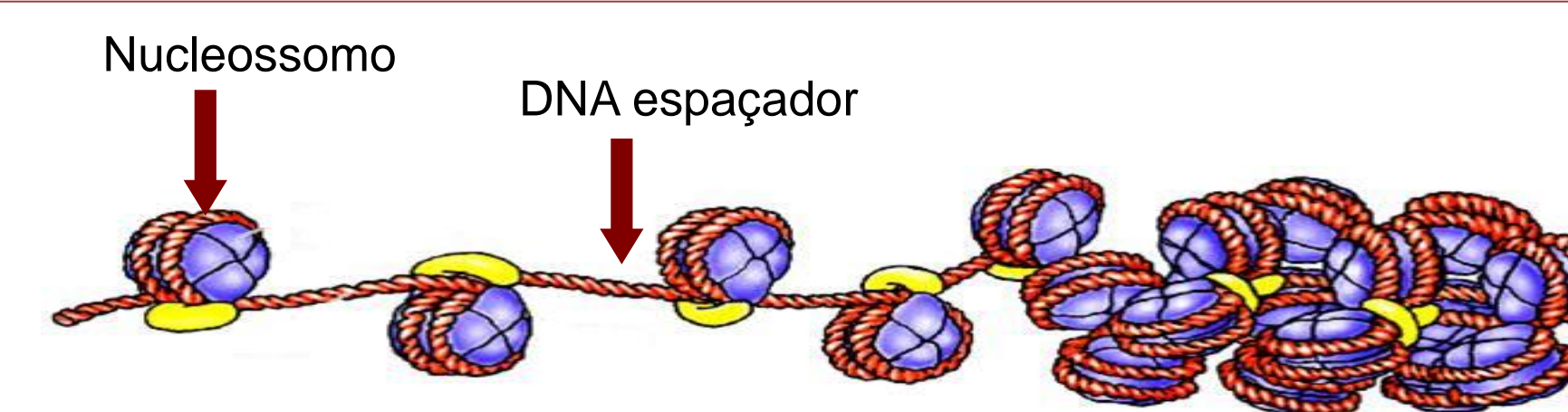


Introdução

Estudos anteriores, realizados com camundongos diabéticos não obesos (NOD) e camundongos BALB/c mostraram que sob condições de envelhecimento e expressão de diabetes mellitus do tipo I, a cromatina de núcleos de hepatócitos pode sofrer alterações em seu nível de compactação, em decorrência de fatores epigenéticos que são intensificados em situação de estresse. Dados prévios mostraram também que núcleos de hepatócitos de camundongos NOD diabéticos com diferente ploidia, reunidos em um único “pool” apresentavam altas taxas de digestão pela nuclease microcócica. O objetivo deste estudo foi analisar padrões de digestão pela nuclease microcócica em núcleos de hepatócitos de camundongos hiperglicêmicos e idosos e relacioná-los com o fenótipo cromatínico de núcleos discriminados segundo seu grau de ploidia.



Nuclease microcócica (MNase) → digestão preferencial do DNA espaçador (10-80 pb entre nucleossomos).

Estados conformacionais diferenciados da cromatina devido a fatores epigenéticos

Material e Métodos

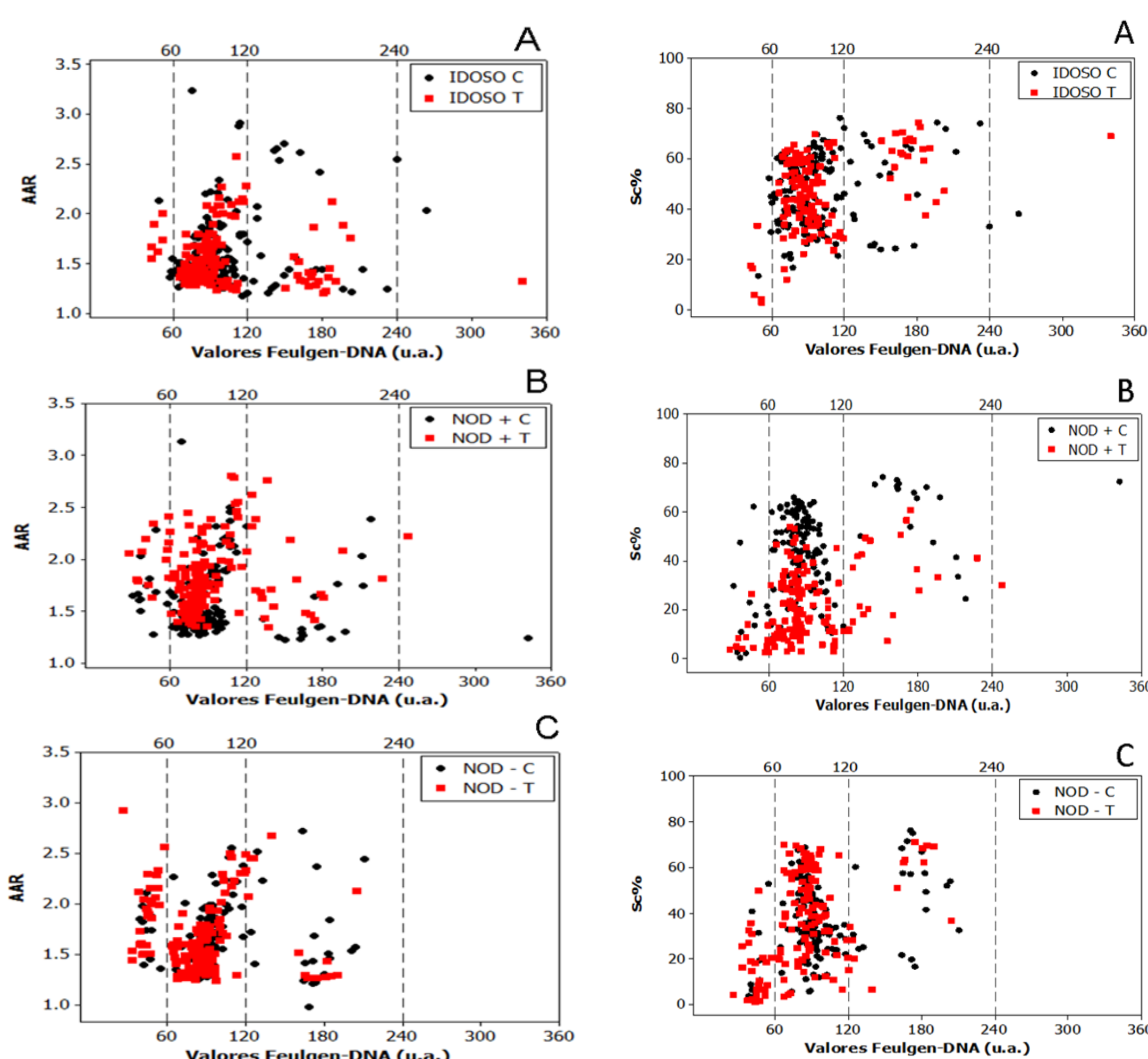
Foram utilizados decalques de hepatócitos de camundongos NOD e BALB/c. Os preparados foram submetidos à digestão por MNase na concentração 10U/ul de enzima por 2 minutos. A seguir foram corados por reação de Feulgen e os núcleos analisados em microespectrofotômetro de varredura automática. Lâminas controle (sem o tratamento) foram preparadas para os três grupos experimentais.

Grupo 1
Animais idosos (BALB/c – 56 semanas)

Grupo 2
Animais hiperglicêmicos (NOD – 29 semanas)

Grupo 3
Controle - animais normoglicêmicos (BALB/c)

Resultados e Discussão



Gráficos de dispersão dos valores Feulgen-DNA em relação aos valores de AAR e Sc%

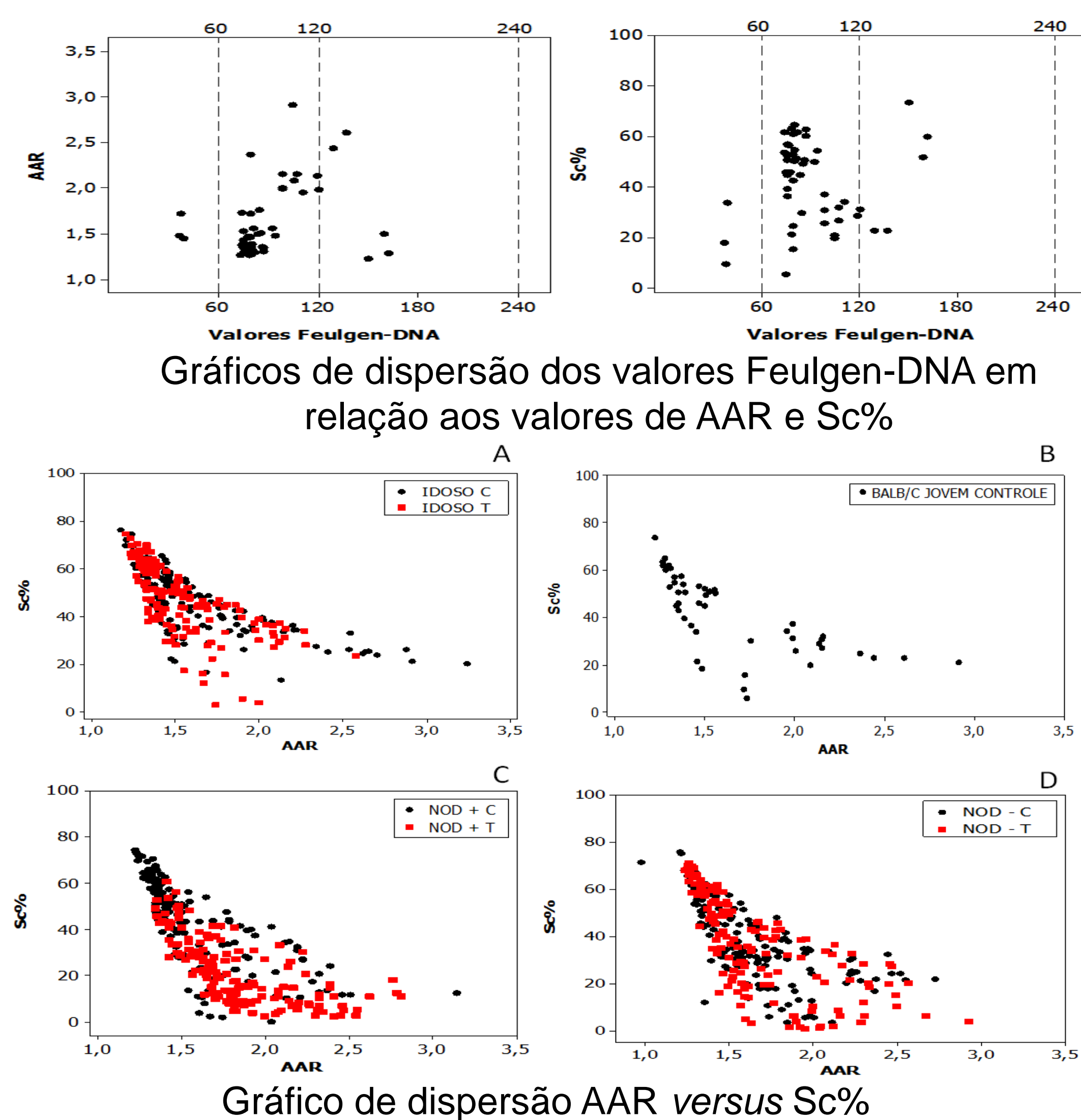


Gráfico de dispersão AAR versus Sc%

LEGENDA

C → controle sem tratamento com MNase
 T → núcleos tratados com MNase
 NOD (-) → animais normoglicêmicos
 NOD (+) → animais hiperglicêmicos
 AAR = contraste entre cromatina condensada e cromatina total
 Sc% = % de área nuclear coberta por cromatina condensada

Conclusões

A digestão por MNase nos hepatócitos de camundongos hiperglicêmicos independe do grau de ploidia dos seus núcleos, evidenciando que a hiperglicemia promove a descompactação e abertura da fibra cromatínica independente do fenômeno de poliploidização no fígado. Nos BALB/c idosos a atuação da MNase não foi significativa.