

CONSUMO DE DIETA HIPERLIPÍDICA INDUZ DANO NO DNA HEPÁTICO DE CAMUNDONGOS.¹

Vanessa Francisconi², Greice Franciele Feyh Dos Santos Montagner³, Pauline Brendler Goettems Fiorin⁴, Bethania Salomon⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷.

¹ Trabalho de Estágio Curricular I, Curso de Ciências Biológicas, Unijuí

² Bolsista PIBIC, Aluna do curso de Ciências Biológicas da UNIJUI.

³ Departamento de Ciências da Vida, Unijuí

⁴ Departamento de Ciências da Vida, Unijuí

⁵ Departamento de Ciências da Vida, Unijuí

⁶ Departamento de Ciências da Vida, Unijuí, Programa de Pós Graduação em Saúde Integrada, Unijuí

⁷ Departamento de Ciências da Vida, Unijuí, Programa de Pós Graduação em Saúde Integrada, Unijuí

Introdução

Estudos epidemiológicos conduzidos ainda na década de 70 sugeriram que 75 a 80% de todas as neoplasias diagnosticadas nos Estados Unidos poderiam ser prevenidas por alterações no estilo de vida, como a dieta e o tabagismo. Subsequentemente, um grande número de estudos confirmou estas conclusões. No entanto, pesquisadores estimam que a dieta influencie em 30% o risco do desenvolvimento de câncer, prevalência similar encontrada no tabagismo (para revisão ver Béliveau & Gingras, 2007).

Não só o câncer apresenta correlação com os hábitos de vida, tais como a dieta, mas também outras doenças crônicas podem ter seu risco aumentado por este fator. Este é o caso das doenças cardiovasculares, que são a primeira causa de morte no mundo (IRITI & VITALINI 2012).

Estudos clínicos mostraram que mudanças na dieta podem promover alterações nos níveis séricos de colesterol e evidências de que o efeito do colesterol dietético plasmático pode ser significativamente modificado pela quantidade e qualidade dos ácidos graxos ingeridos. Além disso, tem sido demonstrada a existência de associação entre alguns fatores de risco – obesidade, hipertensão, dislipidemias – e a ingestão de macro e micronutrientes (CERVATO et al 1997). Por outro lado, não é de hoje que existem relatos de um sinergismo entre esses fatores de tal forma que a presença simultânea de vários deles aumenta o perigo de desenvolver a doença em proporção maior àquela esperada com a soma de cada um individualmente (Organização Mundial da Saúde – OMS, 1990).

Dessa forma, a ingestão de dietas hiperlipídicas pode estar associada ao desenvolvimento de doenças crônicas (GERALDO et al., 2008). Nestas doenças, ocorre um desbalanço oxidativo em

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

prol do aumento da produção de pró-oxidantes pelo organismo, denominado estresse oxidativo (OLIVEIRA & SCHOFFEN 2010). O aumento do estresse oxidativo pode resultar no surgimento de danos em diversas biomoléculas, dentre elas o DNA, resultando em quebras simples ou duplas e também no surgimento de mutações (Braga A; et al, 2002).

Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar os danos no DNA de células hepáticas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica (DHL) desde o período pós-desmame.

Materiais e Métodos

Local de execução

Este estudo foi realizado no Laboratório de Ensaio Biológicos – Departamento de Ciências da Vida – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUI e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIJUI (008/2013).

Animais

Foram utilizados 12 camundongos machos da linhagem B6129SF2/J (B6), com 21 dias, no período pós-desmame, provenientes do Biotério da UNIJUI. Os camundongos foram mantidos em gaiolas semi-metabólicas com temperatura e umidade relativa do ar controlados e com ciclos claro/escuro de 12 horas e recebendo água ad libitum.

Intervenção na dieta

Os animais foram divididos em dois grupos: controle e DHL. O grupo (n=6) recebeu dieta padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1 – 4% de gordura) e o grupo DHL (n=6) foi submetido à ingestão de ração com 60% de gordura em kcal (ração padronizada para animais de laboratório - Nuvilab CR-1 - com 22% de proteína, 37,4% de gordura suína 13,7% de albumina, 7,4% aminomix - vitaminas e minerais - e 1,1% de pó-tetra - farinha de osso e ostra). Após 24 semanas os animais foram eutanaziados e o fígado (ou tecido hepático) foi coletado.

Análise do dano no DNA

O dano no DNA foi analisado pelo Teste Cometa alcalino de acordo com a metodologia proposta por Singh et al (1988). Após sacrifício, o tecido hepático foi mantido em solução tampão Hank's suplementado com EDTA até o preparo das lâminas. Após a confecção das lâminas, estas foram mantidas em solução de lise, e em seguida foi realizado o tratamento alcalino e eletroforese. Após eletroforese, as lâminas foram neutralizadas, fixadas e em seguida coradas com solução a base de nitrato de prata. Após coloração, as células foram analisadas com o auxílio de um microscópio óptico (50 células/lâmina) e o dano no DNA classificado de 0 à 4 (Tice et al., 2000). O índice de danos foi calculado multiplicando o número de células pela classe do dano obtido.

Análise estatística

Os dados obtidos foram plotados em planilha Excel e em seguida analisados por teste t de student com o auxílio do programa GraphPad. Foi considerado $p < 0,05$ como nível mínimo de significância. Os resultados são expressos em média \pm desvio padrão.

Resultados e discussões

O presente estudo investigou o surgimento de danos no DNA de camundongos submetidos ao consumo de dieta hiperlipídica por 24 semanas. Os resultados obtidos indicam que os animais que foram submetidos a esta dieta apresentaram maior dano no DNA ($12,02 \pm 8,23$) no tecido hepático, avaliado pelo ensaio Cometa, do que os indivíduos controle ($6,09 \pm 3,48$, $P = 0,0485$) como demonstrado na Figura 1.

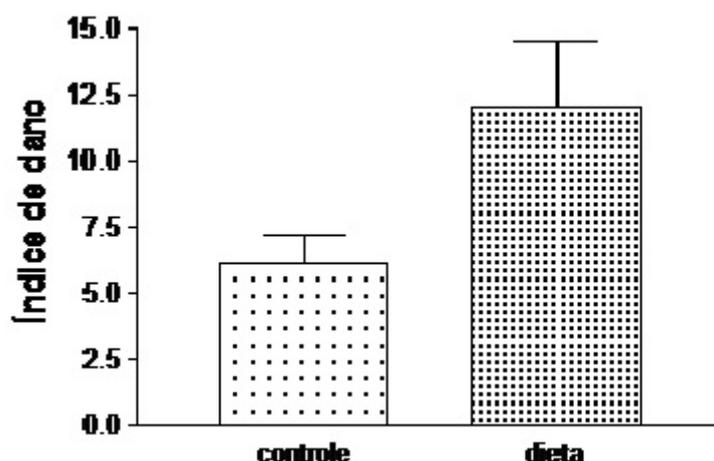


Figura 1: Dano no DNA pelo ensaio cometa em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. $P < 0,05$.

Diversas investigações têm sugerido que 25 a 30% da longevidade humana é atribuída a fatores genéticos, sendo que os demais (75%) correspondem diretamente a fatores ambientais, tais como a dieta, exercício físico, e a não utilização de substâncias como o álcool e cigarro (MEDAWAR 1952; KIRKWOOD 2000; HERSKIND et al., 1996).

Sendo o fígado um dos principais órgãos relacionados ao metabolismo dos lipídeos, é relevante avaliar os danos no DNA de células hepáticas de camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. Observou-se um aumento significativo no dano no DNA das células deste tecido. Isto pode estar relacionado ao aumento do ambiente pró-oxidante, devido à ingestão de lipídeos pela dieta.

Este ambiente pró-oxidante é observado devido ao aumento da produção de espécies reativas que podem causar o aumento nos danos no DNA. As lesões no DNA podem ocorrer devido à oxidação direta dos ácidos nucleicos, ou pela indução de quebras em uma das cadeias do DNA (quebras

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

simples) ou quebras simples em posições aproximadamente simétricas das duas cadeias de DNA (quebras duplas) (BERRA et al., 2006) que pode levar ao surgimento de mutações. Outros problemas na molécula de DNA relacionados ao estresse oxidativo incluem o rompimento de pontes de hidrogênio entre duas hélices, a quebra de uma ou das duas cadeias (fitas) de DNA e a formação de ligações cruzadas entre moléculas de DNA e proteínas. Todas estas alterações direta ou indiretamente influenciam a expressão gênica que pode levar a distúrbios no metabolismo e ao desenvolvimento de doenças (BERRA et al., 2006).

Dentro disso, diversos fatores ambientais podem estar relacionados ao aumento do estresse oxidativo, e, conseqüentemente, ao aumento do dano no DNA. Dentre estes fatores, destaca-se a dieta hiperlipídica, objeto deste estudo.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam que houve um aumento no dano no DNA de células hepáticas de camundongos submetidos ao consumo de DHL. Este aumento de dano pode ser um indicativo de sobrecarga funcional hepática, uma vez que o fígado constitui um dos principais órgãos responsáveis pela oxidação de lipídeos.

Palavras chave: dieta hiperlipídica, estresse oxidativo, dano no DNA, teste Cometa.

Referências Bibliográficas

- BÉLIVEAU, R.; GINGRAS, D. Role of nutrition in preventing cancer. *Canadian Family Physician*, v. 53, n. 11, p. 1905-1922, nov. 2007.
- BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. *Química Nova*, v.29, 1340-1344, 2006.
- BRAGA, A; et AL; Poluição atmosférica e seus efeitos na saúde humana; Faculdade de Medicina da USP; 2002.
- CERVATO, A. M.; et al. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. *Revista de Saúde Pública*, v. 31, n. 3, p. 227-35, 1997.
- GERALDO, J. M; ALFENAS, R. C. G; Papel da Dieta na Prevenção e no Controle da Inflamação Crônica – Evidências Atuais; *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2008.
- GOETEMS, PB; ET AL; Poluição atmosférica: Biomarcadores do efeito nocivos à saúde; 2013
- HERSKIND, A. M., et al. The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born. *Human and Genetics*, v. 97, n. 3, p. 319-323, 1996.
- IRITI, M.; VITALINI, S. Health-Promoting Effects of Traditional Mediterranean Diets – A Review. *Polish Journal of Food Nutrition Science*, v. 62, n. 2, p. 71-76, 2012.
- KIRKWOOD, T. B.; AUSTAD, S. N. Why do we age? *Nature (Lond)*, v. 408, p. 233-238, 2000.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

MEDAWAR, P. B. An unresolved problem of biology. London: H. K. Lewis, 1952.

OLIVEIRA, M. C., SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative Stress Action in Cellular Aging. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, nov./dec. 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Organização Mundial Da Saúde, 1990. SINGH, N. P. ; MCCOY, M. T.; TICE, R. R. ; SCHNEIDER, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp. Cell Res

TICE RR, AGURELL E, ANDERSON D, BURLINSON B, HARTMANN A, KOBAYASHI H, MIYAMAE Y, ROJAS E, RYU JC, SASAKI YF. Single cell gel/Comet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. Environ. Mol. Mutagen. 2000.