

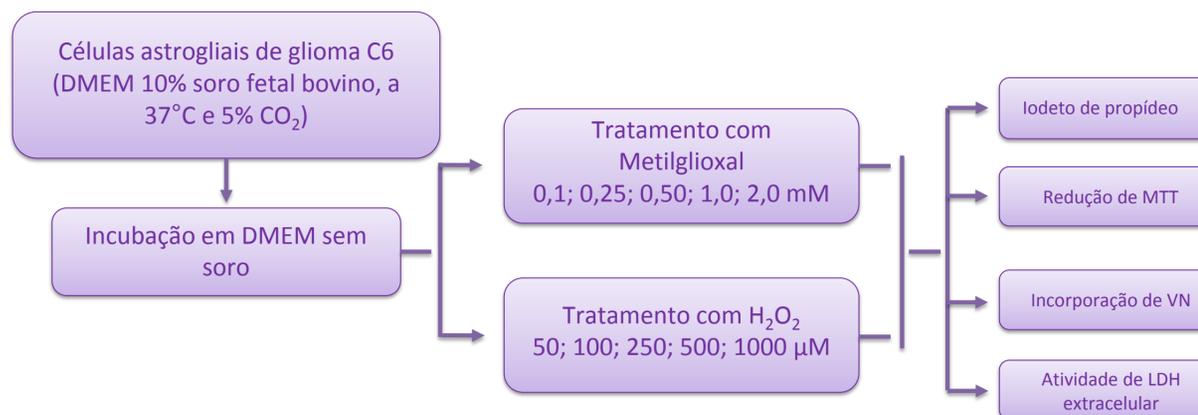
Avaliação de diferentes ensaios de dano celular em células C6 astrogliais em condições oxidativas ou glicantes

Jéssica Hauschild Taday, Marina Concli Leite

INTRODUÇÃO

Em estudos *in vitro* é essencial que se estude o dano celular, visto que a morte celular pode interferir em diferentes técnicas experimentais, porém os ensaios utilizados para isto avaliam este parâmetro por diferentes mecanismos, podendo gerar resultados divergentes. O iodeto de propídeo (IP) é utilizado para corar o núcleo de células cuja membrana esteja lesada¹, a incorporação de vermelho neutro (VN) avalia a capacidade endocítica celular¹, a capacidade redutora das células pode ser medida pela técnica de redução de MTT¹ e a medida da atividade extracelular da enzima intracelular lactado desidrogenase (LDH) evidencia comprometimento de membrana plasmática. Também podem ser verificadas diferenças quanto ao mecanismo causador de dano celular, como por estímulo oxidativo proporcionado por peróxido de hidrogênio (H₂O₂)² e por reações de glicação causadas por metilglioxal (MG)³. Desta forma, este trabalho tem como objetivo comparar os ensaios de avaliação de dano celular em condições oxidativas ou glicantes.

MATERIAL E MÉTODOS



RESULTADOS

Avaliação do dano celular causado por MG

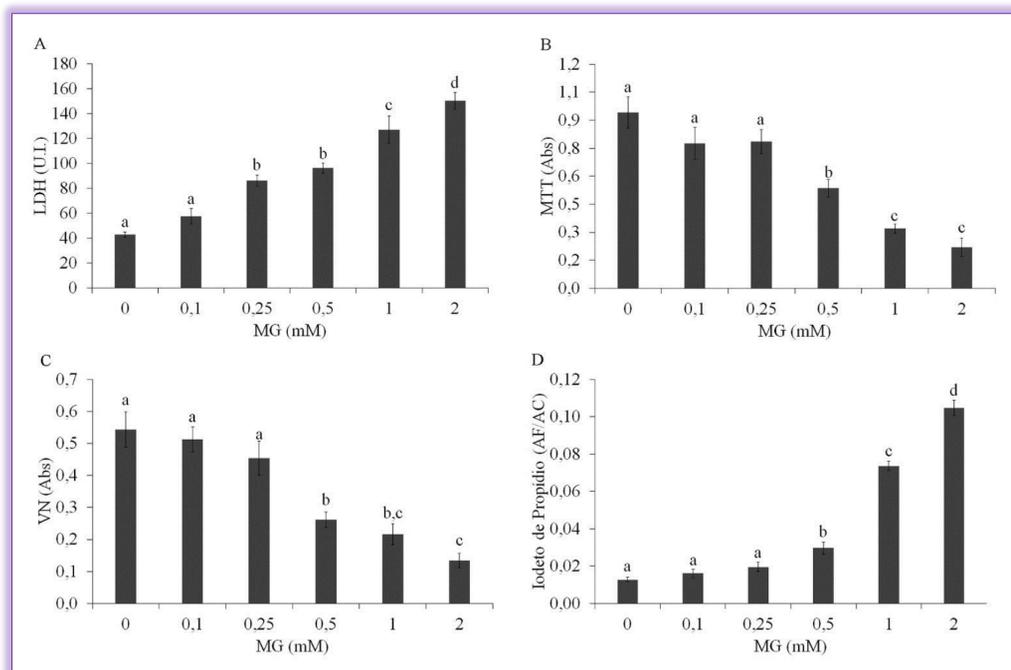


Figura 1: As células de glioma C6 foram tratadas com metilglioxal (MG) nas concentrações de 2; 1; 0,5; 0,25; 0,1 mM por 24 horas. O dano celular foi avaliado pela medida da atividade extracelular de LDH (A), pela redução de MTT (B), incorporação de vermelho neutro (C) e por iodeto de propídeo (D). A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Duncan, considerando $p < 0,05$.

Avaliação do dano celular causado por H₂O₂

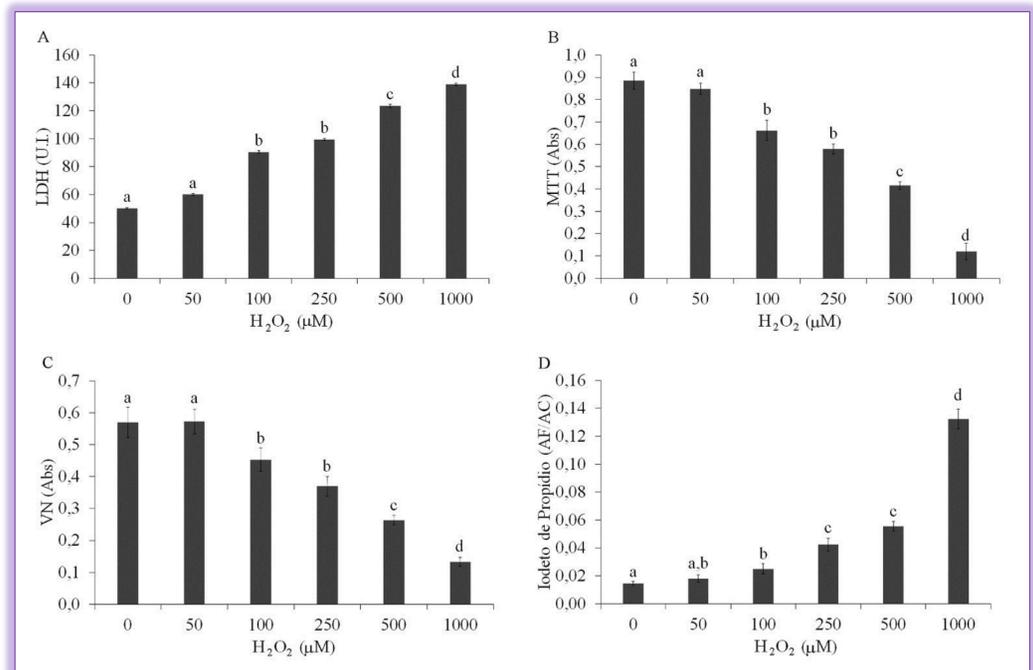


Figura 2: As células de glioma C6 foram tratadas com H₂O₂ nas concentrações de 1000; 500; 250; 100; 50 µM por 24 horas. O dano celular foi avaliado pela medida da atividade extracelular de LDH (A), pela redução de MTT (B), incorporação de vermelho neutro (C) e por iodeto de propídeo (D). A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Duncan, considerando $p < 0,05$.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

- O tratamento com metilglioxal apresentou aumento significativo da atividade extracelular da LDH a partir de 0,25 mM, enquanto para as técnicas de MTT e VN o dano celular só foi observado nas concentrações superiores a 0,5 mM;
- No tratamento com H₂O₂ o dano celular foi observado a partir de 100 µM por todas as técnicas realizadas;
- Este trabalho mostrou que as técnicas de avaliação de viabilidade/integridade celular testadas apresentaram uma sensibilidade semelhante para o MG e H₂O₂.
- Entretanto, em condições glicantes, a atividade de LDH foi mais sensível, reforçando a importância de se usar mais de uma técnica para avaliar dano celular em cultura.

Referências

1. Leite, MC. et al Gap junction inhibitors modulate S100B secretio in astrocyte cultures and acute hippocampal slices. J Neurosci Res. 2009. 87 (11):2439-46.
2. Kim, GH. et al. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. Exp Neurobiol. 2015. 24(4):325-340.
3. Hansen, F. et al. Methylglyoxal alters glucose metabolism and increases AGEs content in C6 glioma cells. Metab Brain Dis. 2012. 27:531-539

Apoio financeiro

Fapergs, CAPES e CNPQ