

Estudo da lesão do DNA na presença de Cu(II), ácido ascórbico e S(IV).

Thais B. Requeijo² (IC), Andressa M. C. Franco² (IC), Marion C. Braga² (IC), Horacio D. Moya² (PQ) e Nina Coichev^{1*} (PQ) (ncoichev@iq.usp.br).

¹ Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26.077 - CEP 05599-970 - São Paulo - SP - Brasil

² Faculdade de Medicina da Fundação do ABC (FMABC) - CEPES (Centro de Estudos, Pesquisa, Prevenção e Tratamento em Saúde da FMABC) - Av. Lauro Gomes, 2000 - Santo André - SP - Brasil - C.P. 106 - CEP 09060-650

Palavras Chave: DNA, ácido ascórbico, sulfito, cobre.

Introdução

Estudos *in vitro* mostraram que algumas substâncias consideradas antioxidantes podem causar lesão ao DNA na presença de íons metálicos de transição, apresentando um efeito pro-oxidante¹. Ácido L-ascórbico (AA), um conhecido antioxidante, pode induzir a lesão do DNA pela redução de Cu(II) a Cu(I), o qual na presença de H₂O₂ leva à formação de radicais hidroxila (HO•)². Nosso grupo de pesquisa tem estudado a reação de oxidação de S(IV) (H₂SO₃, HSO₃⁻ e SO₃²⁻) pelo oxigênio catalizada por alguns íons metálicos de transição (Cu²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺ e Fe³⁺)³. Esse processo envolve a formação de radicais livres de óxidos de enxofre (SO₃•⁻ e SO₅•⁻ e SO₄•⁻) via um ciclo de reações de óxido redução do íon metálico que também induz a lesão ao DNA.

No presente estudo verificou-se que a lesão no DNA ocorre na presença de Cu(II) e AA em solução saturada de ar, no entanto a adição simultânea de S(IV) inibe a lesão ao DNA causada pelo AA.

Resultados e Discussão

A quebra das fitas no DNA foi verificada pela conversão da forma nativa SC (supercoiled) para as formas circular aberta OC (open circular) e linear (L) do DNA plasmídeo pUC-19, empregando-se a técnica de eletroforese em gel de agarose. Todos os estudos foram conduzidos em solução saturada de ar a temperatura ambiente.

A Figura 1 mostra que DNA sozinho (5ng/μL), na presença de Cu(II) 0,1 mM e AA 0,5 μM (na ausência de S(IV)) apresentam quase a mesma % OC. A ocorrência de quebras das fitas no DNA depende da concentração de AA (1 a 10 μM), sendo completa em AA 50 e 100 μM (linhas 7 e 8).

A Tabela I mostra que em AA 50 μM, onde havia lesão completa do DNA (Figura 1), a lesão é reprimida quando da adição simultânea de AA e S(IV) 0,5 mM (concentração fixa) em uma mistura contendo DNA 5ng/μL e Cu(II) 0,1 mM.

Na Figura 2 observa-se que numa mistura contendo Cu(II) 0,1 mM e AA 50 μM a % (OC+L) diminui com o aumento da [S(IV)] de 0,01 a 1,0 mM.

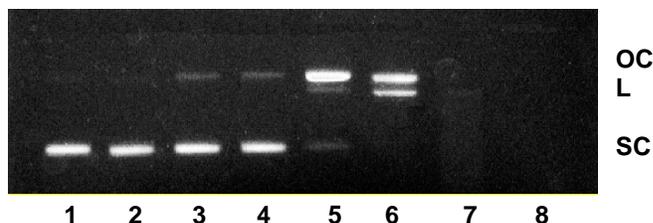


Figura 1. Lesão ao DNA em concentrações diferentes de AA na ausência de S(IV). DNA [pUC19] = 5ng/μL. pH = 7,5. Linhas (1): DNA; (2): DNA+Cu(II) 0,1 mM; (3) a (8): DNA+Cu(II) 0,1 mM+ AA 0,5; 1; 5; 10; 50 e 100 μM, respectivamente.

Tabela I. % (OC+L) de quebras no DNA.

[AA]/μM	1	5	10	50
% (OC+L)	17 ± 5	22 ± 9	27 ± 4	67 ± 7

* Cu(II) 0,1 mM; S(IV) 0,5 mM (concentração fixa); pH = 7,5.

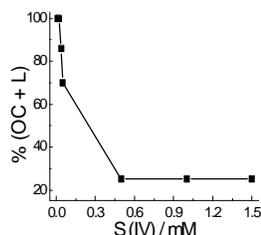


Figura 2. Variação na quebra de DNA (OC+L). Cu(II) 0,1 mM; AA 50 μM (concentração fixa).

Conclusões

AA promove lesão no DNA na presença de Cu(II). Adição simultânea de AA e S(V) inibe parcialmente essa lesão, mas pela técnica utilizada não foi possível determinar as espécies responsáveis.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e NEPAS

¹ Herbert, V.; Shaw, S.; Jayatilke, E. *J Nutr.* **1996**, 126, 1213S-1220S.

² Lloyd, D. R.; Phillips, D. H. *Mutat. Res.* **1999**, 424, 23-36

³ Moreno, R. G. M.; Alipázaga, M. V.; Medeiros, M. H. G.; Coichev, N. *Dalton Trans.* **2005**, 6, 1101-1107.