

Alexandre Sarubbi Raposo do Amaral

A suplementação com glutathiona-etil-éster durante o isolamento de ilhotas pancreáticas em roedores melhora a viabilidade celular e os resultados do transplante de ilhotas

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Endocrinologia
Orientador: Profa. Dra. Maria Lúcia Cardillo Corrêa-Giannella

São Paulo

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Amaral, Alexandre Sarubbi Raposo do

A suplementação com glutathiona-etil-éster durante o isolamento de ilhotas pancreáticas em roedores melhora a viabilidade celular e os resultados do transplante de ilhotas / Alexandre Sarubbi Raposo do Amaral. -- São Paulo, 2012.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.

Orientadora: Maria Lúcia Cardillo Corrêa-Giannella.

Descritores: 1.Diabetes mellitus 2.Apoptose 3.Estresse oxidativo
4.Transplante das ilhotas pancreáticas

USP/FM/DBD-169/12

Este estudo foi concebido e desenvolvido no Laboratório de Endocrinologia Celular e Molecular (LIM 25) do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas de Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Alguns estudos foram realizados no Laboratório de Transplante de Ilhotas do Prof. Dr. A.M. James Shapiro, na Universidade de Alberta, Edmonton, CA.

Este projeto foi desenvolvido com apoio da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Bolsa de Doutorado Direto 08/52894-7 e Auxílio Regular a Pesquisa 08/57945-9.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Luiz Antonio e Cristina.

À minha esposa, Isabella.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo o amor que vocês me proporcionam. Obrigado por dedicar suas vidas a nos dar educação, conforto e carinho.

À minha querida esposa Isabella, por me mostrar o verdadeiro amor incondicional. Obrigado pela compreensão, paciência, amizade e companheirismo em todos os dias de nossa vida. Vencer as dificuldades da vida é mais fácil ao seu lado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Lúcia C. Corrêa-Giannella, pelos vastos ensinamentos durante toda a pós-graduação. Obrigado por sua disponibilidade e paciência sempre presentes, em todos os momentos. Tenho certeza que sua amizade me ajudou a superar todos os obstáculos desta tese com mais facilidade.

Ao Prof. Dr. Flávio Henrique Ferreira Galvão, por ter me estimulado, ainda durante o curso de medicina, a ter interesse pelo conhecimento científico. Obrigado pela disponibilidade e amizade.

Ao Prof. Dr. A.M. James Shapiro e à Rena Pawlick (University of Alberta, Edmonton, CA), pelo generoso acolhimento, por compartilhar sua vasta experiência com transplante de ilhotas e colaborar com a execução desta tese. O estágio em seu laboratório me possibilitou experiências pessoais e profissionais ímpares.

Ao Prof. Dr. Gordon Weir (Joslin Diabetes Center, Boston, EUA), pelos ensinamentos e sugestões dadas durante meu estágio em seu laboratório, na fase inicial deste projeto.

À Erika Rodrigues e Flávia Costal, pela grande amizade e companheirismo durante nossos dias de trabalho no laboratório.

À Profa. Dra. Marcia Nery, pelos ensinamentos nas discussões sobre Diabetes Mellitus.

Aos meus irmãos, Fábio e Luciana e à minha cunhada Cibele pelo carinho e amizade de todos os momentos.

Aos meus tios Maria Eugênia e Goffredo e a minha prima Olivia, pelo carinho e incentivo desde os primeiros passos da minha formação.

Aos meus sogros, Roberto e Teresa, meus cunhados Fernanda e Alexander e minha sobrinha Mariana, pelo carinho e apoio de todos os momentos.

À Norisa, pelo auxílio com a burocracia do dia a dia no laboratório.

A toda a minha família, pelo carinho e compreensão com os meus momentos de ausência durante a realização desta tese.

A todos os colegas do LIM 25, que deixaram o dia a dia do laboratório mais acolhedor.

Aos colegas do LIM 37, pela ajuda na manutenção e cuidado com os animais.

A todos com quem tive a oportunidade de trabalhar e aprender durante os anos de realização desta tese.

À Disciplina de Endocrinologia da FMUSP.

À FAPESP.

“All dreams can come true if we have the courage to pursue them.”

Todos os sonhos podem se tornar realidade se tivermos a coragem para perseguí-los.

Walt Disney

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Diabetes mellitus e complicações crônicas	2
1.2. Terapias de Substituição	3
1.2.1. Transplante de pâncreas total	3
1.2.2. Transplante de ilhotas pancreáticas	5
1.3. Dificuldades relacionadas aos transplantes de pâncreas total e de ilhotas	7
1.4. Estresse oxidativo	11
1.5. Estresse oxidativo e transplante	15
2. OBJETIVO	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1. Animais e materiais	20
3.2. Isolamento de ilhotas pancreáticas	20
3.3. Suplementação da solução de colagenase com glutathione mono etil-éster... ..	22
3.4. Avaliação de espécies reativas de oxigênio	23
3.5. Avaliação da integridade da membrana celular	25
3.6. Avaliação da permeabilidade da membrana mitocondrial	25
3.7. Avaliação da viabilidade das células beta pancreáticas	26

3.8. Detecção de apoptose pela técnica de TUNEL	28
3.9. Avaliação da secreção de insulina estimulada por glicose	30
3.10. Indução de diabetes nos camundongos com estreptozotocina	31
3.11. Transplante de ilhotas em camundongos diabéticos	31
3.12. Teste de tolerância à glicose intraperitoneal	33
3.13. Conteúdo de insulina no enxerto	34
3.14. Análise estatística	34
4. RESULTADOS	37
5. DISCUSSÃO	62
6. CONCLUSÃO	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

