

Efeito dos oligômeros A β em culturas de astrócitos de ratos adultos: potencial efeito neuroprotetor da vitamina D

Leonardo Hekman D'Avila¹, Diogo Onofre Gomes de Souza¹

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é uma das principais doenças neurodegenerativas, sendo a principal causa de demência, sem, contudo, tratamento capaz de impedir a progressão ou mesmo curar a doença. Dessa maneira, mais estudos são necessários para compreender melhor essa doença, e possibilitar o avanço na busca de tratamento. Evidências genéticas, neuropatológicas e neuroquímicas, tanto em modelos animais como em humanos, têm consistentemente apontado para um papel causal da deposição cerebral da proteína β -amilóide (A β) na DA, que é derivada da quebra da proteína precursora de amiloide (APP), a chamada "cascata amiloide". A cultura de astrócitos representa uma importante ferramenta nos estudos sobre o papel destas células no sistema nervoso central (SNC), assim como no possível mecanismo de ação de moléculas com potencial neuroprotetor. No entanto, a maioria das doenças neurodegenerativas, como a DA, envolve o cérebro adulto e inúmeros estudos que possibilitaram o entendimento das bases fisiopatológicas destas doenças utilizaram culturas de astrócitos de animais neonatos. Por outro lado, estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que a vitamina D desempenha um papel neuroprotetivo em doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, astrócitos, β -amilóide, neuroproteção, vitamina D

Objetivo: Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos oligômeros da proteína A β em culturas de astrócitos provenientes do córtex cerebral e hipocampo de ratos adultos. Ainda pretendemos avaliar o potencial efeito protetor da vitamina D.

Materiais e Métodos: Ratos Wistar adultos (90 dias) machos foram sacrificados para obtenção das culturas. O procedimento foi realizado de acordo com protocolos já previamente publicados pelo nosso grupo de pesquisa. Resumidamente, os ratos tiveram os córtices e hipocampos removidos e mergulhados em solução salina livre de cálcio e magnésio (HBSS). Estas estruturas passaram por etapas de dissociação enzimática (com tripsina e papaína), mecânica e centrifugações. As células foram semeadas e cultivadas em meio de cultura DMEM/F12 em incubadora a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO₂ até a confluência, em torno dos 30 dias de cultivo. Nesse momento as células foram utilizadas para a realização dos experimentos neuroquímicos, com a incubação de oligômeros de β -amilóide (baixo peso molecular ou baixo e alto peso molecular juntos) nas concentrações de 0,2 μ M, 0,5 μ M, 1 μ M, 5 μ M e 10 μ M por 24 horas.

Apoio Financeiro:

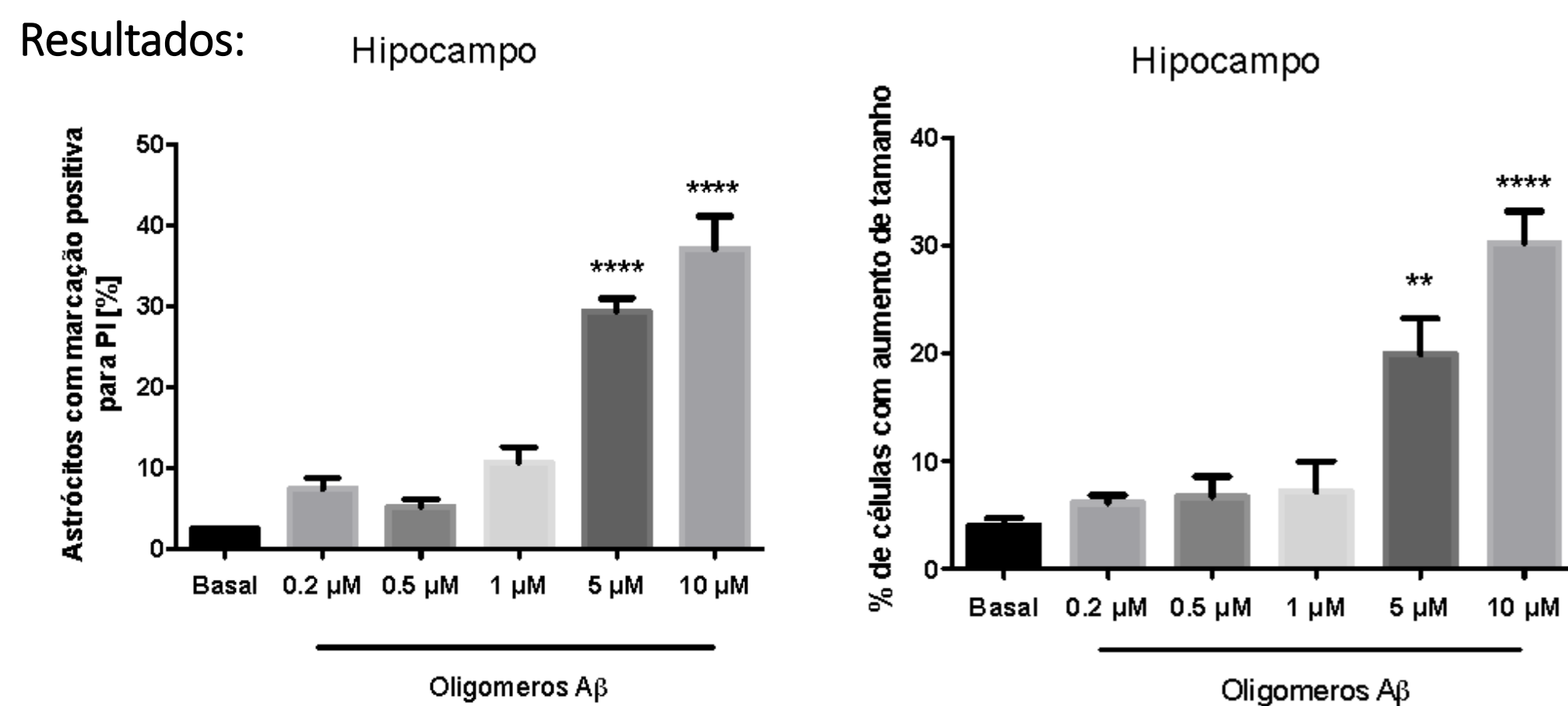


Figura 1- A incubação de astrócitos provenientes do hipocampo de ratos adultos com oligômeros de β -amilóide de baixo peso molecular na concentração 5 μ M e 10 μ M causou um aumento na morte celular em 29% e 35% respectivamente, estas mesmas concentrações de oligômeros de β -amilóide de baixo peso molecular foram capazes de aumentar o tamanho dos astrócitos em 21% e 30% respectivamente, este aumento é característico de reatividade astrocitária. ** P<0,01; ****p<0,0001

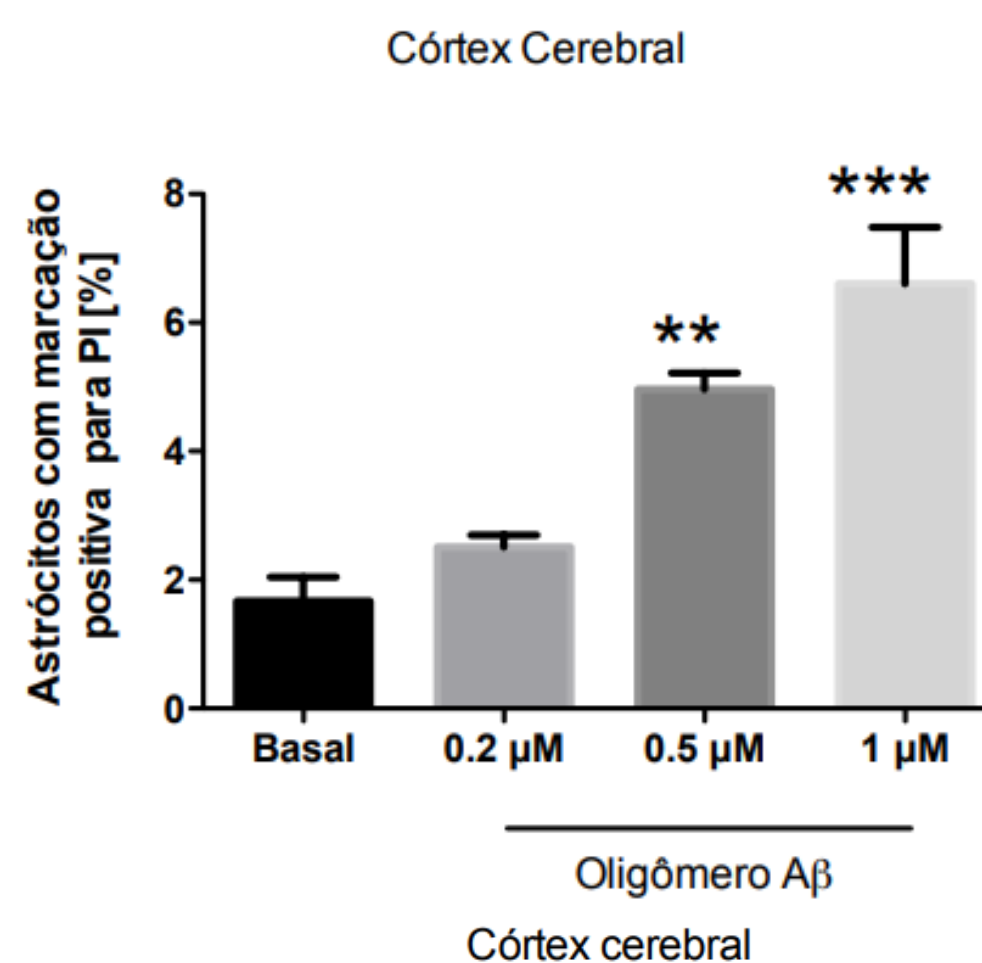


Figura 2- Astrócitos provenientes do córtex cerebral de ratos adultos incubados com oligômeros de β -amilóide de baixo e alto peso molecular juntos apresentam um aumento na morte celular já em concentrações mais baixas de oligômeros (0,5 μ M e 1 μ M), 5% e 7% respectivamente. ** P<0,01; ***p<0,001

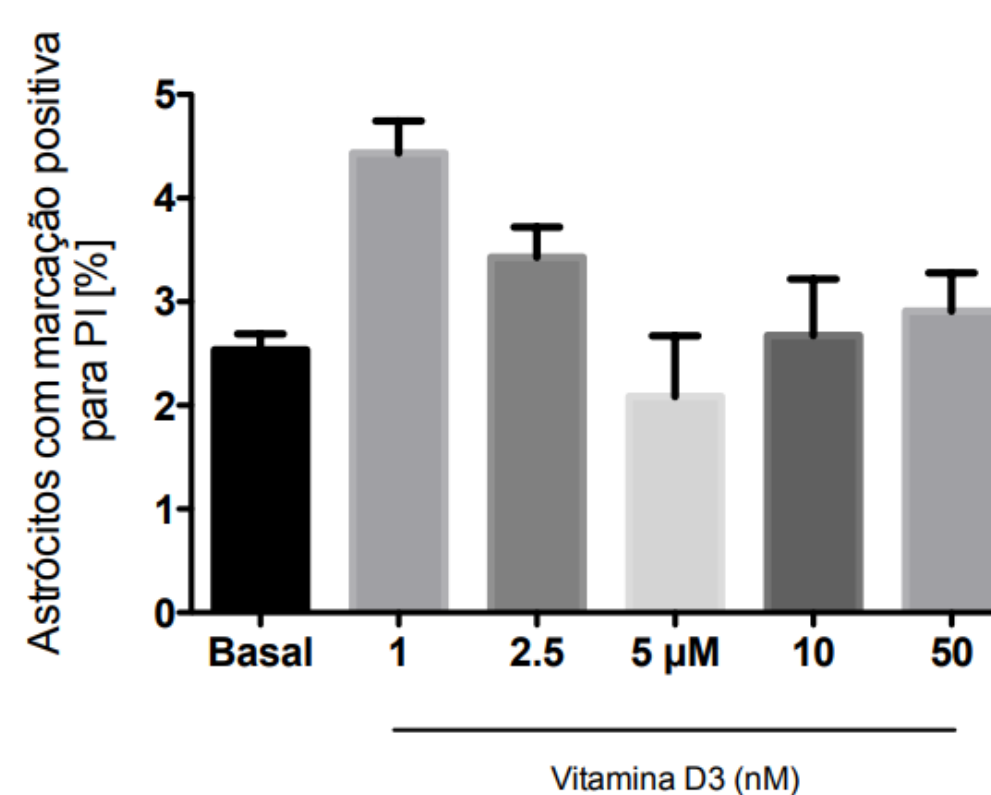


Figura 3- A incubação de astrócitos corticais com calcitriol em diferentes concentrações não promoveu alterações significativas na morte celular.

Conclusão: Com estes experimentos estamos buscando uma dose tóxica de oligômeros de β -amilóide, tanto de baixo peso molecular quanto de baixo e alto peso molecular juntos, para que possamos enfim avaliar o efeito neuroprotetor da vitamina D. Nossos resultados apesar de preliminares reforçam os recentes trabalhos da literatura sobre a toxicidade dos oligômeros de β -amilóide e o papel central que estes tem na DA, ainda sugerem que possa haver uma relação entre esta toxicidade e o peso molecular destes oligômeros.