

# Alterações no metabolismo glutamatérgico e na sinalização redox em cultura de astrócitos hipotalâmicos provenientes de ratos Wistar de diferentes idades

<sup>1</sup>Ricardo Haack Amaral Roppa, <sup>2</sup>André Quincozes dos Santos

<sup>1</sup>Aluno de Graduação em Farmácia, UFRGS, Rio Grande do Sul - RS, Brasil, Bolsista PIBIC/CNPq.

<sup>2</sup>Prof. Departamento de Bioquímica, UFRGS, Rio Grande do Sul - RS, Brasil.

E-mail: roppa.ricardo@gmail.com; andrequincozes@ufrgs.br

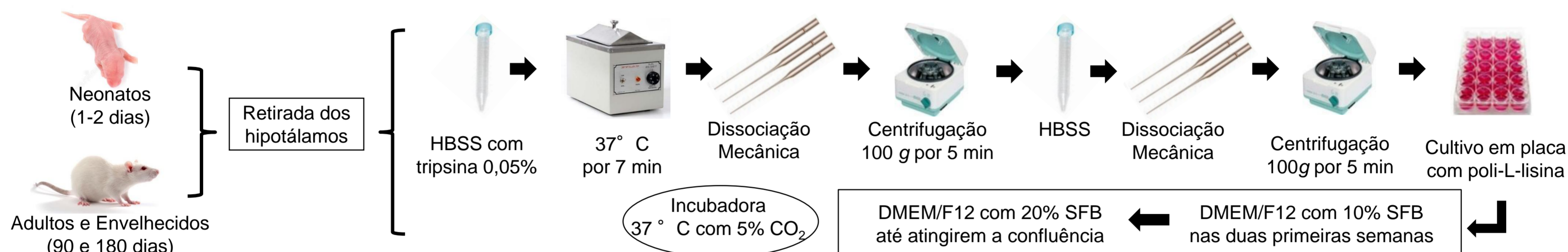
## Introdução

O envelhecimento é um processo natural, relacionado com a diminuição gradual de funções fisiológicas, inclusive funções cerebrais. O hipotálamo é responsável por receber e integrar diferentes sinais periféricos, a fim de manter o bom funcionamento do organismo, sendo uma estrutura crucial no processo de envelhecimento. Já os astrócitos são células que possuem um papel fundamental na manutenção do metabolismo cerebral, uma vez que suas projeções estão em contato tanto com os vasos sanguíneos, como com os neurônios. Tal posição permite que os astrócitos modulem funções relacionadas ao metabolismo glutamatérgico, assim como o estado redox, sendo que alterações nestes parâmetros estão relacionadas com o processo de envelhecimento. Assim, com o aumento da expectativa de vida da população, se torna indispensável entender as diferenças entre o envelhecimento saudável/fisiológico e processos patológicos.

## Objetivo

Neste estudo, utilizamos a cultura de astrócitos hipotalâmicos de ratos Wistar de diferentes idades a fim de avaliar possíveis alterações ocasionadas pelo envelhecimento no metabolismo glutamatérgico e na defesa antioxidante e na sinalização redox associada a tais eventos.

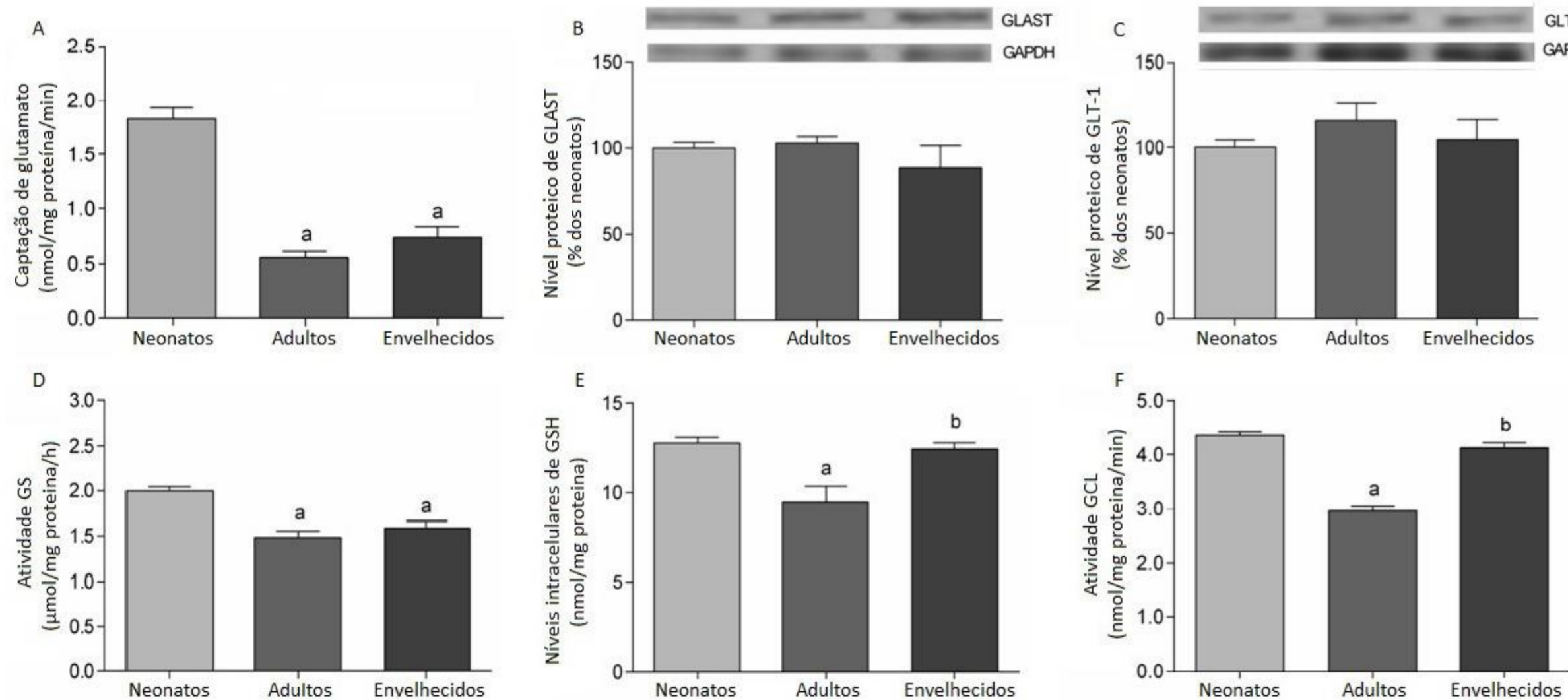
## Métodos



## Experimentos Realizados

- Captação de glutamato;
- Nível proteico dos transportadores GLAST (transportador glutamato-aspartato) e GLT-1 (transportador de glutamato 1);
- Concentrações extracelulares de glutamato e glutamina;
- Atividade das enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato-cisteína ligase (GCL);
- Níveis intracelulares de glutatona (GSH);
- Via de sinalização do fator eritroide nuclear 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2)/heme oxigenase 1 (HO-1).

## Resultados



**Fig 1:** Destinos metabólicos do glutamato em culturas de astrócitos hipotalâmicos de ratos neonatos, adultos e envelhecidos. Captação de glutamato (A); níveis de GLAST (B); níveis de GLT-1 (C); atividade da GS (D); níveis intracelulares de GSH (E); atividade da GCL (F). Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicada e analisados estatisticamente através de ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. *a* representa diferença significativa em relação aos neonatos; *b* representa diferença significativa em relação aos adultos.

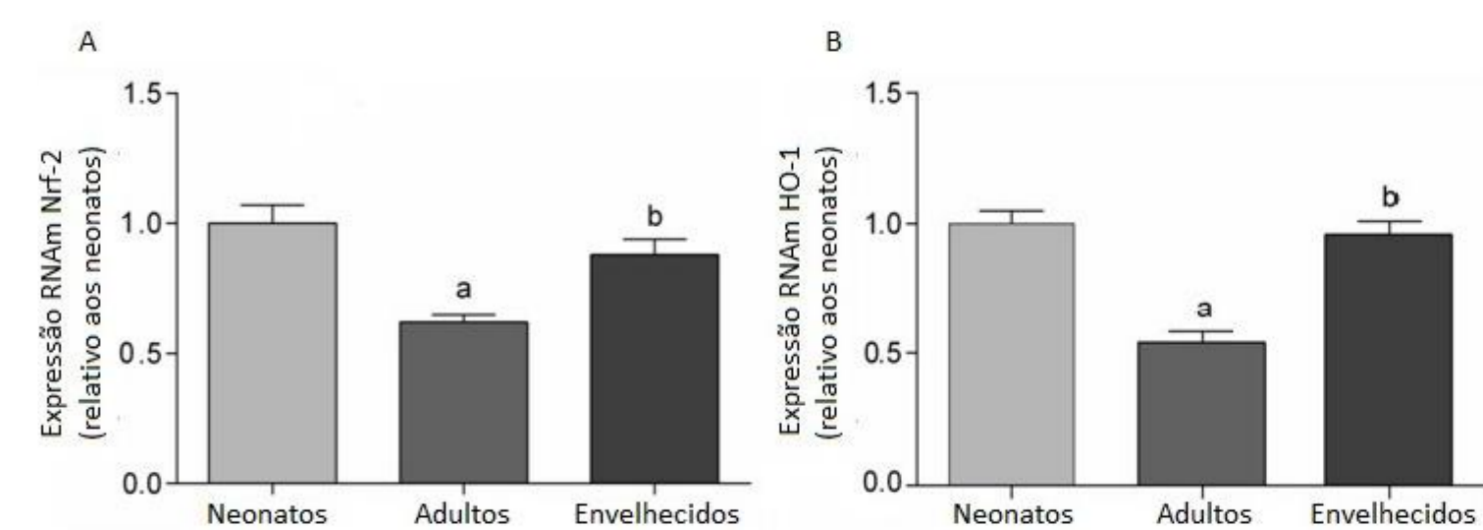
**Tabela 1:** Concentrações de aminoácidos no meio extracelular de culturas de astrócitos hipotalâmicos

Aminoácido	DMEM F12 1% SFB	Concentrações extracelulares ( $\mu$ M)		
		Neonato	Adulto	Envelhecido
Glutamato	78 $\pm$ 4	19,2 $\pm$ 1 <sup>c</sup>	126 $\pm$ 6 <sup>a,c</sup>	116 $\pm$ 11 <sup>a,c</sup>
Glutamina	2752 $\pm$ 73	2751 $\pm$ 78	1927 $\pm$ 61 <sup>a,c</sup>	1932 $\pm$ 86 <sup>a,c</sup>

**Tabela 1:** Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicada e analisados estatisticamente através de ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey.

<sup>a</sup>Diferença estatística significativa em relação aos neonatos

<sup>c</sup>Diferença em relação ao meio de cultivo (DMEM F12 1% SFB) antes da incubação



**Fig 2:** Quantificação por RT-PCR da expressão de RNAm de Nrf-2 (A) e HO-1 (B) em astrócitos hipotalâmicos de ratos neonatos, adultos e envelhecidos. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M de três experimentos independentes realizados em triplicada e analisados estatisticamente através de ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. *a* representa diferença significativa em relação aos neonatos; *b* representa diferença significativa em relação aos adultos.

## Conclusão

Nossos resultados indicam que os astrócitos hipotalâmicos apresentam alterações na sua funcionalidade ocasionadas pelo envelhecimento. Essas mudanças podem ser críticas para a homeostasia cerebral e podem estar relacionadas ao surgimento de doenças neurometabólicas. Assim, este estudo demonstra que o protocolo de cultura de astrócitos hipotalâmicos utilizado apresenta-se como uma importante ferramenta para elucidar o papel destas células gliais durante o desenvolvimento/envelhecimento. Além disso, os astrócitos podem ser potenciais alvos terapêuticos para o processo de envelhecimento, bem como para outras doenças neurometabólicas.