

MODELO PARA DOENÇA DE NIEMANN PICK C EM CULTURA DE ASTRÓCITOS COM U18666A

Vanessa Vitcoski Daitx, Daniela Copetti dos Santos, Carla Vieira Andrade, Janice Carneiro Coelho

A Doença de Niemann Pick C (NPC) é uma doença autossômica recessiva causada pelo acúmulo de lipídios, principalmente colesterol, no espaço perinuclear das células. Diversos agentes farmacológicos foram testados em fibroblastos animais obtendo sucesso em mimetizar esse acúmulo de colesterol, dentre os quais o mais familiar é o U18666A. O objetivo deste estudo foi estabelecer um modelo de NPC em cultura primária de astrócitos, cultivados a partir de córtex de ratos Wistar de 0-3 dias, de modo a obtermos a melhor dose e tempo de incubação necessário com a droga. Os ratos foram sacrificados por decapitação e o córtex cerebral foi removido e homogeneizado com tampão CMF-BSS. Após centrifugação e nova homogeneização com meio DMEM com 10% de Soro bovino Fetal (SBF), as células foram contadas em Câmara de Neubauer e o volume correspondente à 30000 células foi adicionado em cada poço de placas de 24 poços, sendo o volume completado até 450 μ L com o mesmo meio. As placas foram incubadas em estufa de CO₂ à 37 ° C e após 4 horas ocorreu a troca de meio, que foi realizada de 4 em 4 dias após a primeira troca. A droga foi adicionada ao meio de cultura no dia 15, em concentrações de 0,5, 1 e 2 μ g/mL e mantiveram-se os parâmetros de incubação por 24, 48 e 72 horas. Vinte e quatro horas antes do final do tempo de incubação, 50 μ g de LDL foi adicionado a cada poço. O colesterol foi marcado com Filippin de acordo com Kruth et al. (1986) modificado, e a fluorescência foi visualizada em microscópio invertido. Foi observado acúmulo de colesterol na região perinuclear de todas as células, sendo este dependente da concentração e tempo de incubação. Dessa forma, o uso de astrócitos como modelo animal para NPC consiste em uma alternativa viável e promissora para estudos dessa doença. A influência do acúmulo de colesterol na organização do citoesqueleto será estudada como continuidade deste trabalho.