



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	EFEITOS DO ÁCIDO QUINOLÍNICO SOBRE O CITOESQUELETO DE NEURÔNIOS ESTRIATAIS EM CULTURA. ASPECTOS DE NEUROPROTEÇÃO
Autor	BÁRBARA INDAIARA ORTIZ DE LIMA
Orientador	REGINA PESSOA PUREUR

EFEITOS DO ÁCIDO QUINOLÍNICO SOBRE O CITOESQUELETO DE NEURÔNIOS ESTRIATAIS EM CULTURA. ASPECTOS DE NEUROPROTEÇÃO

As células gliais e os neurônios estão em constante sinalização recíproca tanto em condições fisiológicas quanto patológicas. Esta comunicação bi-direcional é mediada por vias de sinalização específicas entre os neurônios e a glia. Os neurofilamentos (NF) são um dos maiores componentes do citoesqueleto de neurônios e são responsáveis pela estabilização do citoesqueleto neuronal e manutenção do calibre axonal. Os NF são regulados por fosforilação através de vias complexas de sinalização celular. A fosforilação aberrante das subunidades dos NF é uma característica de várias doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Huntington (DH). O ácido quinolínico (QUIN), um agonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), é um agente excitotóxico que vem sendo implicado na neurodegeneração e mimetiza a perda de projeções de neurônios espinhais médios característicos da DH. Vários estudos do nosso grupo têm focado na importância da excitotoxicidade glutamatérgica na perda da homeostase do citoesqueleto de células neurais. Por outro lado, estudos com células isoladas podem fornecer significantes informações sobre os mecanismos moleculares das ações de metabólitos sobre a dinâmica do citoesqueleto. Portanto, o objetivo deste estudo foi utilizar culturas primárias para analisar os efeitos do QUIN sobre a homeostase do citoesqueleto de neurônios estriatais de rato, bem como o efeito protetor do meio condicionado de astrócitos primários e da interação astrócito/neurônio sobre estas ações. Focamos sobre a fosforilação das subunidades de NF (neurofilamento de baixo –NFL, médio – NFM e alto- NFH peso molecular), viabilidade celular e alterações morfológicas na presença de QUIN. Neurônios e/ou astrócitos estriatais isolados foram incubados com concentrações crescentes de QUIN (300 nmo1-500 μ M). Após 24 horas, as células foram incubadas com o traçador radioativo 32 P-ortofosfato de sódio. A fração citoesquelética foi obtida, as proteínas fosforiladas foram analisadas por SDS-PAGE e a radioatividade incorporada foi quantificada. A viabilidade celular foi medida através de citometria de fluxo e a análise morfológica foi feita usando a técnica de imunocitofluorescência utilizando anticorpos contra proteínas do citoesqueleto neuronal e astrocitário. Os resultados mostraram que os neurônios expostos 10 μ M QUIN apresentaram hiperfosforilação das subunidades dos neurofilamentos (NFL, NFM e NFH). Células imunocoradas para os marcadores neuronais β -tubulina III e a proteína associada aos microtúbulos 2 (MAP2) mostraram alteração nas razões neurito/neurônio e comprimento de neuritos. A hiperfosforilação dos NF e as alterações morfológicas foram evitadas pelo meio condicionado dos astrócitos tratados com QUIN. Astrócitos e neurônios co-cultivados protegeram-se mutuamente contra os danos causados pelo QUIN. As células co-cultivadas preservaram a organização do citoesqueleto e a morfologia das projeções celulares, bem como, tiveram a atividade do sistema fosforilante associado ao citoesqueleto inalterada. Nossos resultados mostraram que o rompimento do citoesqueleto é uma das mais importantes conseqüências da toxicidade do QUIN em neurônios estriatais em cultura e fatores solúveis secretados pelos astrócitos, bem como a interação astrócito-neurônio são importantes na neuroproteção. Os resultados mostrados neste trabalho podem ser uma importante contribuição para a compreensão da neurotoxicidade do QUIN.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERGS, UFRGS