VOZES DIVERSAS DIFERENTES SABERES

SALÃO DE INICIACAO CIENTIFICA XXX SIC

15 A 19 OUTUBRO CAMPUS DO VALE

UFRGS PROPESQ

Avaliação da modulação da secreção de S100B através do ácido arúndico em fatias hipocampais agudas e cultura celular primária de astrócitos.

MIRIARA B. LEAL[1]; CARLOS ALBERTO GONÇALVES[2].

[1]Graduanda do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS;

[2] PPG Ciências Biológicas – Bioquímica

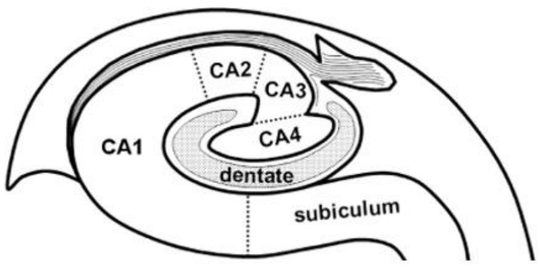
INTRODUÇÃO:

Os astrócitos são células gliais que interagem com os neurônios e participam da regulação e organização da transmissão sináptica, além disso, exercem resposta inflamatória no Sistema Nervoso Central (SNC). A proteína S100B, pertence à família de proteínas ligantes de cálcio (Ca++), e é secretada predominantemente pelos astrócitos no SNC. Em condições inflamatórias e de lesão tecidual, os astrócitos elevam a secreção de S100B. Sabe-se que o ácido arúndico é capaz de inibir a síntese de S100B e possui efeitos neuroprotetores no SNC.

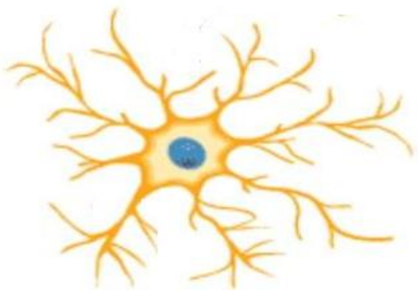
OBJETIVO:

Este trabalho visa avaliar os efeitos do ácido arúndico sobre os astrócitos e a proteína S100B em modelos de fatias hipocampais agudas e cultura primária astrocitária.

METODOLOGIA:



Fatias hipocampais agudas:
Incubadas por 1 h em meio de baixo potássio, com ou sem ácido arúndico (AA) (12,5; 50 e 100 µM).



Cultura de astrócitos:
Incubadas por 24 h em meio com AA. Posteriormente, incubadas em meio com lipossacarídeo (10 mg/mL) com ou sem AA (100 e 300 µM) por 1 e 24 h.

- Modulação do Conteúdo Intracelular e Secreção de S100B
  - Viabilidade celular (MTT)
  - Integridade celular (LDH)
  - Elisa S100B e GFAP

Os dados obtidos foram descritos por média ± EPM e a análise estatística utilizada foi ANOVA de uma via, seguida de post hoc de Tukey. Foram considerados valores significativos P < 0,05.
(Número do projeto: 34321/CEUA-UFRGS)

RESULTADOS:

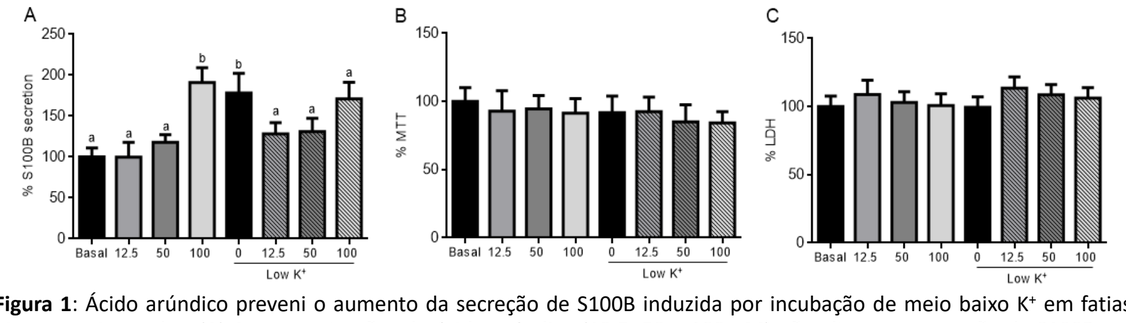


Figura 1: Ácido arúndico preveni o aumento da secreção de S100B induzida por incubação de meio baixo K+ em fatias hipocampais agudas. (A) As concentrações de ácido arúndico (12,5, 50 e 100 µM) não alteram a secreção de S100B em condições basais. Incubação de meio de baixo potássio (0,02 mM) estimula a secreção de S100B. Ácido arúndico, nas concentrações de 12,5 e 50 µM, é capaz de prevenir este efeito. Os diferentes tratamentos não alteraram a viabilidade da fatia (MTT) (B) e a integridade celular (LDH) (C). Os valores foram expressos por média ± SEM, de 6-8 animais por grupo, experimentos independentes realizados em triplicata. Os valores de conteúdo celular de S100B e GFAP são expressos em assumindo o valor de controle como 100% para cada animal. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguidos pelo teste de Tukey. Barras sem uma letra comum diferem significativamente do basal, assumindo P <0,05.

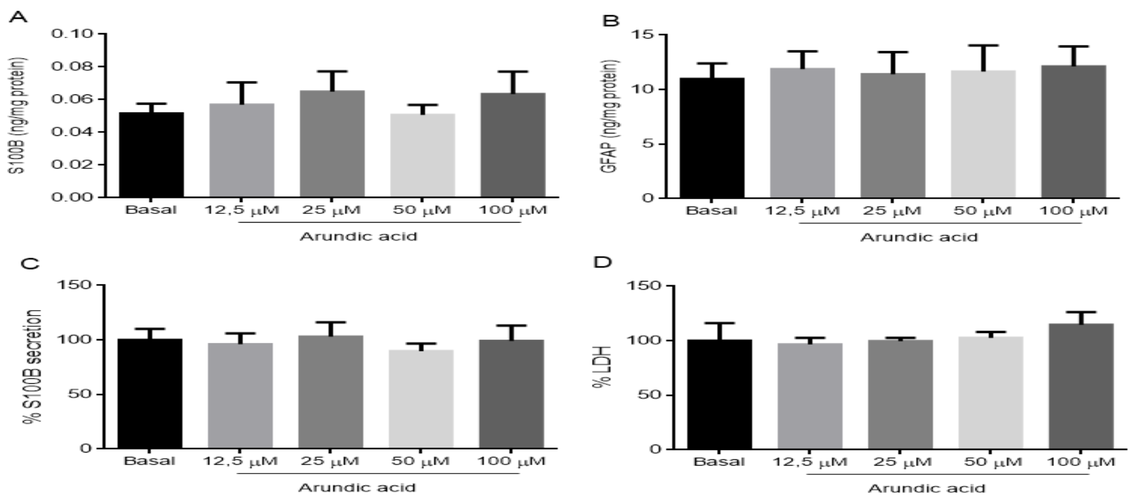


Figura 2: Ácido arúndico não altera os níveis celulares das proteínas GFAP e S100B, assim como a secreção de S100B em cultura primária de astrócitos. Diferentes concentrações de ácido arúndico foram incubadas por 24 horas em cultura primária de astrócitos. Não houve alteração do imunoconteúdo de S100B (A) e GFAP (B), assim como não houve diferença na secreção da proteína S100B (C). Ácido arúndico não alterou a integridade celular (LDH) (D). Os valores foram expressos por média ± SEM, de 6-8 animais por grupo, experimentos independentes realizados em triplicata. Os valores de conteúdo intracelular de S100B e GFAP são expressos em ng/mg de proteína total e a secreção de S100B e LDH foi considerado o basal 100% para cada córtex de animal. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguidos pelo teste de Tukey, assumindo P <0,05.

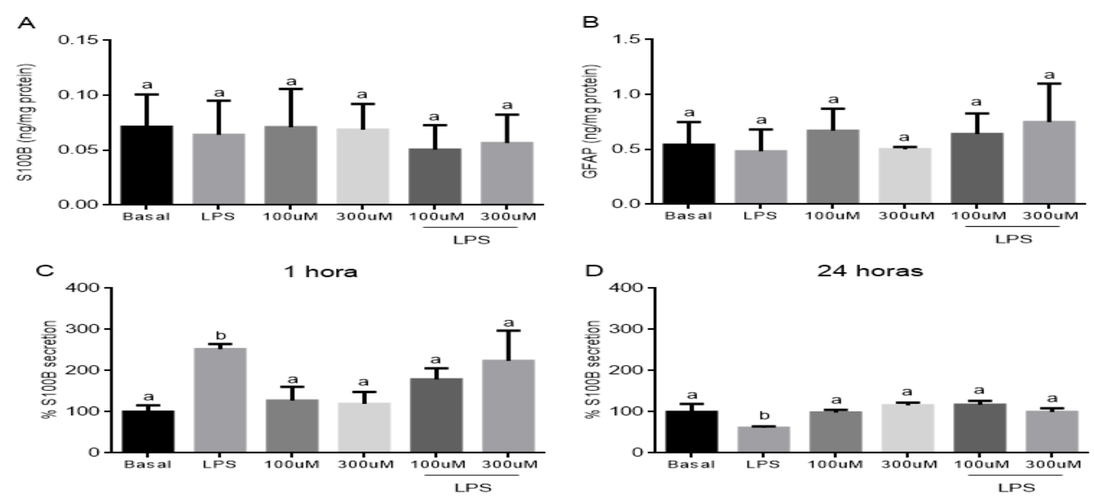


Figura 3: Ácido arúndico preveni a modulação da secreção de S100B induzida por LPS em cultura primária de astrócitos. Incubação de LPS (10mg/mL) e ácido arúndico (100 e 300 µM)por 24 horas não alteram o conteúdo de S100B (A) e GFAP (B). Ácido arúndico preveni o aumento da secreção de S100B induzida por LPS em 1 hora de incubação (C). Ácido arúndico preveni a redução da secreção de S100B induzida por LPS em 24 horas de incubação (D). Os valores foram expressos por média ± SEM de 5 experimentos independentes realizados em triplicata. Os valores de conteúdo intracelular de S100B e GFAP são expressos em ng/mg de proteína total e a secreção de S100B foi considerado o basal 100% para cada córtex de animal. Os dados foram analisados por ANOVA, seguidos pelo teste de Tukey. Barras sem uma letra comum diferem significativamente, assumindo P <0,05. Os valores de LDH não são diferentes (resultados não estão demonstrados).

FINANCIAMENTO:

CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CAPES

FAPERGS Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

REFERÊNCIAS:

Donato, R., Sorci, G., Riuzzi, F., Arcuri, C., Bianchi, R., Brozzi, F., Tubaro, C., Giambanco, I., 2009. S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res. 1793, 1008–1022. Lee, M., Schwab, C., Mcgeer, P.L., 2011. Astrocytes are GABAergic cells that modulate microglial activity. Glia 59, 152–165.

Leite, M.C., Galland, F., Brolese, G., Guerra, M.C., Bortolotto, J.W., Freitas, R., Almeida, L.M.V. De, Gottfried, C., Gonçalves, C.-A., 2008. A simple, sensitive and widely applicable ELISA for S100B: Methodological features of the measurement of this glial protein. J. Neurosci. Methods 169, 93–9. Nardin, P., Tortorelli, L., Quincozes-Santos, A., De Almeida, L.M. V, Leite, M.C., Thomazi, A.P., Gottfried, C., Wofchuk, S.T., Donato, R., Gonçalves, C.A., 2009. S100B Secretion in Acute Brain Slices: Modulation by Extracellular Levels of Ca2+ and K+. Neurochem. Res. 34, 1603–1611.