



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Alterações no metabolismo glutamatérgico e na sinalização redox em cultura de astrócitos hipotalâmicos provenientes de ratos Wistar de diferentes idades
Autor	RICARDO HAACK AMARAL ROPPA
Orientador	ANDRE QUINCOZES DOS SANTOS

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

Ricardo Haack Amaral Roppa¹, André Quincozes dos Santos¹

¹Departamento de Bioquímica, UFRGS, Rio Grande do Sul, Brasil

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. Portanto, 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. Para a obtenção das culturas, o hipotálamo de ratos neonatos (1-2 dias), adultos (90 dias) e envelhecidos (180 dias) foi dissecado e dissociado enzimática e mecanicamente. As células foram cultivadas em DMEM/F12 com 10% de soro fetal bovino (SFB) nas duas primeiras semanas e DMEM/F12 com 20% SFB até atingirem a confluência (aproximadamente 28 dias), em atmosfera com 5% de CO₂ a 37°C, quando então os experimentos foram realizados. Foram avaliadas a expressão dos transportadores de glutamato GLAST (transportador glutamato-aspartato) e GLT-1 (transportador de glutamato 1) pela técnica de western blotting, a captação de glutamato, por ensaio radiativo e as concentrações extracelulares de glutamato e glutamina, através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. A atividade da glutamina sintetase (GS) e da enzima glutamato-cisteína ligase (GCL) foram medidas através de ensaio colorimétrico, enquanto que os níveis intracelulares de glutathione (GSH) foram analisados por ensaio fluorimétrico. Também foi investigada, através da metodologia de RT-PCR, a participação das vias de sinalização da heme oxigenase 1 (HO-1) e do fator eritroide nuclear 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) nas possíveis alterações da resposta astrocitária decorrentes da idade. Foi observado que as culturas de neonatos captaram mais glutamato que as culturas de adultos e envelhecidos, porém, os níveis de GLAST e de GLT-1 não tiveram sua expressão alterada. Houve uma diminuição da concentração de glutamato extracelular em culturas de neonatos, enquanto que a concentração de glutamina encontrou-se diminuída nas culturas de adultos e envelhecidos. Foi observado também uma diminuição na atividade da GS em astrócitos adultos e envelhecidos. No entanto, foi observada uma diminuição na atividade da GCL e nos níveis de GSH apenas nas culturas de animais adultos, comparados aos animais neonatos, ocorrendo uma recuperação destes parâmetros nos animais envelhecidos. Além disso, foi visto que culturas de astrócitos adultos expressaram níveis mais baixos do RNAm de Nrf-2 e da HO-1 quando comparado a cultura de neonatos, porém houve uma recuperação destes níveis na cultura dos animais envelhecidos. Nossos resultados indicam que os astrócitos hipotalâmicos apresentam alterações na sua funcionalidade ocasionadas pelo envelhecimento. Essas mudanças podem ser críticas para o seu funcionamento 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, indicando que as mesmas podem ser potenciais alvos terapêuticos para o processo de envelhecimento, bem como de outras doenças neurometabólicas.