

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	Antimicrobianos alteram parâmetros glutamatérgicos, oxidativos e inflamatórios em culturas primárias de astrócitos
<b>Autor</b>	BRUNA SELAU ARAUJO
<b>Orientador</b>	ANDRE QUINCOZES DOS SANTOS

## **Antimicrobianos alteram parâmetros glutamatérgicos, oxidativos e inflamatórios em culturas primárias de astrócitos**

<sup>1</sup> Bruna Selau Araujo, <sup>1</sup> André Quincozes dos Santos

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, UFRGS, Rio Grande do Sul, Brasil

Os astrócitos são células altamente dinâmicas que mantêm a homeostase do sistema nervoso central, bem como, regulam sistemas de neurotransmissores e atuam no processamento das informações sinápticas, do metabolismo energético, das defesas antioxidantes e da resposta inflamatória. Baseado nisso, o cultivo dessas células vêm sendo amplamente utilizado para estudos referentes à resposta inflamatória, ao estresse oxidativo, ao sistema glutamatérgico, ao metabolismo energético e à senescência. Manter o microambiente celular asséptico é fundamental para que possamos entender a funcionalidade astrocitária *in vitro* sem inferência de microrganismos, para isso comumente é realizada a adição de antimicrobianos aos meios de cultivos. A partir disso, percebemos que existe uma carência de protocolos padronizados na literatura acerca das classes e concentrações desses fármacos. Portanto, neste trabalho avaliamos alterações em parâmetros glutamatérgicos, oxidativos e inflamatórios em culturas de astrócitos frente aos antimicrobianos gentamicina e penicilina/estreptomicina adicionados ao meio de cultivo em diferentes concentrações. Para o preparo da cultura de astrócitos os córtices foram dissecados e dissociados mecanicamente. As células foram semeadas e cultivadas em meio de cultura DMEM/F12 contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), em incubadora a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub> até atingirem a confluência (aproximadamente, 10 dias de cultivo *in vitro*). No meio de cultivo foram adicionadas diferentes concentrações dos seguintes antimicrobianos: gentamicina [0,025 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml] ou penicilina [20 U/ml]/estreptomicina [0,02 mg/ml], penicilina [100 U/ml]/estreptomicina [0,1 mg/ml], penicilina [200 U/ml]/estreptomicina [0,2 mg/ml]. Após a confluência celular, foram avaliados a morfologia celular e o citoesqueleto de actina por microscopia, o conteúdo por *Western Blotting* da proteína glial fibrilar ácida (GFAP), do transportador de glutamato-1 (GLT-1) e do transportador glutamato-aspartato (GLAST), da enzima glutamina sintetase (GS) e do transportador de glicose do tipo 1 (GLUT 1). Ainda, avaliamos a captação de glutamato e de glicose por ensaios radioativos, a atividade da GS e da enzima superóxido dismutase (SOD) por ensaios colorimétricos, o conteúdo de glutathiona (GSH) por método fluorimétrico e os níveis de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL)-10, IL-1 $\beta$  e a IL-6 por kits comerciais de ELISA. Nas células cultivadas com gentamicina foram observadas algumas alterações no metabolismo energético, como o aumento da captação de glutamato dose-dependente e a diminuição da captação de glicose e do GLUT1. Também foi observado aumento nos níveis de GSH, porém nenhuma alteração na atividade da enzima SOD foi encontrada. Ainda, observamos uma elevação nos níveis de IL-1 $\beta$  e uma redução nos níveis de IL-10. Já as células cultivadas com penicilina/estreptomicina também apresentaram variações no metabolismo energético como: aumento da captação de glutamato dose-dependente e aumento da captação de glicose. Além disso, foram observadas alterações no citoesqueleto de actina e elevação nos níveis de IL-6. Tais achados sugerem, portanto, que a adição desses fármacos ao meio de cultivo interfere na funcionalidade astrocitária. Logo, o uso não padronizado desses antimicrobianos pode explicar as discrepâncias entre experimentos realizados por diferentes grupos de pesquisas.