



Efeito da exposição de culturas de astrócitos ao metilglioxal, fluorocitrato, LPS ou estreptozotocina sobre parâmetros astrocitários

Joseana Souza, Marina Concli Leite

INTRODUÇÃO

O sistema nervoso central (SNC) é formado por neurônios e glia, na qual os astrócitos se destacam como as células mais numerosas, tendo fundamental importância na manutenção da homeostase do SNC. Existem duas proteínas intimamente relacionadas aos astrócitos que podem ser avaliadas no estudo de disfunções dessas células, a S100B e a proteína glial fibrilar ácida (GFAP). A S100B é uma proteína ligante de cálcio produzida e secretada no SNC por astrócitos e que pode exercer tanto papel trófico quanto tóxico, sendo considerada uma marcadora de dano cerebral, e a GFAP, principal marcadora de astrócitos por constituir o seu citoesqueleto. Diferentes condições patológicas podem levar a essas disfunções astrocitárias, como o diabetes mellitus tipo 2, condição na qual ocorre um aumento das reações de glicação devido ao aumento das concentrações de glicose no SNC. Em estudos *in vitro* o metilglioxal (MG) é um composto comumente utilizado para induzir essas reações. Da mesma forma, diversas patologias do SNC podem estar relacionadas a um hipometabolismo de glicose, que pode ser induzido *in vitro* com o fluorocitrato (FC), composto capaz de inibir o metabolismo de células gliais. A neuroinflamação, que tem o lipopolissacarídeo (LPS), molécula derivada da parede celular de bactérias gram-negativas, como um modelo de indução, também é um fator comum às patologias do SNC. Alterações astrocitárias também já foram descritas na doença de Alzheimer (DA) ainda antes do aparecimento dos primeiros sintomas da doença, e um dos principais modelos animais de estudo da DA é o que usa a estreptozotocina (STZ) via ICV, composto que induz o desenvolvimento de alterações patológicas características desta doença, incluindo alterações astrocitárias. Já se sabe que a exposição ao MG, em fatias hipocâmpais, e ao LPS, em cultura de astrócitos, causam diminuição da secreção de S100B e aumento do conteúdo de GFAP, porém pouco se sabe dos efeitos do FC e da STZ sobre essas proteínas em astrócitos isolados. Por tanto o objetivo do presente trabalho foi avaliar os danos astrocitários causados pela exposição de MG, FC, LPS e STZ em cultura de astrócitos. Projeto aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais número 34855.

MATERIAL E MÉTODOS



RESULTADOS

Conteúdo de S100B

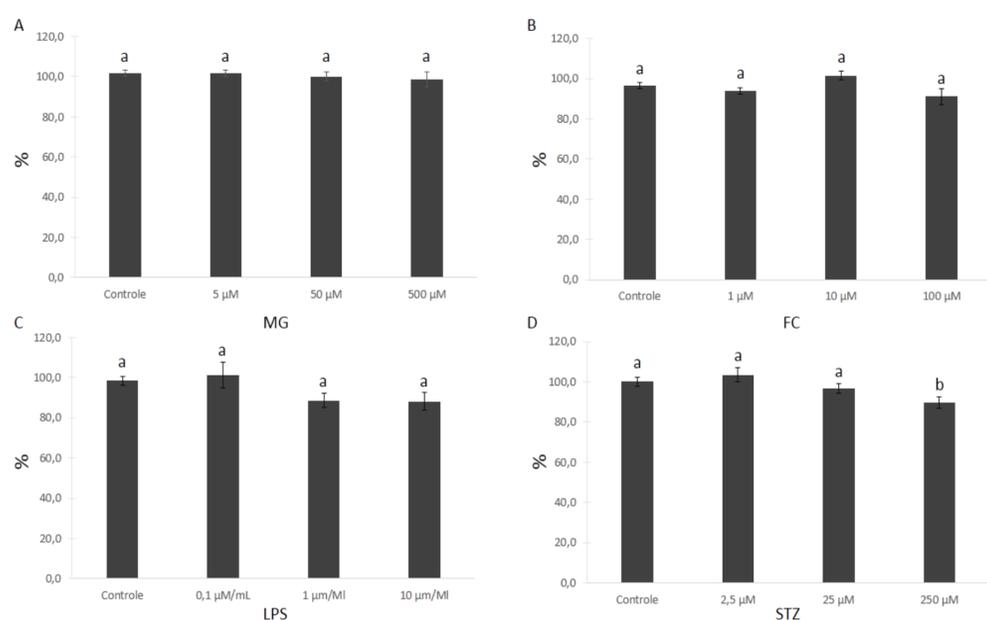


Figura 1: O conteúdo de S100B foi dosado por ELISA após a exposição por 24h a (A) MG 5; 50; 500 µM, (B) FC 1; 10; 100 µM, (C) LPS 0,1; 1; 10 µg/mL ou (D) STZ MG 2,5; 25; 250 µM. A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Duncan, considerando $p < 0.05$.

Secreção de S100B

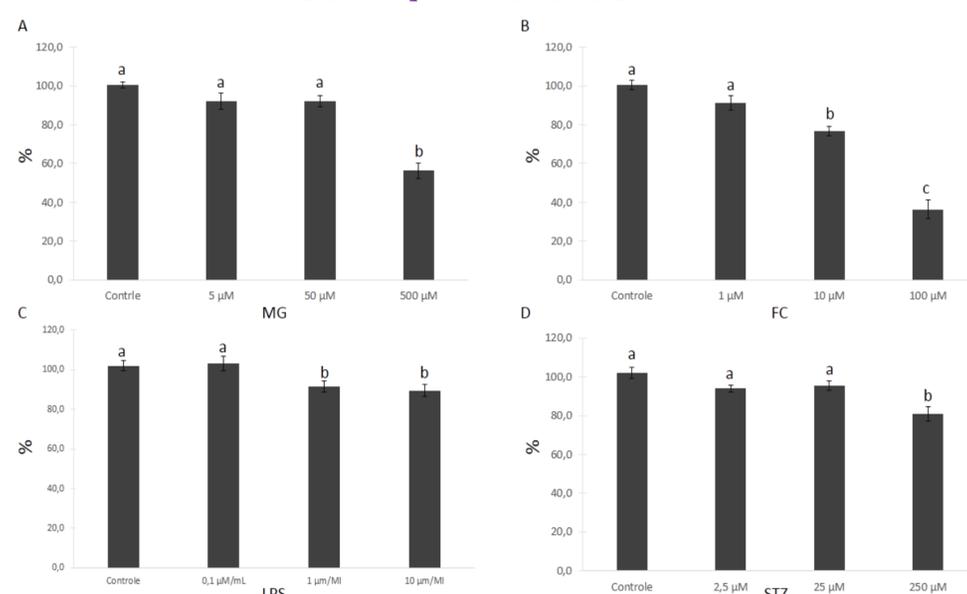


Figura 2: Secreção de S100B foi dosado por ELISA após a exposição por 24h a (A) MG 5; 50; 500 µM, (B) FC 1; 10; 100 µM, (C) LPS 0,1; 1; 10 µg/mL ou (D) STZ MG 2,5; 25; 250 µM. A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Duncan, considerando $p < 0.05$.

Conteúdo de GFAP

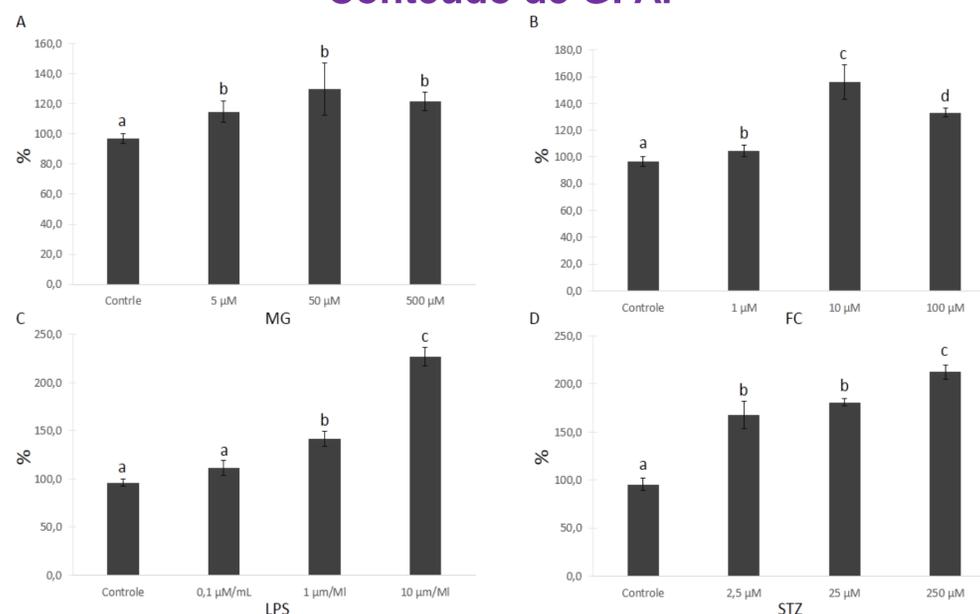


Figura 3: O conteúdo de GFAP foi dosado por ELISA após a exposição por 24h a (A) MG 5; 50; 500 µM, (B) FC 1; 10; 100 µM, (C) LPS 0,1; 1; 10 µg/mL ou (D) STZ MG 2,5; 25; 250 µM. A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Duncan, considerando $p < 0.05$.

Viabilidade Celular

	Controle	MG 500 µM	FC 100 µM	LPS 10 µg/mL	STZ 250 µM
MTT	102 ± 3,0	102,5 ± 3,3	102,9 ± 3,5	99,4 ± 2,1	102,8 ± 2,0
VN	102,7 ± 2,8	101,1 ± 2,7	100,3 ± 1,1	101,8 ± 3,6	100,9 ± 4,0
IP	103,0 ± 3,9	103,5 ± 2,4	97,5 ± 3,4	89,1 ± 3,7	98,7 ± 2,2
LDH	104,2 ± 3,9	101,1 ± 5,3	59,4 ± 5,6*	96,2 ± 4,5	97,1 ± 4,7

Tabela 1: A viabilidade celular foi avaliada redução de MTT, incorporação de vermelho neutro (VN), iodeto de propídeo (IP) e atividade extracelular de LDH após a exposição por 24h a MG 500 µM, FC 100 µM, LPS 10 µg/mL ou STZ 250 µM. * Indica diferença estatística significativa em relação ao controle. A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de 1 via, seguido de pós-teste de Dunnett, considerando $p < 0.05$.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Todos os insultos testados foram capazes, em diferentes concentrações, de diminuir a secreção da proteína S100B e aumentar o conteúdo de GFAP nas culturas de astrócitos. Isso mostra que esses diferentes tipos de insultos (glicante, inflamatório e metabólico) podem ter efeitos similares em astrócitos, ao menos no que se refere aos parâmetros avaliados. Entretanto, apenas a exposição a STZ foi capaz de reduzir o conteúdo intracelular de S100B. Mais estudos são necessários para entender o papel desses insultos no desenvolvimento das doenças neurodegenerativas, avaliando outros parâmetros, como a captação de glutamato e a atividade da glutamina sintetase, por exemplo. Entretanto, uma vez que os astrócitos parecem ter um importante papel no início dessas patologias, esses resultados preliminares indicam que os diferentes tipos de insultos podem ter mecanismos similares de dano, que podem, portanto, serem alvos de estudo na tentativa de se descobrir novos marcadores e terapias para essas patologias.

Referências

- 1- Wang and Bordey, 2008
- 2- Sofroniew & Vinters, 2010
- 3- Wang & Bordey, 2008
- 4- Khandelwal et al., 2011
- 5- Craft, 2007
- 6- Hansen et al., 2012
- 7- Swanson and Graham, 1994
- 8 - Hauss-Wegrzyniak et al., 1998
- 9 - Rodrigues et al., 2009

Apoio financeiro

Fapergs, CAPES e CNPQ