



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Ações do ácido quinolínico sobre o citoesqueleto de neurônios estriatais
<b>Autor</b>	BÁRBARA INDAIARA ORTIZ DE LIMA
<b>Orientador</b>	REGINA PESSOA PUREUR

## **Ações do ácido quinolínico sobre o citoesqueleto de neurônios estriatais**

As células gliais e os neurônios estão em constante sinalização recíproca tanto em condições fisiológicas quanto patológicas. Esta comunicação bi-direcional é sofisticadamente mediada por específicas vias de sinalização entre os neurônios e a glia, principalmente os astrócitos. Os astrócitos participam da formação e reconstrução das sinapses e tem um papel proeminente na proteção e reparo do tecido nervoso após injúria. Os neurofilamentos (NF) são um dos maiores componentes do citoesqueleto de neurônios e são responsáveis pelo estabelecimento e estabilização do citoesqueleto neuronal, manutenção do calibre axonal, entre outros. Eles são regulados por fosforilação de suas subunidades, que por sua vez é regulada por padrões complexos de sinalização celular, incluindo a interação com as células gliais. Neste contexto, a hiperfosforilação dos filamentos intermediários é um marco de neurodegeneração. A degeneração seletiva de neurônios específicos é característica de várias doenças neurodegenerativas, entre elas a doença de Huntington (DH). A DH causa uma perda seletiva de subtipos de neurônios do estriado, causando uma severa atrofia desta região cerebral. O ácido quinolínico (QUIN), um agonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), é um agente excitotóxico implicado na neurodegeneração. O QUIN mimetiza a DH por causar a perda de projeções de neurônios espinhais médios, enquanto poupa os interneurônios no estriado. Tanto a injeção intraestriatal de QUIN em modelos animais quanto a aplicação desta neurotoxina em culturas estriatais constituem importantes modelos experimentais, fornecendo informações sobre os mecanismos moleculares da perda neuronal seletiva observado na DH. Portanto o objetivo deste estudo foi verificar a influência do QUIN sobre a fosforilação das subunidades de NF (neurofilamento de baixo –NFL; médio – NFM e alto- NFH peso molecular) em cultura de neurônios estriatais, e estudar a participação do receptor NMDA nestes efeitos. Ainda, analisar a viabilidade neuronal ao QUIN, alterações morfológicas causadas por esta excitotoxina nas culturas celulares e avaliar uma possível proteção dos astrócitos sobre os efeitos do QUIN nos neurônios estriatais, utilizando co-cultura de neurônios e astrócitos. Neurônios e/ou astrócitos estriatais obtidos de cultura primária foram incubados com concentrações crescentes de QUIN (300 nmol-500  $\mu$ M) e/ou antagonista de receptor NMDA (DL-AP5). Após 24 horas, as células foram incubadas com o traçador radioativo  $^{32}$ P-ortofosfato. A fração citoesquelética foi obtida, as proteínas fosforiladas foram analisadas por SDS-PAGE e a densidade óptica das bandas escolhidas foi quantificada. A viabilidade celular foi medida através de citometria de fluxo e a análise morfológica foi feita usando a técnica de imunofluorescência utilizando anticorpos do citoesqueleto neuronal. Os resultados mostraram que o QUIN causou hiperfosforilação dos NFs estudados e estes efeitos foram mediados por receptor NMDA, reforçando a importância dos mecanismos glutamatérgicos no dano ao SNC causado pelo QUIN. Além disso, houve uma proteção destes efeitos quando os neurônios foram tratados em co-cultura, reforçando o papel dos astrócitos na proteção aos neurônios em uma injúria cerebral. Também se observou modificações morfológicas dos neurônios tratados com esta excitotoxina. Como a hiperfosforilação destas proteínas está relacionada à neurodegeneração, e considerando a importância dos astrócitos na resposta à injúria ao SNC, além do fato que alterações morfológicas podem acarretar perda funcional e até morte, os resultados mostrados neste trabalho podem estar relacionados com a neurotoxicidade do QUIN vista na DH e em outras patologias do SNC.