



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Efeitos do ácido quinolínico sobre o citoesqueleto de astrócitos estriatais de ratos
Autor	FERNANDA SILVA FERREIRA
Orientador	REGINA PESSOA PUREUR

A rota das kinureninas é a maior via de metabolização do triptofano e produz diversos intermediários neuroativos, sendo que a desregulação desta rota está associada com muitas condições neurodegenerativas. Dentre os metabólitos produzidos pela via, o ácido quinolínico (QUIN) é conhecido por suas propriedades neuroativas. O QUIN é um antagonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) envolvido em diversas doenças neurodegenerativas, em especial a doença de Huntington (DH). Os astrócitos são células multifuncionais com papel essencial no controle da homeostase cerebral, processamento de informações e produção de respostas a insultos ao SNC. Alterações da funcionalidade das células gliais, incluindo mudanças na sua morfologia e atividade proliferativa, são um achado comum em neuropatologias. A proteína glial fibrilar ácida (GFAP) e a vimentina (Vim) são os filamentos intermediários (FI) específicos do citoesqueleto de astrócitos e participam de complexas vias de sinalização que regulam a atividade e função astrocitária, sendo que suas subunidades são reguladas por fosforilação. O citoesqueleto de actina é considerado um dos reguladores-chave da sobrevivência ou morte celular. Alterações no citoesqueleto de actina em resposta a sinais celulares podem ocasionar complicações relevantes em diversas funções astrocitárias. Considerando o importante papel do remodelamento do citoesqueleto e da plasticidade astrocitária em diversas patologias que afetam o SNC, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do QUIN sobre o citoesqueleto de astrócitos primários, com ênfase nos mecanismos glutamatérgicos e níveis de Ca^{2+} na fosforilação da GFAP e Vim e sua relação com o remodelamento do citoesqueleto de actina. Astrócitos estriatais de ratos obtidos de cultura primária foram incubados com concentrações crescentes de QUIN (10 -1000 μM) e/ou antagonista de receptor NMDA (DL-AP5), receptor AMPA (CNQX) e quelante de Ca^{2+} intracelular (BAPTA-AM). Após 24 horas, as células foram incubadas com o traçador radioativo ^{32}P -ortofosfato de sódio. A fração citoesquelética foi obtida, as proteínas fosforiladas foram analisadas por SDS-PAGE e a densidade óptica foi quantificada. A viabilidade celular foi medida através do teste de brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio e da atividade da lactato desidrogenase. A análise morfológica foi feita usando a técnica de imunocitofluorescência, e a medida de Ca^{2+} intracelular foi feita utilizando o teste com FURA-2AM. Os resultados mostraram que o QUIN causou hiperfosforilação dos FI astrogliais e aumento dos níveis de Ca^{2+} intracelulares através de receptores NMDA e AMPA, reforçando a importância dos mecanismos glutamatérgicos no dano ao SNC causado pelo QUIN. Além disso, houve reorganização da rede citoesquelética suportando as alterações morfológicas observadas. Estes resultados indicam que QUIN 100 μM desencadeia vias de sinalização e ondas de Ca^{2+} a partir dos receptores glutamatérgicos capazes de causar hiperfosforilação das proteínas do citoesqueleto estudadas. Por outro lado, este desequilíbrio pode estar implicado no remodelamento do citoesqueleto de actina, pois a reorganização da actina é controlada por proteínas associadas, as quais são alvo das cascatas de fosforilação. Nós propomos que o rompimento do equilíbrio do citoesqueleto pode ser um dos mecanismos implicados na toxicidade do QUIN sobre astrócitos em cultura.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERGS, UFRGS