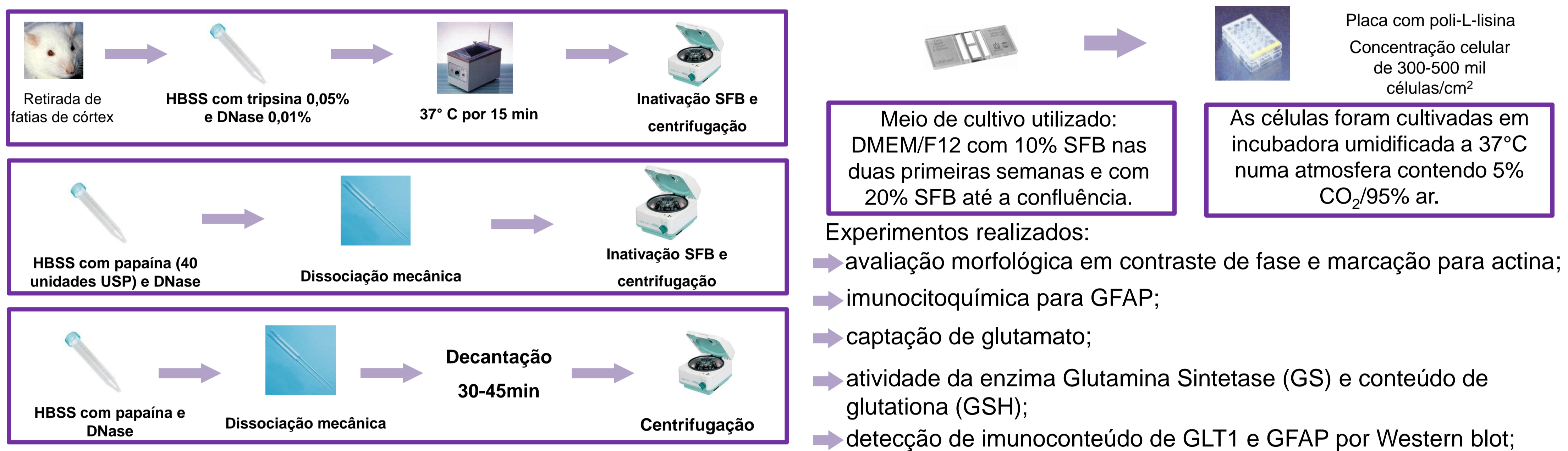


Introdução

A funcionalidade do Sistema Nervoso Central (SNC) depende de interações entre diferentes tipos celulares, sendo o estudo de propriedades morfofuncionais de tipos celulares individuais, fundamental para entender o papel de cada célula na complexa conjuntura cerebral. Estudos em culturas primárias de astrócitos contribuíram decisivamente para a compreensão das funções astrocitárias e interações neurônio-astrócito. Atualmente, sabe-se que os astrócitos desempenham um papel decisivo no funcionamento cerebral, dando suporte estrutural e nutritivo aos neurônios, exercendo função antioxidante e modulando a função neuronal, entre outros. A maioria dos protocolos utilizados em culturas celulares monotípicas faz uso de animais neonatos (geralmente ratos e camundongos) para a obtenção das células. Neste estudo, propomos um protocolo de obtenção de cultura de astrócitos corticais a partir de ratos Wistar adultos de 90 dias caracterizando-a morfofuncionalmente.

Materiais e métodos



Resultados

Figura 1

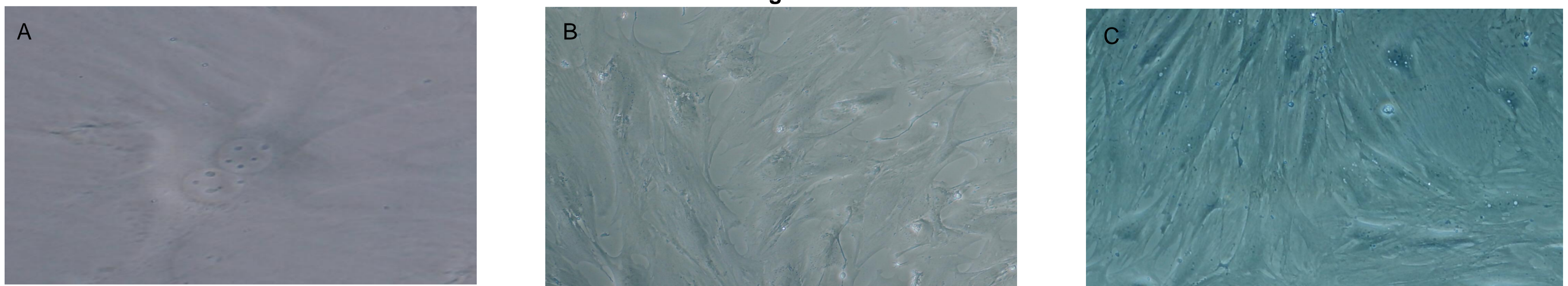


Fig.1 contraste de fase da cultura de astrócitos adultos. **A** célula em divisão. **B** cultura parcialmente confluída. **C** cultura confluenta. As células mostram marcação nuclear pelo corante DAPI e não apresentam perda de integridade de membrana por não incorporarem significativamente o corante iodeto de propídeo (dados não mostrados).

Figura 2

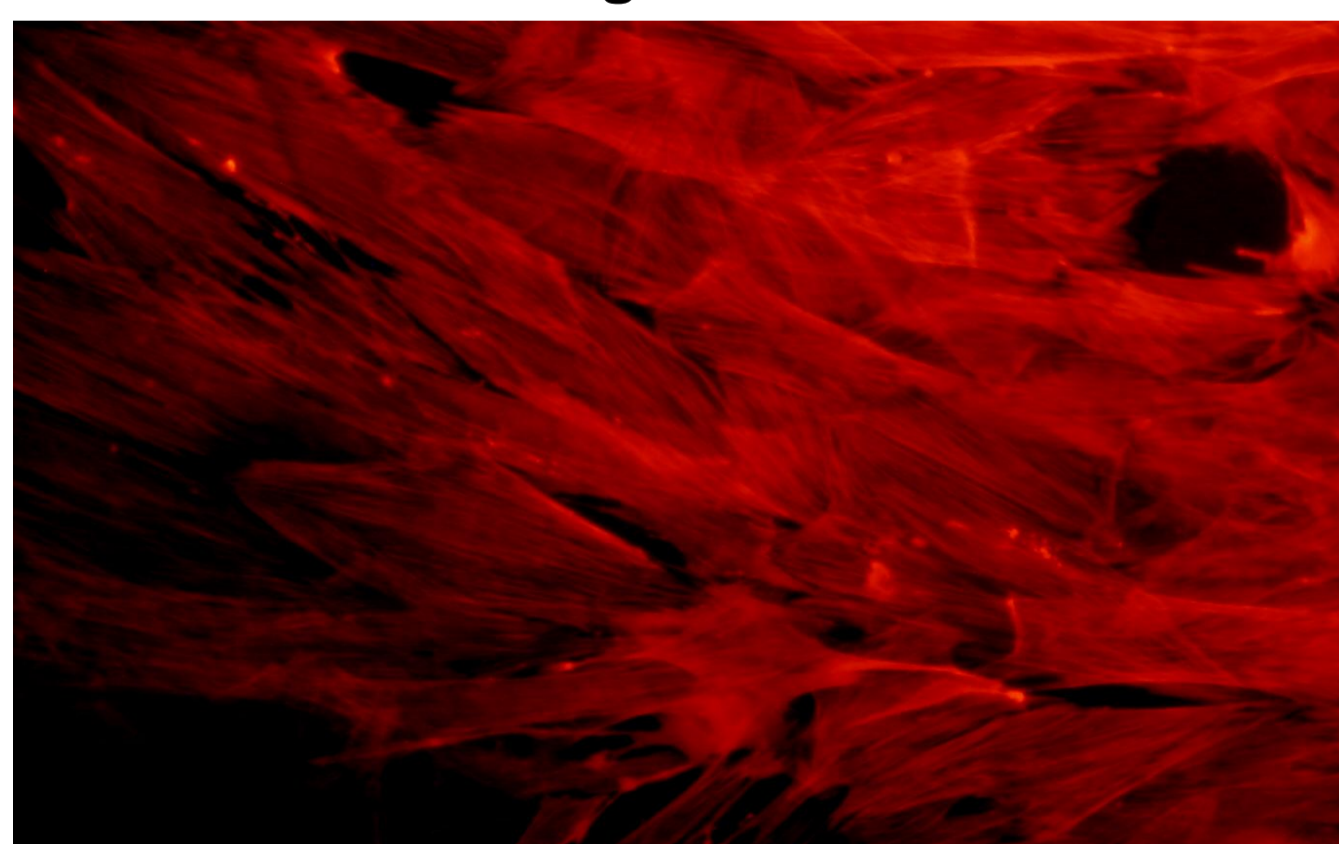


Fig.2 citoesqueleto de actina, marcação com faloidina.

Figura 3

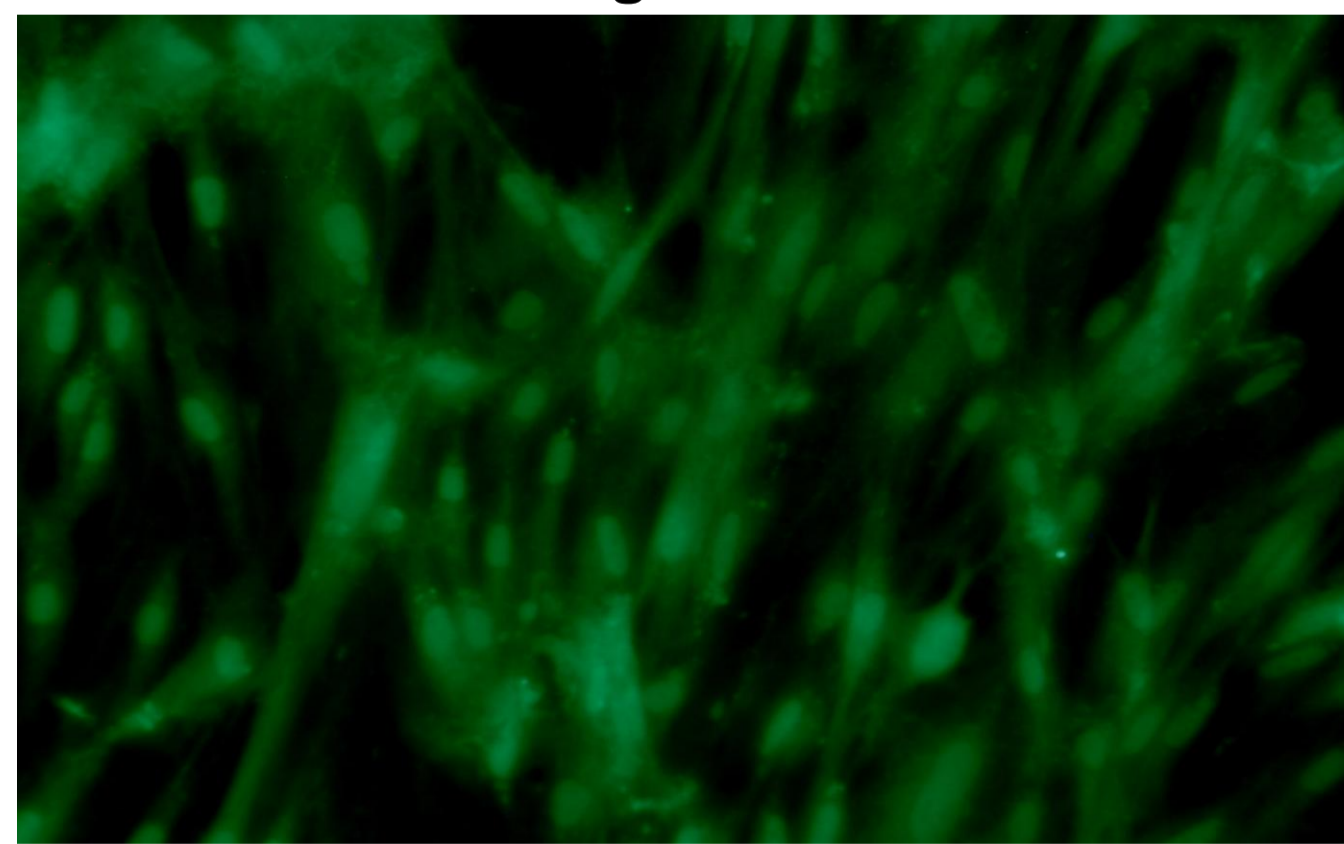


Fig.3 imunocitoquímica para GFAP.

Tabela 1

Parâmetro glial	Valores basais obtidos
Captção de glutamato	0,4 ± 0,05 (nmol/mg prot/min)
Atividade da GS	45,0 ± 8 (µmol/mg)
Conteúdo de GSH	2,0 ± 0,2 (nmol/mg prot)

Resultados dos parâmetros gliais avaliados expressos por média ± DP.

Discussão

A partir destes resultados, podemos concluir que o protocolo proposto foi efetivo para gerar uma cultura funcional e caracteristicamente astrocitária, utilizando ratos adultos, os quais já apresentam diferenciação celular e conexões cerebrais estabelecidas. Compreendemos que são necessárias duas digestões enzimáticas devido à complexidade e compactação do parênquima cerebral adulto. As células obtidas por este método apresentam uma redução na sua reatividade, demonstrada pelos valores de captação de glutamato e de conteúdo de GSH, semelhante ao que ocorre no cérebro adulto *in vivo*. Por outro lado, apresentam maior atividade da GS, que entendemos como sendo parte de um mecanismo compensatório relacionado à redução da captação de glutamato. Desta forma, este estudo representa uma importante metodologia relacionada às investigações científicas realizadas em cultura de células, pois permite o estudo de funções astrocitárias em animais adultos sob condições normais ou patológicas.

Referências

- Leiti Hetz, Liang Peng, and James C.K.Lai. **Funcional studies in cultured astrocytes**. A companion to methods in Enzymology 16, 293-310 (1998).
- Amanda L Sheldon, Michael B Robinson. **The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention**. Neurochemistry international 51, 333-355 (2007).
- Lucia Maria Vieira de Almeida et al. **Resveratrol increases Glutamate Uptake, Glutathione Content, and S100B Secretion in Cortical Astrocyte Cultures**. Cell mol neurobio 27, 661-668 (2007).
- R.M. Guasch, et al. **RhoA and Lysophosphatidic Acid are Involved in the Actin Cytoskeleton Reorganization of Astrocyte Exposed to Ethanol**. Journal of Neuroscience Research 72, 487-502 (2003).