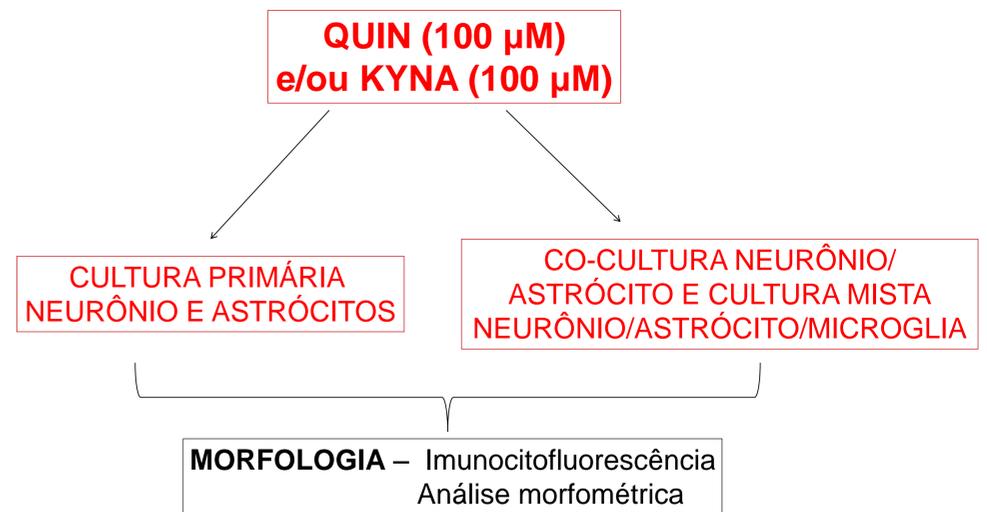


INTRODUÇÃO

O ácido quinolínico (QUIN) é um agonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) que está envolvido em diversas doenças neurodegenerativas, em especial a doença de Huntington (DH). O aumento de suas concentrações pode gerar excitotoxicidade. O ácido quinurênico (KYNA), por sua vez, exerce efeitos neuroprotetores por ser um antagonista NMDA e de outros receptores glutamatérgicos ionotrópicos. O citoesqueleto é responsável pela integridade celular, alterações morfológicas e transdução de sinais moleculares, sendo que as proteínas do citoesqueleto têm um papel chave na interação entre astrócitos e neurônios, contribuindo para as funções sinápticas e o metabolismo neuronal.

Portanto, o objetivo do estudo foi investigar os efeitos do QUIN sobre a morfologia de astrócitos, neurônios e microglia estriatais em cultura primária, bem como o efeito neuroprotetor do KYNA e da interação astrócito/neurônio/microglia sobre estas ações.

MÉTODOS



RESULTADOS

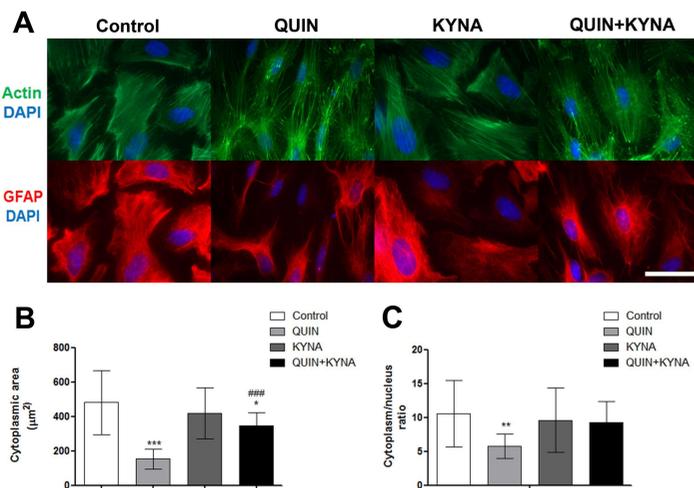


Fig 1. Efeito do tratamento com QUIN e/ou KYNA sobre a morfologia em cultura de astrócitos. As células foram tratadas com 100 μM de QUIN e/ou KYNA por 24 horas. A morfologia foi analisada através da marcação com anticorpo anti-actina e anti-GFAP para marcação de astrócitos. Os resultados de imunofluorescência mostram a alteração morfológica de astrócitos e a reversão dos efeitos pelo KYNA (A). Os resultados morfométricos mostram alteração da área citoplasmática (B) e da razão citoplasma/núcleo (C) pelo QUIN com reversão parcial do KYNA. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de uma via seguida de teste Tukay-kramer. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$ comparado com o controle e ### $p < 0.001$ comparado com o grupo QUIN.

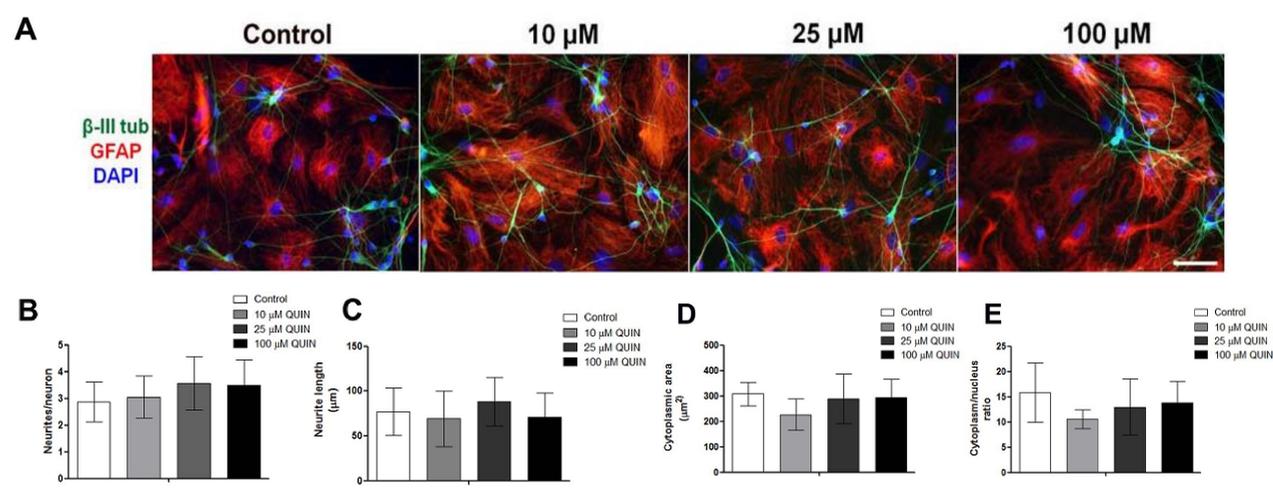


Fig 3. Efeito do tratamento com QUIN e/ou KYNA sobre a morfologia em co-cultura de astrócitos e neurônios. As células foram tratadas com 100 μM de QUIN e/ou KYNA por 24 horas e a morfologia foi analisada através da marcação com anticorpo anti-GFAP e anti- β III-tub para marcação de astrócitos e neurônios, respectivamente. Os resultados de imunofluorescência mostram que o tratamento com QUIN não alterou a morfologia de astrócitos e neurônios em co-cultura (A). Os resultados morfométricos mostram que não houve alteração razão neurito/neurônio (B), do comprimento de neuritos (C), da área citoplasmática (D) e da razão citoplasma/núcleo (E) pelo QUIN.

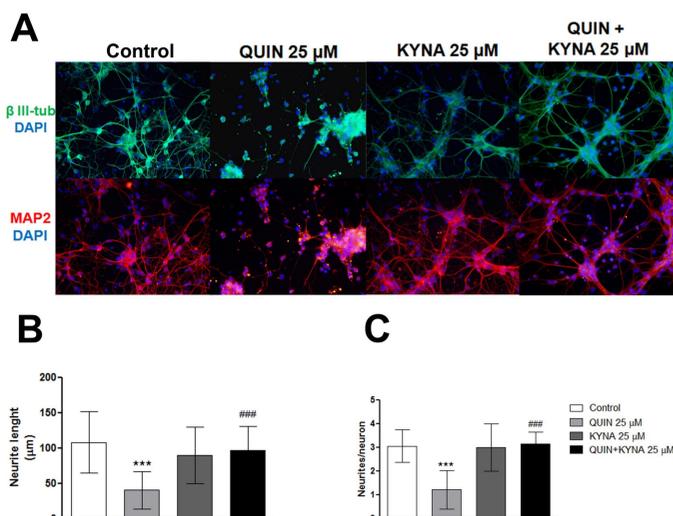


Fig 2. Efeito do tratamento com QUIN e/ou KYNA sobre a morfologia em cultura de neurônios. As células foram tratadas com 100 μM de QUIN e/ou KYNA por 24 horas. A morfologia foi analisada através da marcação com anticorpo anti- β III-tub e anti-MAP2 para marcação de neurônios. Os resultados de imunofluorescência mostram a alteração morfológica de neurônios e a reversão dos efeitos pelo KYNA (A). Os resultados morfométricos mostram alteração do comprimento dos neuritos (B) e do número de neuritos por neurônio (C) pelo QUIN com reversão total do KYNA. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de uma via seguida de teste Tukay-kramer. *** $p < 0.001$ comparado com o controle e ### $p < 0.001$ comparado com o grupo QUIN.

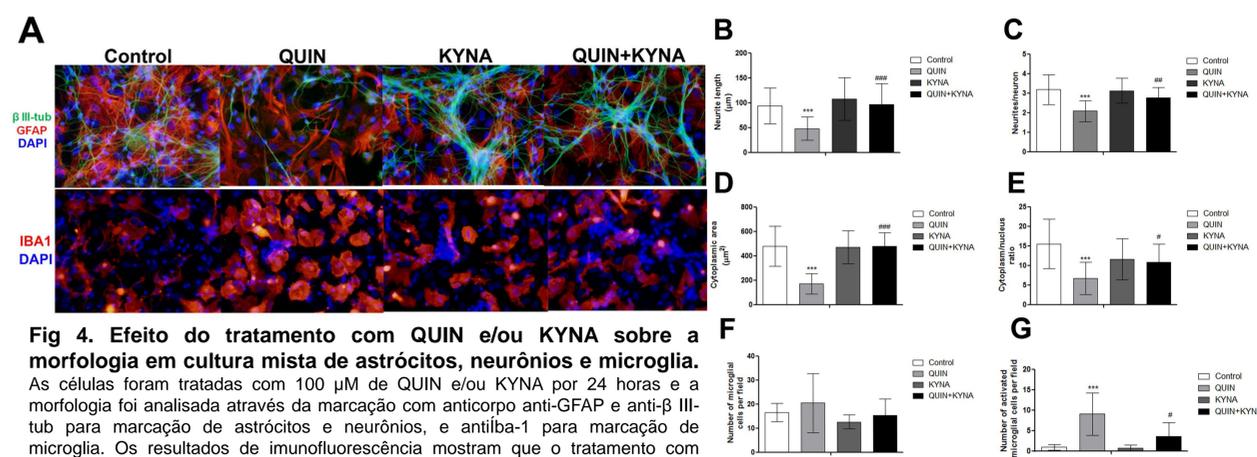


Fig 4. Efeito do tratamento com QUIN e/ou KYNA sobre a morfologia em cultura mista de astrócitos, neurônios e microglia. As células foram tratadas com 100 μM de QUIN e/ou KYNA por 24 horas e a morfologia foi analisada através da marcação com anticorpo anti-GFAP e anti- β III-tub para marcação de astrócitos e neurônios, e anti-IBA1 para marcação de microglia. Os resultados de imunofluorescência mostram que o tratamento com QUIN alterou a morfologia de astrócitos e neurônios em cultura mista, e o KYNA foi capaz de reverter essas alterações (A). Os resultados morfométricos mostram que houve alteração razão neurito/neurônio, com reversão total pelo KYNA (B), do comprimento de neuritos (C), da área citoplasmática (D) e da razão citoplasma/núcleo (E) pelo QUIN. O número de células microgliais por campo não foi alterado (F), porém o número de células microgliais ativadas por campo foi alterada pelo QUIN, com reversão pelo KYNA (G). Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de uma via seguida de teste Tukay-kramer. *** $p < 0.001$ comparado com o controle e # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ e ### $p < 0.001$ comparado com o grupo QUIN.

CONCLUSÕES

A morfologia de astrócitos e neurônios foi drasticamente alterada pelo tratamento com QUIN. Astrócitos e neurônios cocultivados protegeram-se mutuamente contra os danos causados pelo QUIN. No entanto, na presença da microglia não foi observada essa proteção, comprovando o papel desse tipo celular nos efeitos deletérios desencadeados pelo metabólito. O KYNA foi capaz de reverter os efeitos causados pelo QUIN sobre a morfologia celular tanto nas culturas isoladas quanto na cultura mista. O rompimento do citoesqueleto é uma das mais importantes consequências da toxicidade do QUIN em neurônios e astrócitos estriatais em cultura, e a interação astrócito-neurônio é importante na neuroproteção. Além disso, mostramos que a microglia tem um papel crucial nos efeitos desencadeados pelo QUIN, sendo que o KYNA foi capaz de proteger as culturas celulares dos efeitos desencadeados pelo metabólito. Os resultados mostrados neste trabalho podem ser uma importante contribuição para a compreensão da neurotoxicidade do QUIN nas doenças neurodegenerativas.