

Ação de antagonistas do receptor GABA_A sobre a secreção de S100B

VANESSA FERNANDA DA SILVA¹; CARLOS ALBERTO GONÇALVES²; ADRIANA FERNANDA K. VIZUETE²

¹Graduanda do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Cenecista – UNICNEC;

² PPG Ciências Biológicas – Bioquímica

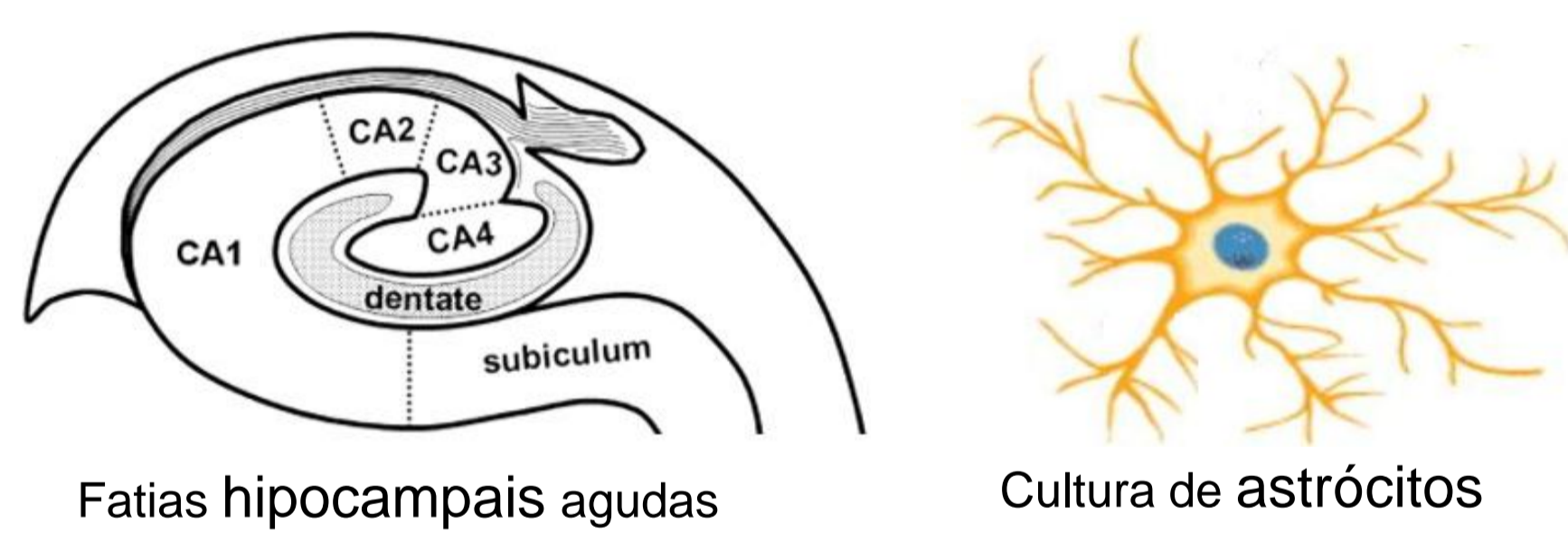
INTRODUÇÃO:

No sistema nervoso central (SNC), os astrócitos são células gliais participantes da sinapse tripartite e capazes de regular a atividade neuronal. São responsáveis pela homeostase do meio extracelular através da captação de neurotransmissores como o GABA. Os astrócitos comunicam-se com neurônios através de diferentes moléculas, como a proteína S100B. A S100B, proteína ligante de cálcio, é predominantemente sintetizada e secretada pelos astrócitos no SNC. Sua secreção pode ser modulada por fatores como a neuroinflamação e indução de despolarização em meio de alto potássio. Entretanto, há pouca informações da sinalização GABAérgica sobre a modulação da secreção de S100B.

OBJETIVO:

Este trabalho visa investigar o efeito de antagonistas do receptor GABA_A sobre a secreção de S100B.

METODOLOGIA:



- Antagonistas GABAérgico (PTZ e bicuculina)

- TTX

- Fluorocirato (FLC)

Viabilidade celular (MTT)

Integridade celular (LDH)

Elisa S100B

RESULTADOS:

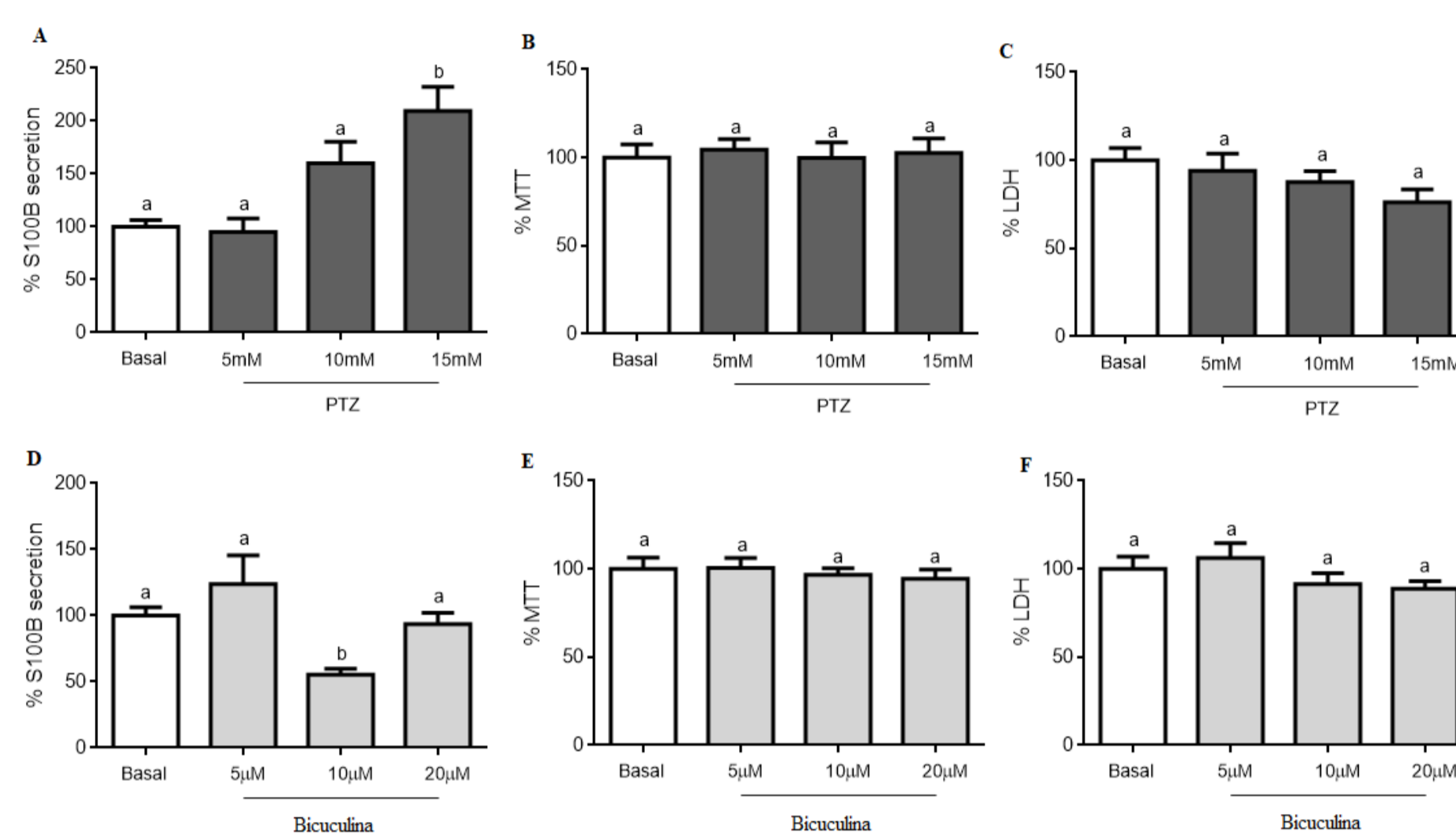


Figura 1: Efeitos dos antagonistas GABAérgicos PTZ e bicuculina na secreção S100B em fatias hipocámpicas. Os antagonistas GABA_A, PTZ e bicuculina atuam de forma oposta na secreção de S100B (A, D). Estes tratamentos não afetaram a viabilidade da fatia (MTT) e a integridade (LDH) (B-C, E-F). Os valores foram expressos por média ± SEM, de 6-8 animais por grupo, experimentos independentes realizados em triplicado, assumindo o valor de controle como 100% para cada animal. Os dados foram analisados por ANOVA, seguidos pelo teste de Tukey. Barras sem uma letra comum diferem significativamente, assumindo P < 0,05.

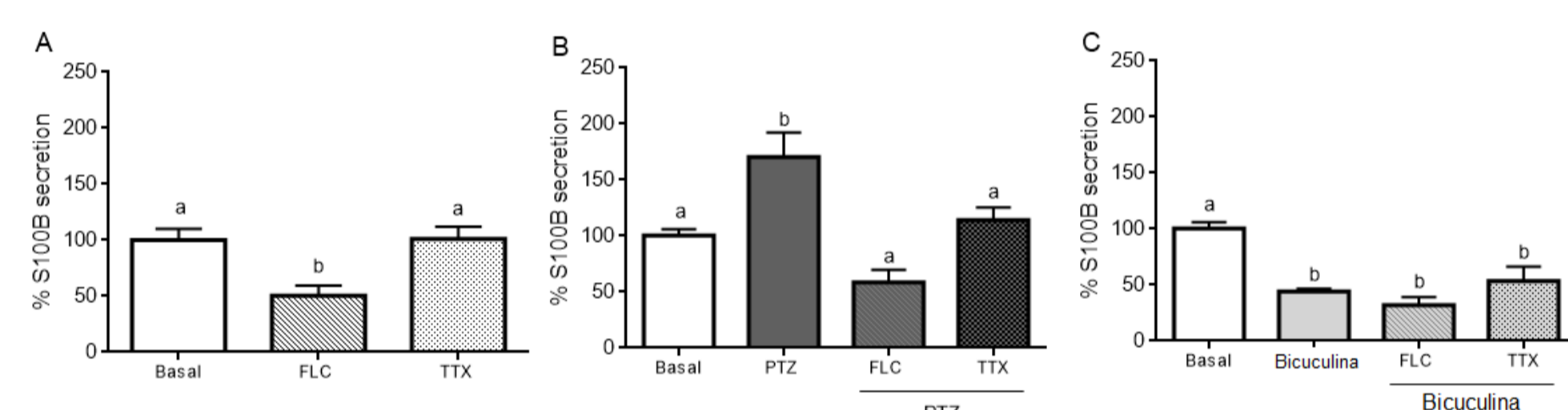


Figura 2: A ação de PTZ depende da atividade astrocitária e da interação com neurônios. FLC reduziu a secreção de S100B (A). A co-incubação de TTX (1 μM) ou FLC (100 μM) impediu a ação de PTZ (15 mM) (B), no entanto, ambos inibidores não afetaram a ação da bicuculina (10 μM) (C). Os valores foram expressos por média ± SEM, de 6-8 animais por grupo, experimentos independentes realizados em triplicado, assumindo o valor de controle como 100% para cada animal. Os dados foram analisados por ANOVA, seguidos pelo teste de Tukey. Barras sem uma letra comum diferem significativamente, assumindo P < 0,05. Os valores de LDH e MTT não são diferentes (resultados não demonstrados).

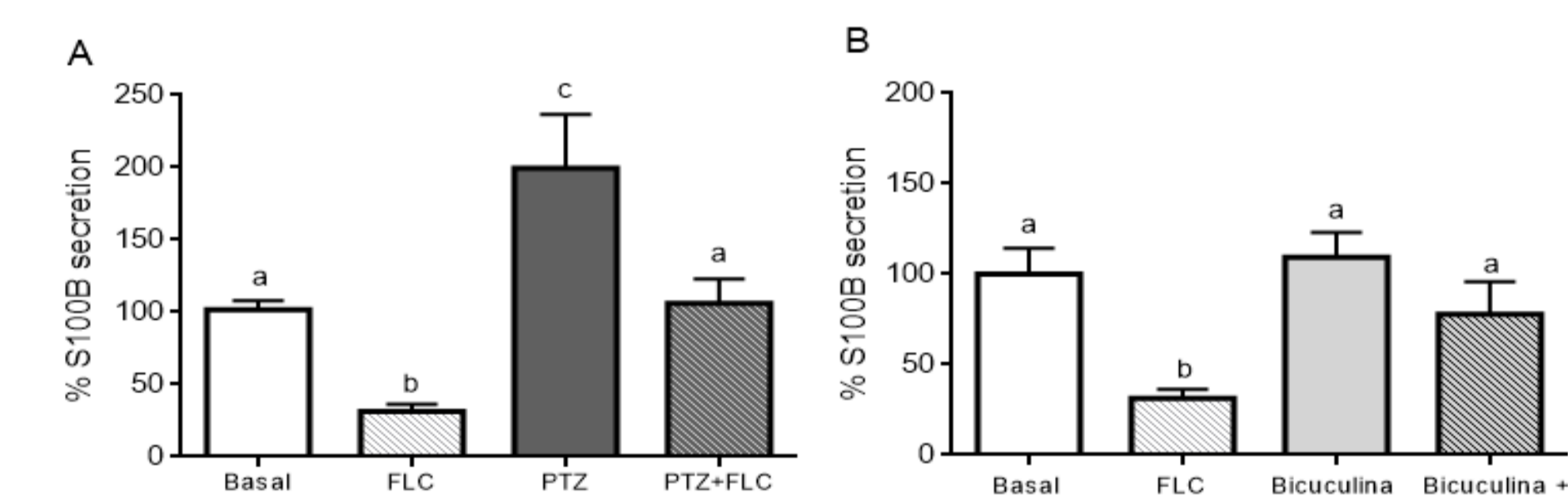


Figura 3: Efeitos da modulação GABAérgica na secreção de S100B em cultura de astrócitos. PTZ (15 mM) aumentou a secreção de S100B (A). FLC (100 μM) impediu o efeito de PTZ (A). No entanto, bicuculina (10 μM) não afetou a secreção de S100B (B). A redução de S100B por FLC foi impedida pela bicuculina (figura B). Os valores foram expressos por média ± SEM de 6 seis experimentos independentes realizados em triplicata, assumindo o valor de controle como 100% para cada cultura de células. Os dados foram analisados por ANOVA, seguidos pelo teste de Tukey. Barras sem uma letra comum diferem significativamente, assumindo P < 0,05. Os valores de LDH e MTT não são diferentes (resultados não demonstrados).

CONCLUSÃO:

O mecanismo de secreção de S100B ainda não é completamente esclarecido. Entretanto, podemos observar que antagonistas GABAérgicos são capazes de modular a secreção de S100B. Em fatias hipocámpicas, PTZ e bicuculina agem de forma oposta. Além disso, a ação do PTZ depende da comunicação astrócito neurônio, assim como da atividade astrocítica e possui efeitos diretos sobre a secreção de S100B de astrócitos.

REFERÊNCIAS:

- Donato, R., Sorci, G., Riuzzi, F., Arcuri, C., Bianchi, R., Brozzi, F., Tubaro, C., Giambanco, I., 2009. S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1793, 1008–1022. Lee, M., Schwab, C., McGeer, P.L., 2011. Astrocytes are GABAergic cells that modulate microglial activity. *Glia* 59, 152–165. Leite, M.C., Galland, F., Brolese, G., Guerra, M.C., Bortolotto, J.W., Freitas, R., Almeida, L.M.V. De, Gottfried, C., Gonçalves, C.-A., 2008. A simple, sensitive and widely applicable ELISA for S100B: Methodological features of the measurement of this glial protein. *J. Neurosci. Methods* 169, 93–9. Nardin, P., Tortorelli, L., Quincozes-Santos, A., De Almeida, L.M. V, Leite, M.C., Thomazi, A.P., Gottfried, C., Wofchuk, S.T., Donato, R., Gonçalves, C.A., 2009. S100B Secretion in Acute Brain Slices: Modulation by Extracellular Levels of Ca²⁺ and K⁺. *Neurochem. Res.* 34, 1603–1611.