



Resveratrol modula a liberação de fatores tróficos em cultura de astrócitos via receptores adenosinérgicos

¹Ricardo Haack Amaral Roppa, ²André Quincozes dos Santos

¹Aluno de Graduação em Farmácia, UFRGS, Rio Grande do Sul - RS, Brasil.

²Prof. Departamento de Bioquímica, UFRGS, Rio Grande do Sul - RS, Brasil.

E-mail: roppa.ricardo@gmail.com; andrequincozes@ufrgs.br

Introdução

Os astrócitos são células gliais que possuem um importante papel na manutenção da homeostase do sistema nervoso central (SNC) e que participam ativamente da resposta inflamatória cerebral, através da liberação de mediadores pró- e anti-inflamatórios. O resveratrol (3,5,4-trans-tri-hidroxi-estilbeno), um polifenol presente em uvas e vinhos, possui conhecidos efeitos antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor. Tais efeitos podem ser relacionados a sua capacidade de modular a atividade astrocitária, porém os mecanismos pelos quais o resveratrol exerce tal modulação ainda não foram totalmente elucidados. A sinalização adenosinérgica está envolvida em processos fisiológicos e patológicos em vários tecidos, incluindo o SNC, sendo capaz de modular respostas gliais, incluindo aquelas relacionadas à inflamação.

Objetivo

Neste estudo, utilizamos a cultura de astrócitos corticais de ratos Wistar a fim de investigar o possível papel dos receptores de adenosina nos efeitos glioprotetores do resveratrol frente a um modelo de inflamação induzido por lipopolissacarídeo (LPS).

Métodos



Experimentos Realizados

- ▶ Expressão do RNAm dos receptores de adenosina (A₁, A_{2a}, A_{2b} e A₃), avaliados por RT-PCR;
- ▶ Níveis extracelulares do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), avaliados por ELISA;
- ▶ Conteúdo de HO-1, avaliado por western blotting, e PI3K e Akt fosforiladas, avaliadas por ELISA
- ▶ Vias de sinalização associadas aos efeitos do resveratrol: heme oxigenase 1 (HO1), fator eritroide nuclear 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), sirtuína 1 (SIRT-1), fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K) e Ak, avaliados por RT-PCR;

Resultados

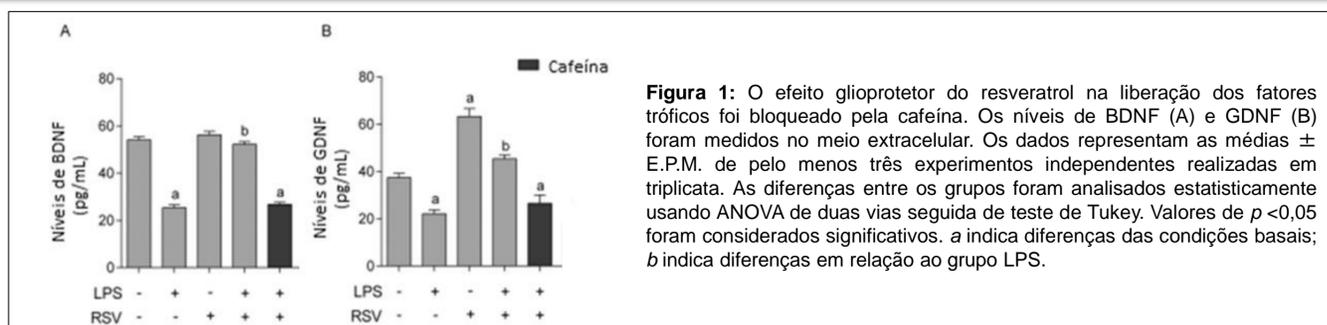


Figura 1: O efeito glioprotetor do resveratrol na liberação dos fatores tróficos foi bloqueado pela cafeína. Os níveis de BDNF (A) e GDNF (B) foram medidos no meio extracelular. Os dados representam as médias \pm E.P.M. de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata. As diferenças entre os grupos foram analisadas estatisticamente usando ANOVA de duas vias seguida de teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. *a* indica diferenças das condições basais; *b* indica diferenças em relação ao grupo LPS.

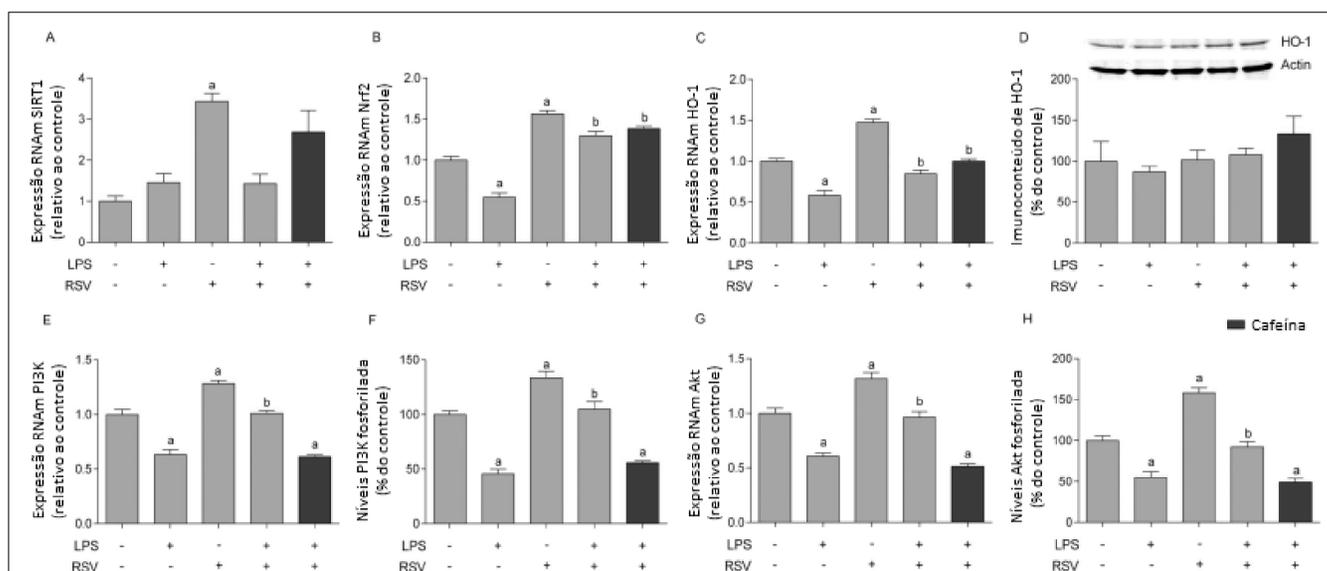


Figura 3: O resveratrol ativou as vias de sinalização clássicas associadas aos seus efeitos protetores. Foram avaliadas a expressão de RNAm de SIRT1 (A), Nrf2 (B), HO-1 (C), PI3K (E) e Akt (G), bem como os níveis proteicos de HO-1 (D), PI3K fosforilada (F) e Akt fosforilada (H). Os dados representam as médias \pm E.P.M. de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata. As diferenças entre os grupos foram analisadas estatisticamente usando ANOVA de duas vias seguida de teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. *a* indica diferenças das condições basais; *b* indica diferenças em relação ao grupo LPS.

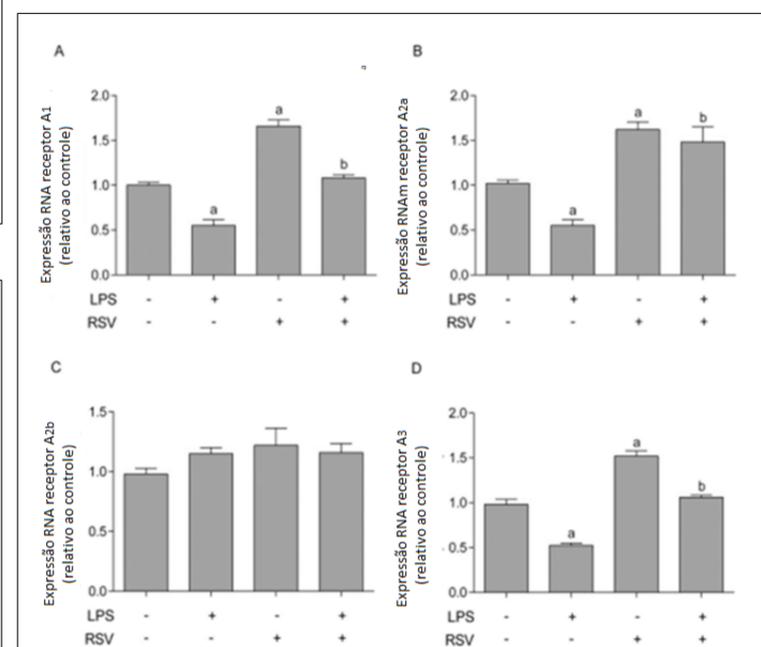


Figura 2: Efeitos do LPS e do resveratrol na expressão do RNAm dos receptores de adenosina. O RNAm que codifica os subtipos de receptores de adenosina A₁, A_{2a}, A_{2b} e A₃ (A – D, respectivamente) foi quantificado por RT-PCR. Os dados representam as médias \pm E.P.M. de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata. As diferenças entre os grupos foram analisadas estatisticamente usando ANOVA de duas vias seguida de teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. *a* indica diferenças das condições basais; *b* indica diferenças em relação ao grupo LPS.

Conclusão

Nossos resultados indicam que os receptores de adenosina estão envolvidos nos efeitos glioprotetores do resveratrol, particularmente em relação à liberação de fatores tróficos e ativação da via de sinalização da PI3K/Akt.