

LPS MODULA SECREÇÃO DE S100B E CONTEÚDO DE GFAP EM CULTURA DE ASTRÓCITOS

Elisa Negri, Carolina Da Ré, Fabiana Galland, Maria Cristina Guerra, Marina Concli Leite, Lucas Tortorelli, Douglas Engelke, Letícia Rodrigues, Carlos-Alberto Gonçalves.

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
e.elisanegri@gmail.com

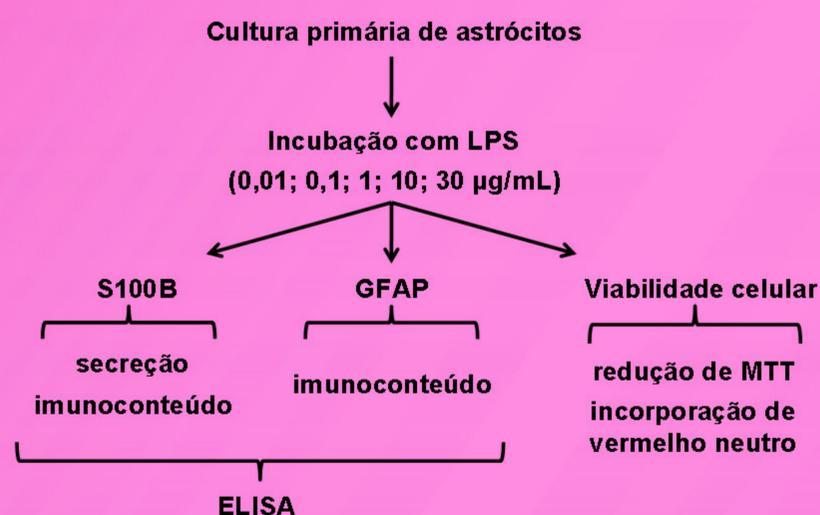
INTRODUÇÃO:

A resposta inflamatória no cérebro é primeiramente mediada pela microglia, mas crescentes evidências sugerem uma importância crucial dos astrócitos neste processo. Os astrócitos são células capazes de ativar respostas inflamatórias na presença de patógenos ou lesões, modificando a expressão de diversas proteínas [1]. Entre os principais marcadores destaca-se a S100B, uma proteína ligante de cálcio secretada exclusivamente por astrócitos, através da estimulação por vários agentes. Esta proteína tem sido usada como marcador de dano cerebral em desordens neurodegenerativas com componente inflamatório, como a Doença de Alzheimer [2]. No meio extracelular, esta proteína tem função trófica ou apoptótica dependendo da sua concentração, enquanto no meio intracelular tem muitos alvos [3], estando envolvida na regulação da proteína de citoesqueleto GFAP (Proteína Ácida Fibrilar Glial) [4], a qual parece mudar sua expressão durante a resposta inflamatória. O lipopolissacarídeo (LPS), presente na membrana plasmática de bactérias gram-negativas, é uma molécula muito usada para desenvolver modelos de neuroinflamação, pois atua na intensificação da resposta imunológica, desencadeando a liberação de várias citocinas, o que estimula vias de sinalização envolvidas nesta resposta [5]. Entretanto, não há estudos mostrando o efeito desta molécula sobre a secreção e imunoconteúdo de S100B em cultura de astrócitos, uma vez que esta proteína tem sido mostrada como uma peça importante no processo inflamatório.

OBJETIVO:

Avaliar o efeito do LPS sobre a secreção e imunoconteúdo de S100B e GFAP em cultura primária de astrócitos.

METODOLOGIA:



RESULTADOS:

Figura 1. Efeito do LPS sobre secreção de S100B

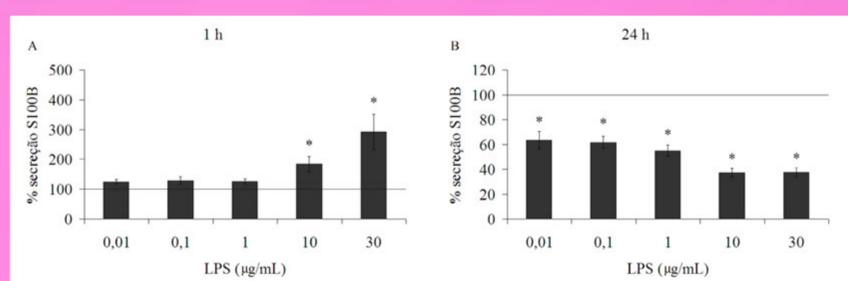


Figura 1. Astrócitos corticais de ratos foram cultivados em DMEM contendo 10% de SFB. Após a confluência, o meio foi substituído por DMEM sem soro na presença ou ausência de LPS (0,01; 0,1; 1; 10 e 30 µg/mL). A S100B foi quantificada por ELISA em 1 h (A) e 24 h (B) de exposição ao LPS. Os valores do controle foram considerados 100% e estão representados pela linha. Foram realizados 5 experimentos em triplicata. * indica diferença significativa em relação ao controle para um $p < 0,05$.

Figura 2. Efeito do LPS sobre o conteúdo de S100B e GFAP

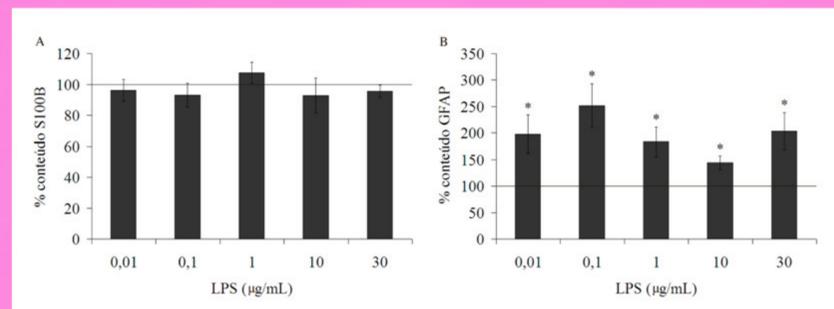


Figura 2. Astrócitos corticais de ratos foram cultivados em DMEM contendo 10% de SFB. Após a confluência, o meio foi substituído por DMEM sem soro na presença ou ausência de LPS (0,01; 0,1; 1; 10 e 30 µg/mL). Após 24 h de exposição ao LPS, as células foram lisadas e o conteúdo de S100B (A) e GFAP (B) foi quantificado por ELISA. Os valores do controle foram considerados 100% e estão representados pela linha. Foram realizados 5 experimentos em triplicata. * indica diferença significativa em relação ao controle para um $p < 0,05$.

Figura 3. Efeito do LPS sobre a viabilidade celular

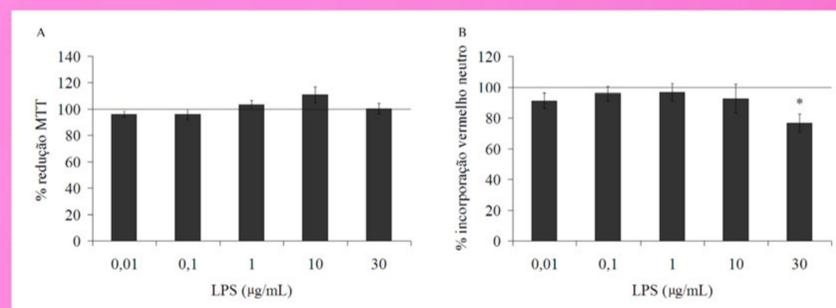


Figura 3. Astrócitos corticais de ratos foram cultivados em DMEM contendo 10% de SFB. Após a confluência, o meio foi substituído por DMEM sem soro na presença ou ausência de LPS (0,01; 0,1; 1; 10 e 30 µg/mL) durante 24 h. Por fim, as células foram incubadas com MTT (A) ou vermelho neutro (B). Os valores do controle foram considerados 100% e estão representados pela linha. Foram realizados 5 experimentos em triplicata. * indica diferença significativa em relação ao controle para um $p < 0,05$.

CONCLUSÃO:

- Em astrócitos isolados, nós observamos uma estimulação direta na secreção de S100B pelo LPS nas concentrações de 10 e 30 µg/mL.
- O LPS foi capaz de induzir uma diminuição da secreção de S100B em 24 h de exposição. Esse efeito pode ser devido ao fato dos astrócitos estarem isolados de outros tipos celulares, tendo como o único efeito observado o do LPS sobre os astrócitos, sem a participação de outras células, que *in vivo* podem manter o aumento da secreção de S100B por mais tempo devido a secreção de citocinas inflamatórias.
- Após 24h de exposição ao LPS, nós observamos uma aumento no conteúdo de GFAP, indicando uma ativação astrogliar, visto que o LPS parece induzir a expressão de GFAP em cultura de astrócitos.
- Juntos, estes dados contribuem para o entendimento do efeito do LPS em astrócitos, particularmente na secreção de S100B, e nos ajuda a entender o papel desta proteína em doenças neuroinflamatórias e desordens cerebrais em geral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Van Eldik, L. J. and Wainwright, M. S. (2003) Restor Neurol Neurosci, 21, 97-108.
- [2] Donato, R. (2003) Microsc Res Tech, 60, 540-551.
- [3] Donato, R. et al. (2009) Biochim Biophys Acta, 1793, 1008-1022.
- [4] Frizzo, J. K. et al. (2004) Neurochem Res, 29, 735-740.
- [5] Glezer, I., Simard, A. R. and Rivest, S. (2007) Neuroscience, 147, 867-883.