

# TRATAMENTO *IN VITRO* ALTERA A FOSFORILAÇÃO DO CITOESQUELETO DE CÉLULAS NEURAIS DE RATOS: PARTICIPAÇÃO DO CÁLCIO E DE PROTEÍNAS QUINASES

Sabrina Lacerda, Paula Pierozan, Luana Heimfarth, Samanta Oliveira Loureiro, Elisandra Torres, Bárbara Ortiz, Fernanda Zamboni, Karina Pires Reis, Regina Pessoa Pureur

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

## INTRODUÇÃO

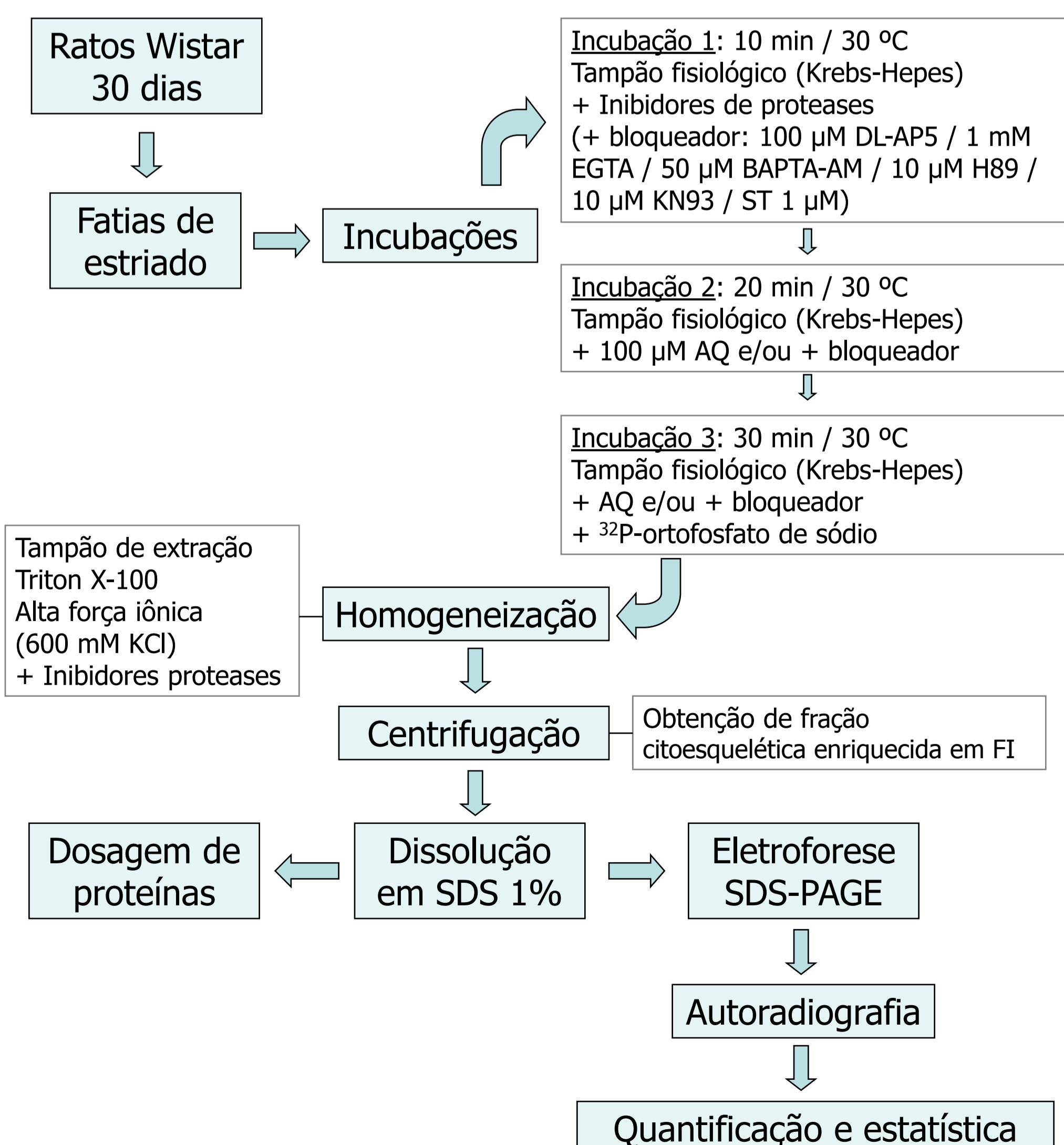
O ácido quinolínico (AQ) é produzido no metabolismo do triptofano e está envolvido na etiologia de várias doenças neurodegenerativas. Sua toxicidade é atribuída à ação agonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), estresse oxidativo, entre outras. Os receptores NMDA são canais que permitem a passagem de íons, principalmente cálcio ( $Ca^{2+}$ ), para o meio intracelular, sendo este cátion responsável pela ativação de diversas vias de sinalização, como de proteínas quinases.

Os filamentos intermediários (FIs) são importantes constituintes do citoesqueleto e a fosforilação de suas subunidades é o principal mecanismo regulatório de suas funções.

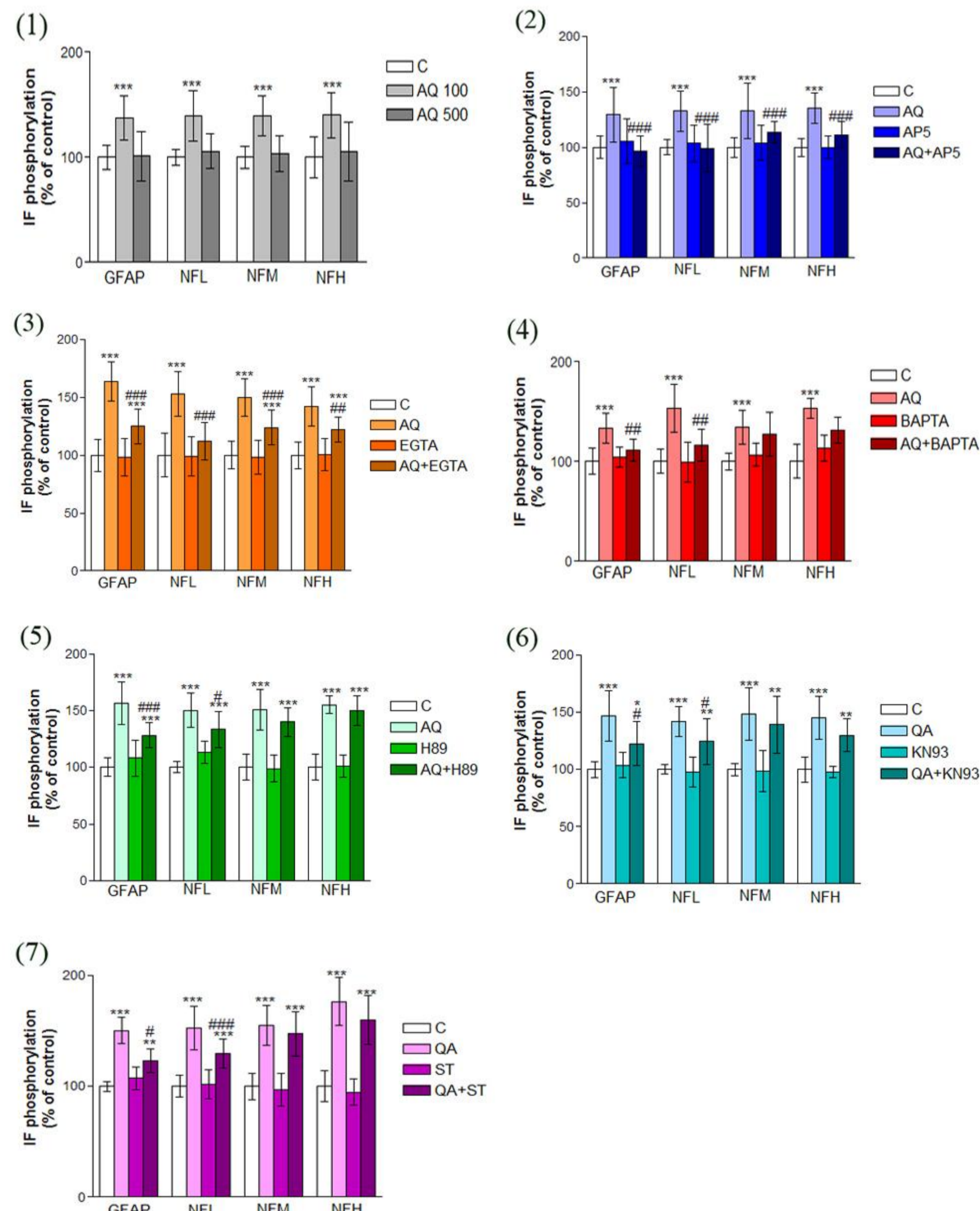
## OBJETIVOS

Já foi demonstrado que o AQ causa hiperfosforilação dos FI quando injetado diretamente no estriado. Portanto, o objetivo do estudo é investigar os efeitos *in vitro* do AQ sobre a fosforilação de FI de astrócitos e neurônios em estriado de ratos de 30 dias de idade, e verificar a participação do  $Ca^{2+}$  e de proteínas quinases dependentes de segundos mensageiros nestes efeitos.

## METODOLOGIA



## RESULTADOS



**Figura.** Efeito do tratamento *in vitro* com: (1) AQ 100 e 500  $\mu$ M; (2) DL-AP5 e AQ, concentrações de 100  $\mu$ M cada; (3) EGTA e AQ, concentrações de 1 mM e 100  $\mu$ M, respectivamente; (4) BAPTA-AM e AQ, concentrações de 50 e 100  $\mu$ M, respectivamente; (5) H89 e AQ, concentrações de 10 e 100  $\mu$ M, respectivamente; (6) KN93 e AQ, concentrações de 10 e 100  $\mu$ M, respectivamente e (7) ST e AQ, concentrações de 1 e 100  $\mu$ M, respectivamente, em corpo estriado de ratos de 30 dias de idade. Fatias de corpo estriado foram incubadas na presença ou ausência de AQ por 20 min e por 30 min com  $^{32}P$ -ortofosfato. A fração citoesquelética enriquecida em FIs, insolúvel em tampão de alta força iônica e contendo Triton X-100, foi extraída e a radioatividade incorporada nos FIs foi medida. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de 18 animais expressos como porcentagem do controle (considerando controle como 100%). Diferenças estatisticamente significativas comparadas com o controle, conforme determinado por ANOVA de 1 via seguido por teste de Tukey-Kramer estão indicadas: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Diferenças estatisticamente significativas comparadas com o AQ, também conforme determinado por ANOVA de 1 via seguido por teste de Tukey-Kramer estão indicadas: # $p < 0,05$ ; ### $p < 0,001$ .

## CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que o AQ causou hiperfosforilação de todos os FI estudados, sendo estes efeitos mediados por  $Ca^{2+}$  e pelas proteínas quinases estudadas. Os resultados preliminares obtidos mostram que o AQ foi capaz de ativar vias de sinalização que causam hiperfosforilação de subunidades de FI de neurônios e astrócitos. Como a hiperfosforilação destas proteínas está relacionada à neurodegeneração, estes resultados são promissores no sentido de aprofundar o estudo das vias de sinalização envolvidas nestes efeitos.

## APOIO FINANCEIRO

CNPq, CAPES, FAPERGS, PROPESq-UFRGS