

ANÁLISE INICIAL UTILIZANDO A METODOLOGIA DA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA EM CULTURA DE ASTRÓCITOS

JÉSSICA OBELAR¹; CAROLINE CRESPO DA COSTA²; ANDRÉ PERES KOTH³;
ALESSANDRA CORTES TEOTÔNIO⁴; GIOVANA DUZZO GAMARO⁵; IZABEL
CRISTINA CUSTÓDIO DE SOUZA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jessicaobelar@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolneuro@yahoo.com.br

³Universidade Federal do Rio Grande – andrekoth@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – alessandra.cortes@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – giovanaagamaro@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – belcustodio20@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A estimulação magnética cerebral vem sendo utilizada de longa data como coadjuvante para tratamento de várias patologias neurológicas e psiquiátricas e seu uso está sendo promissor, com a observação de muitos efeitos benéficos relacionados a estas patologias (BOECHAT-BARROS; BRASIL-NETO, 2004). A estimulação magnética transcraniana (EMT) é utilizada em diversos estudos e seus benefícios já são descritos na literatura. Embora existam muitas pesquisas sendo feitas nesta área ainda não se tem pleno conhecimento do mecanismo de ação a nível celular no sistema nervoso central (FREGNI; BOGGIO; BRUNONI, 2012). É necessário o conhecimento dos efeitos diretos dessa terapêutica sobre as células para melhor compreender seus mecanismos de atuação no metabolismo celular elucidando sua interferência principalmente em células saudáveis.

Os astrócitos são um tipo celular muito abundante no tecido cerebral existindo em torno de 1,4 astrócitos por neurônio no córtex humano (BASS, et al., 1971). Os astrócitos têm uma vasta gama de funções, entre elas fornecer suporte estrutural e metabólico para os neurônios (BARRETO, 2006) guiar a migração dos axônios em desenvolvimento, função na transmissão sináptica, papel importante na barreira hematoencefálica e na regulação do tônus cerebrovascular (GOMES; TORTELLI; DINIZ, 2013). Outra função importantíssima é seu papel na injúria cerebral, sob condições patológicas os astrócitos tornam-se reativos e aumentam a expressão de proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (SCHILDGE et al., 2013). Para MENET et al. (2001) a ausência dessa proteína em astrócitos pode causar modificações no citoesqueleto e GARCEZ, et al. (2004) corrobora essa afirmação e conclui que isso pode acabar “induzindo alterações bioquímicas em elementos da matriz extracelular e alterando propriedades da membrana plasmática”.

Dada a importância do astrócito no funcionamento do sistema nervoso o objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da estimulação magnética em cultura de astrócitos, através da observação morfológicas das células antes, durante e após o período de tratamento com dispositivo de estimulação magnética.

2. METODOLOGIA

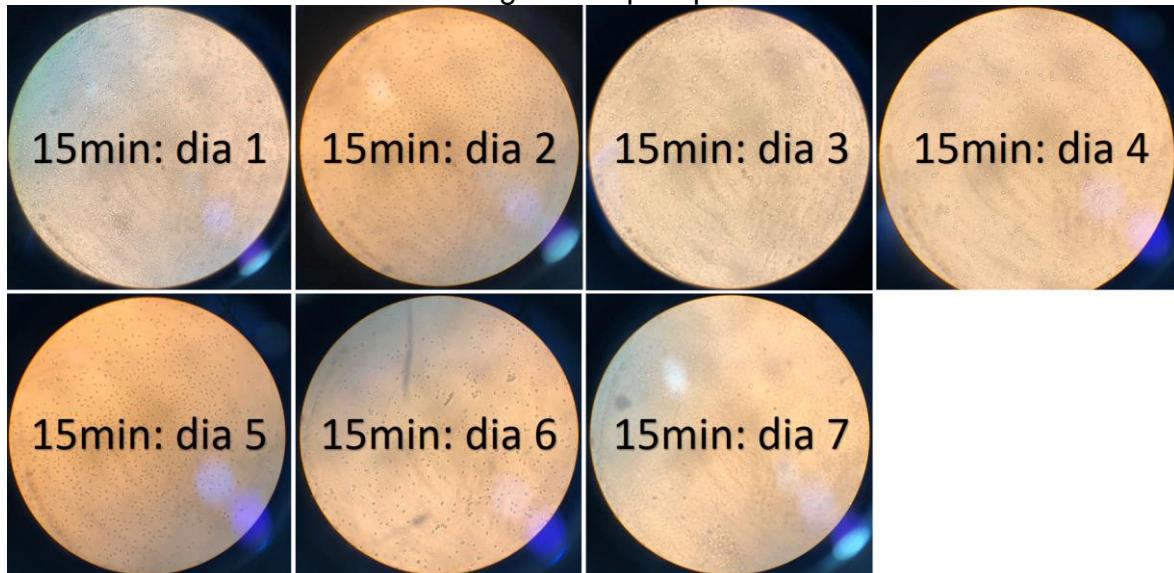
Foi realizada cultura primária de astrócitos de córtex de ratos Wistar com 1 dia de vida. As culturas foram mantidas por vinte dias, apenas realizando a observação das células e troca do meio. No fim deste período as células já estavam confluentes e era possível fazer a identificação morfológica dos astrócitos.

A partir do vigésimo primeiro dia foram iniciados os estímulos magnéticos. Para isto, foi utilizado um dispositivo de estimulação magnética projetado pela bioengenharia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cuja intensidade do estímulo foi de aproximadamente 300 mT. As células foram divididas em três grupos que receberam três tempos diferentes de estimulação diária, 5 min, 15 min e 30 min, durante 7 dias consecutivos. Durante todo o período de estimulação foram realizadas capturas de imagens diárias para posterior comparação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas as imagens obtidas das culturas durante todos os 7 dias de estimulação, sendo feita uma foto de cada tempo e o seu respectivo controle. Na análise morfológica não houveram diferenças identificáveis entre os tempos e os seus respectivos controles nem, tão pouco, diferença entre os tempos de estimulação entre si. O que se observou foi uma mudança morfológica celular relacionada ao desenvolvimento normal da cultura que ocorreu ao longo dos 7 dias em todos os tempos e em todos os controles (Figura 1).

Figura 1 - Imagens diárias capturadas por fotografia das culturas de células que receberam estímulos magnéticos por quinze durante sete dias.



4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que existe a necessidade de um melhor entendimento de como se dá os efeitos observados após estimulação magnética cerebral. As fotos demonstram a morfologia dos astrócitos que não modificou com a estimulação magnética. Como a avaliação morfológica é bastante subjetiva e não se pode quantificar, serão realizadas outras análises como viabilidade celular pelo ensaio MTT e Trypan Blue e imunocitoquímica para avaliar expressão do BDNF e GFAP. Sendo assim, é necessário a realização de mais experimentos utilizando as células alvo destas estimulações para, desta maneira, entendermos os mecanismos subjacentes a estes estímulos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETO, R. A. et al. O alcalóide monocrotalina, extraído de *Crotalaria retusa*, altera a expressão de GFAP, a morfologia e o crescimento de culturas primárias de astrócitos. **Rev. Bras. Saúde Produção Animal**, Salvador, v.7, n2, p. 112-127, 2006.

BASS, N. H. et al. Quantitative cytoarchitectonic distribution of neurons, glia, and DNA in rat cerebral cortex. **Journal of Comparative Neurology**, Boston, v. 143, n. 4, p. 481-490, 1971.

BOECHAT-BARROS, R.; BRASIL-NETO, J. P. Estimulação Magnética Transcraniana na depressão: resultados obtidos com duas aplicações semanais. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 26, n. 2, p. 100-102, 2004.

FREGNI, F.; BOGGIO, P. S.; BRUNONI, A. R. **Neuromodulação Terapêutica: Princípios e Avanços da Estimulação Cerebral Não Invasiva em Neurologia, Reabilitação, Psiquiatria e Neuropsicologia**. São Paulo: Sarvier, 2012.

GARCEZ, R. C. **Adesão, proliferação e migração de células de astrocitoma humano U-87 em fibronectina, laminina e colágeno IV e a expressão e organização de vimentina e GFAP**. 2004. Dissertação (Mestrado em Neurociências) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina.

GOMES, F. C. A.; TORTELLI, V. P.; DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos Avançados**, v. 27, n. 77, p. 61-84, 2013.

MENET, Véronique et al. Inactivation of the glial fibrillary acidic protein gene, but not that of vimentin, improves neuronal survival and neurite growth by modifying adhesion molecule expression. **Journal of Neuroscience**, Paris, v. 21, n. 16, p. 6147-6158, 2001.

SCHILDGE, S. et al. Isolation and Culture of Mouse Cortical Astrocytes. **Journal of Visualized Experiments**, n. 71, p. 1-7, 2013. Disponível em: <<http://www.jove.com/video/50079/isolation-and-culture-of-mouse-cortical-astrocytes>>.