

XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a

Mostra de Pós-Graduação da UFF

Diferenciação celular: O envolvimento dos glicosaminoglicanos e hemoblastos na neuroregeneração de ascídias

Taynan Motta Portal, Adriana Vidal Gonçalves de Oliveira, Cintia Monteiro de Barros

A neuroregeneração é um processo muito limitado em humanos. Em contrapartida, as ascídias, invertebrados marinhos, também pertencentes ao filo Chordata, possuem alta capacidade regenerativa do Sistema Nervoso Central(SNC). Esses animais possuem um grupo de células sanguíneas, denominadas de hemoblastos, que são células tronco hematopoiéticas, e possuem a capacidade de se diferenciar frente a estímulos, podendo ter um papel fundamental na neuroregeneração, após lesão química com 3-acetilpiridina(3-AP). Alguns carboidratos também foram vistos por participarem do processo de neuroregeneração, estimulando ou inibindo o mesmo, conforme padrão de sulfatação: os glicosaminoglicanos(GAGs), como Dermatan e Condroitim sulfato (DS,CS). Sendo assim, objetiva-se avaliar os mecanismos celulares de diferenciação envolvidos na neuroregeneração das ascídias e a participação dos GAGs no mesmo. Os experimentos foram realizados *in vivo*, utilizando 65mg/kg de 3-AP para causar a degeneração do SNC do animal, e, após 1, 5 e 10 dias, os mesmos foram dissecados e processados para HPLC, a fim de identificar o padrão de sulfatação de DS/CS envolvidos. Para avaliar os mecanismos celulares de diferenciação, foi estabelecida uma cultura de células sanguíneas totais, para obter uma população de hemoblastos *in vitro*, e, depois, estas células foram tratadas com meio condicionado neural (MCN) retirado de cultura de explantes do SNC de ascídias ou com meio neural controle (MN – sem contato com explantes), e após 1, 3 e 5 dias, foram feitos ensaios de imunofluorescência para β -III-tubulina(TUJ, marcador de neurônios) e PIWI(marcador de hemoblastos). Também foram realizados testes de viabilidade celular para as culturas expostas a 3-AP. Por HPLC, os picos referentes a GAGs 2,6 sulfatados foram maiores em relação a outros tipos de sulfatação durante a neuroregeneração *in vivo*. Na análise da diferenciação celular *in vitro*, no quinto dia de incubação com o MCN, as células sanguíneas passaram a apresentar aumento da marcação para PIWI e TUJ em relação ao MN, sendo um indicativo da diferenciação de hemoblastos em neurônios. Foi observado que não houve morte celular na cultura de células sanguíneas expostas a 3-AP, mas houve na cultura de neurônios, e a partir disso, a dose de 200 μ M de 3-AP foi selecionada. Por imunofluorescência da cultura de células sanguíneas com 3-AP+MCN, notou-se diminuição da marcação de TUJ em relação ao MCN no quinto dia. Com isso, conclui-se que a diferenciação celular(neurogênese) pode ser um mecanismo chave durante o processo de neuroregeneração da ascídia *Styela plicata* e os GAGs podem participar deste processo, o que será avaliado *in vitro* futuramente.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: PGBB

Eixo temático: Pôster – Biologia Celular

Fomento da bolsa (quando aplicável): CAPES

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a
Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a
Mostra de Pós-Graduação da UFF

Cell differentiation: The involvement of glycosaminoglycans and hemoblasts in ascidian neuroregeneration

Taynan Motta Portal, Adriana Vidal Gonçalves de Oliveira, Cintia Monteiro de Barros

Neuroregeneration is a very limited process in humans. In contrast, ascidians, marine invertebrates, also belonging to the phylum Chordata, have a high regenerative capacity of the Central Nervous System (CNS). These animals have a group of blood cells, called hemoblasts, which are hematopoietic stem cells, and have the ability to differentiate according to stimuli, and may play a key role in neuroregeneration after chemical injury with 3-acetylpyridine (3-AP). Some carbohydrates were also seen to participate in the neuroregeneration process, stimulating or inhibiting it, according to the sulphation pattern: glycosaminoglycans (GAGs), such as Dermatan and Chondroitin sulfate (DS,CS). Thus, the objective is to evaluate the cellular mechanisms of differentiation involved in the neuroregeneration of ascidians and the participation of GAGs in it. The experiments were performed *in vivo*, using 65mg/kg of 3-AP to cause the degeneration of the animal's CNS, and, after 1, 5 and 10 days, they were dissected and processed for HPLC, in order to identify the pattern of DS/CS sulfation involved. To assess the cellular mechanisms of differentiation, a culture of whole blood cells was established to obtain an *in vitro* hemoblast population, and then these cells were treated with neural conditioned medium (MCN) taken from cultured ascidian CNS explants or with control neural medium (MN – no contact with explants), and after 1, 3 and 5 days, immunofluorescence assays for β -III-tubulin (TUJ, marker of neurons) and PIWI (marker of hemoblasts) were performed. Cell viability tests were also performed for cultures exposed to 3-AP. By HPLC, the peaks referring to 2,6 sulfated GAGs were higher in relation to other types of sulfated during *in vivo* neuroregeneration. In the analysis of cell differentiation *in vitro*, on the fifth day of incubation with MCN, blood cells began to show increased staining for PIWI and TUJ in relation to MN, indicating the differentiation of hemoblasts into neurons. It was observed that there was no cell death in the culture of blood cells exposed to 3-AP, but there was in the culture of neurons, and from this, the dose of 200 μ M of 3-AP was selected. By immunofluorescence of cultured blood cells with 3-AP+MCN, a decrease in TUJ labeling was observed in relation to MCN on the fifth day. With this, it is concluded that cell differentiation (neurogenesis) can be a key mechanism during the process of neuroregeneration of the ascidian *Styela plicata* and the GAGs can participate in this process, which will be evaluated *in vitro* in the future.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

