

Dissertação apresentada à Universidade da Beira Interior para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, realizada sob a orientação científica da Doutora Graça Maria Fernandes Baltazar, Professora Auxiliar na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior.

“A ciência será sempre uma busca e jamais uma descoberta.

É uma viagem, nunca uma chegada.” (Karl Popper)

Índice

Lista de abreviatura 1

Resumo 3

Abstract 5

Capítulo 7

1. Introdução 8

1.1 Doença de Parkinson 8

1.2 Modelo Experimental da Doença de Parkinson 10

1.3 Astrócitos 11

1.3.1 Função dos Astrócitos na Doença de Parkinson e no modelo da 6OHDA 13

1.3.2 Factores Libertados pelos Astrócitos 15

1.4 Células Estaminais 16

1.4.1 Células Estaminais Mesênquimais 17

1.5 Linha Celular N27 18

1.6 Objectivos 19

Capítulo II 20

2. Materiais e métodos 21

2.1 Cultura de Neurónios da *Substantia Nigra* 21

2.2 Culturas de Células Gliais do Mesencéfalo Ventral 22

2.3 Linha Celular N27 23

2.4 Meio Condicionado de Astrócitos 24

2.5 Meio Condicionado de Astrócitos Sem Soro Fraccionado 25

2.6 Meio Condicionado de Células Perivasculares do Cordão Umbilical Humano 25

2.7 Tratamento das Culturas de Neurónios da *Substantia Nigra* 26

2.8	Tratamento das Culturas da Linha Celular N27	26
2.9	Western Blot	27
2.10	Imunocitoquímica	28
2.11	Método da Redução do MTT	29
2.12	Método da LDH	29
2.13	Análise de Dados e Estatística	29

Capítulo III 30

3. Resultados 31

3.1 Determinação do efeito da 6OHDA em células N27. 31

3.2 Avaliação da capacidade neuroprotectora dos meios condicionados de astrócitos (MCA), na linha celular N27. 32

3.3 Avaliação do efeito neuroprotector do meio condicionado de astrócitos (MCA), relativamente ao efeito da ausência de soro na linha celular N27. 34

3.4 Identificação da fracção molecular do meio condicionado por astrócitos com acção neuroprotectora na linha celular N27. 35

3.5 Avaliação do efeito dos meios condicionados por astrócitos (MCA) na reversão da lesão causada por 6OHDA, em culturas primárias do mesencéfalo ventral. 37

3.6 Efeito do meio condicionado células estaminais perivasculares do cordão umbilical humano (HUCPVC's) na acção da remoção do soro em células N27. 41

Capítulo IV 43

4. Discussão 44

Capítulo V 50

5. Conclusões 51

Capítulo VI 52

6. Referências Bibliográficas 53

Agradecimentos

Ao fim deste ano de trabalho, chegou o momento de agradecer a algumas pessoas que foram muito importantes para mim e que nunca vou esquecer.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Doutora Graça Baltazar, por tudo o que me ensinou, por nunca me ter deixado desistir, mesmo quando as coisas não estavam a correr tão bem como eu gostaria, por sempre se ter demonstrado disponível para ajudar. O meu muito obrigado.

Outra das pessoas mais importantes foi a Ana Clara...sempre disponível para ajudar, sempre amiga e sempre presente quando necessário. Obrigado Ana por tudo o que me ensinas-te e ajudas-te ao longo de todo este ano.

Não podia deixar de referir a Filipa Campos, que foi quem me deu a mão no início de tudo, que me tentou sempre ajudar e que tanto me ensinou...

Quero também agradecer:

À Sandra pela companheira de luta, pela amiga, pela confidente e pela excelente colega de trabalho que demonstrou ser nestes dois últimos anos.

À Francisca e Joana gostava de agradecer a amizade, especialmente agora, nesta parte final de tanto *stress*, por sempre se terem mostrado disponíveis e companheiras. Obrigado por tudo.

Não podia deixar de referir a Ana Martinho e Irina Veloso, companheiras de laboratório, que nas alturas em que estava mais em baixo me fizeram sorrir com as suas maneiras de ser. Obrigado às duas e em especial à Ana M. por me ter ajudado.

Aos meus pais, avós e irmão João, por me terem sempre incentivado a não desistir, por todo o apoio que me deram ao longo de toda a minha vida. Obrigado por estarem aí, para tudo o que fosse necessário.

E agora por último, quero agradecer à pessoa que para mim é a mais especial do mundo, o meu namorado Rui. Obrigado por sempre me teres apoiado, por sempre me teres dado a mão quando estava mais em baixo, por sempre estares ao meu lado, por toda a tua compreensão, paciência e amor que tens demonstrado ao longo destes últimos sete anos...obrigado.