

EFEITO DO PEPTÍDEO BETA-AMILOIDE E DO TRATAMENTO COM GANGLIOSÍDIO GM1 SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS AMILOIDOGÊNICAS (APP E BACE1) NOS RAFTS LIPÍDICOS

Marina Zaneti Michelsen e Profa. Vera Maria Treis Trindade

(Dep. Bioquímica - ICBS - UFRGS)

marina.michelsen@ufrgs.br



INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais prevalente de demência, afetando a memória e as demais funções cognitivas. Sua patogenia envolve a produção de um peptídeo beta-amiloide (A β) pela clivagem da proteína precursora amiloide (APP) por β -secretases (BACE1) e γ -secretases (amiloidogênese) [1].

O A β , uma vez liberado ao meio extracelular, passa por processo de fibrilação, depositando-se na forma de placas senis, e apresenta, além de seu efeito neurotóxico, a propriedade de estimular a própria amiloidogênese [1].

Desta forma, a modulação da cascata amiloide representa um importante alvo para regulação da evolução da DA, e envolve mecanismos complexos, dentre os quais a compartimentalização das enzimas amiloidogênicas nos *rafts* lipídicos, microdomínios de membrana enriquecidos em colesterol e glicoesfingolipídios [2].

Trabalho prévio do grupo demonstrou que o abeta afeta a integridade dos microdomínios de membrana e que o tratamento com GM1 previne tais alterações. Desta forma, é possível que alterações na arquitetura e composição dos *rafts*, induzidas pelo Abeta, possam mediar o aumento na amiloidogênese descrito pela literatura [3, 4].

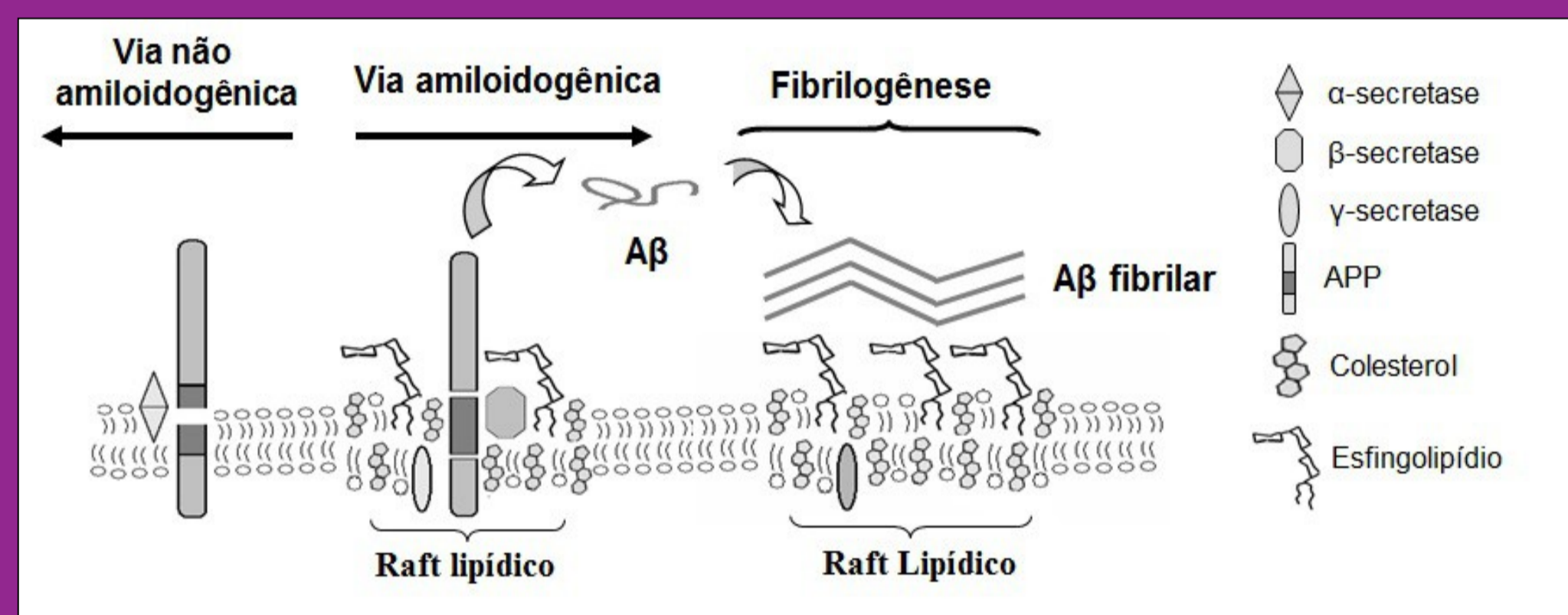
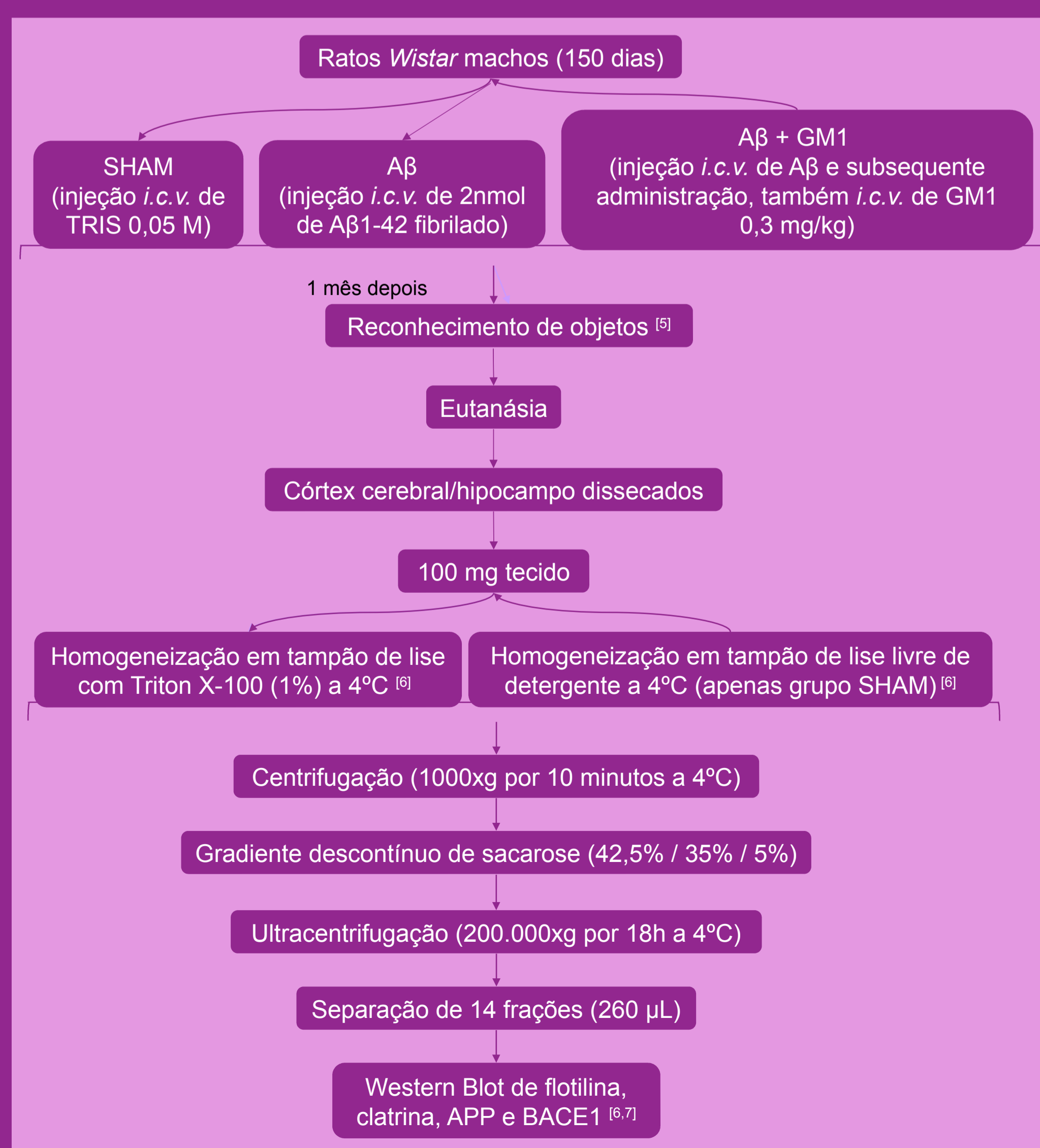


Figura 1. Representação da amiloidogênese e compartimentalização das proteínas amiloidogênica e do processo de fibrilogênese nos *rafts* lipídicos.

OBJETIVOS

1. Verificar a distribuição de APP e BACE1 nos *rafts*, comparando os métodos de extração de *rafts* com e sem a utilização de detergente.
2. Avaliar o efeito da administração de A β 1-42 e do tratamento com GM1 sobre a distribuição das proteínas amiloidogênicas (APP e BACE1) nos microdomínios de membrana.

METODOLOGIA



RESULTADOS

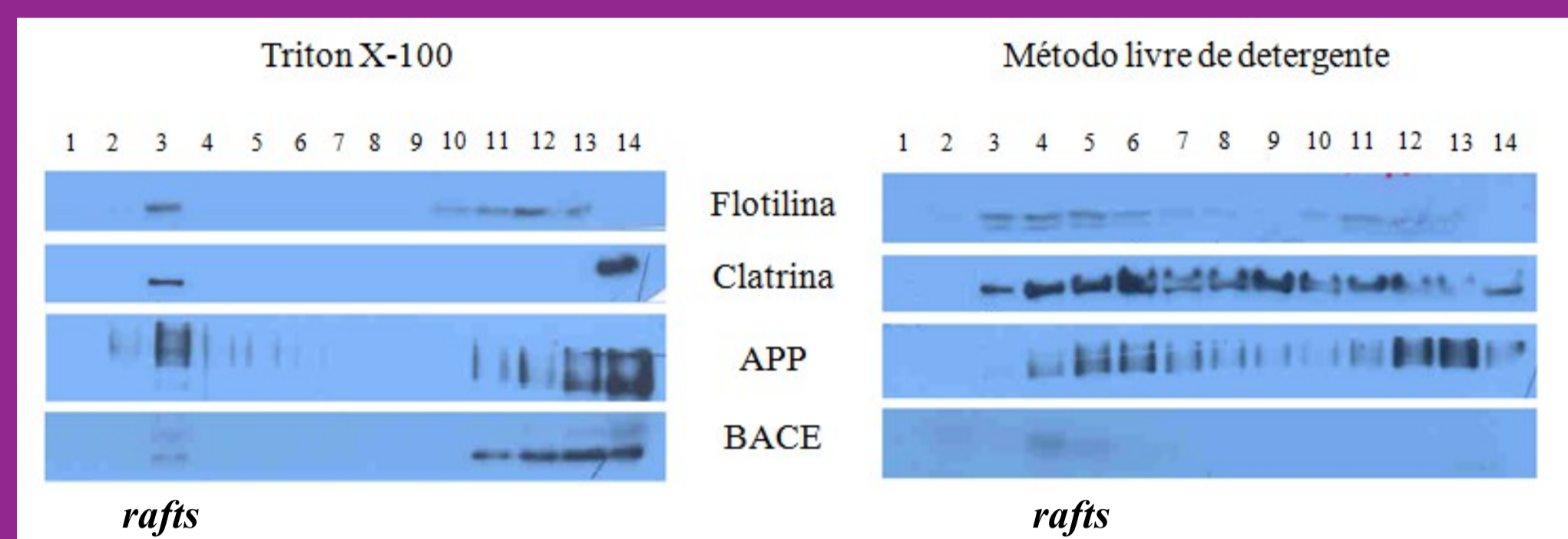


Figura 2. Western-blot das diferentes frações obtidas do grupo SHAM pelos métodos com Triton X-100 e livre de detergente, respectivamente. O emprego de detergente permitiu uma melhor purificação dos *rafts*, observado pela maior distribuição da proteína flotilina (marcadora de domínio *raft*) nas primeiras frações do gradiente; e uma maior concentração de clatrina (proteína majoritariamente presente no domínio não-*raft*) nas últimas frações do gradiente. Ambas as técnicas permitiram a observação de uma fração de APP e de BACE1 nas frações correspondentes aos *rafts*.

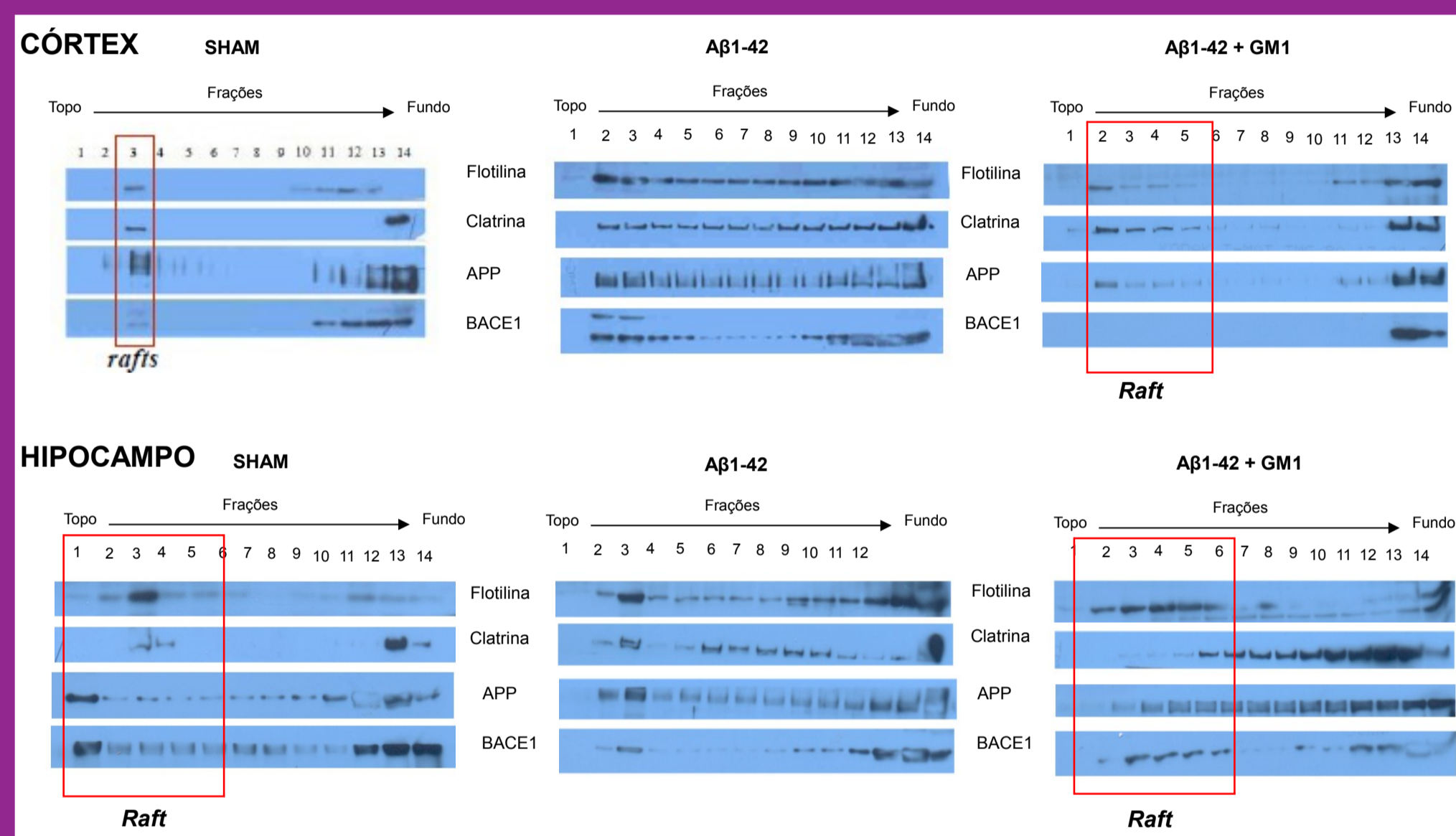


Figura 3. Efeito da administração de A β 1-42 e do tratamento com GM1 sobre a associação da APP e da BACE-1 nos *Rafts*. A figura mostra que o desmonte dos microdomínios induzido pelo A β é parcial. Este efeito do A β levou a uma alteração na distribuição das proteínas amiloidogênicas (em especial a BACE1) nos microdomínios de membrana de forma mais evidente no córtex cerebral, onde o pool de BACE1 sofreu maior distribuição para os *rafts* quando comparado com o grupo SHAM. O tratamento com GM1 preveniu este efeito do peptídeo β -amiloide.

CONCLUSÕES

Nossos resultados mostram que a localização de APP e BACE1 nos *rafts* foi verificada em ambas as técnicas, o que elimina a hipótese de que isto pudesse ser um artefato da utilização de detergentes. Os nossos dados indicam que, embora a injeção *i.c.v.* de A β 1-42 promova um desmonte parcial dos microdomínios de membrana, o peptídeo promoveu um aumento na distribuição das proteínas amiloidogênicas (em especial BACE1) nos *rafts* que ainda permaneceram íntegros, efeito este que foi mais evidente em córtex cerebral. Por sua vez, o tratamento com GM1 preveniu o efeito do A β de desestruturar os *rafts* e favoreceu a localização das proteínas amiloidogênicas no domínio não-*raft* das membranas.

Considerando que o ambiente lipídico dos *rafts* favorece a atividade da BACE1, e que a amiloidogênese seria dependente da colocalização de APP e BACE1 nestes microdomínios de membrana, os presentes resultados representam um importante indício de que a estimulação da cascata amiloide por parte do A β envolveria alterações na composição e organização das membranas neurais e que o GM1, ao alterar a distribuição das proteínas amiloidogênicas nos distintos microdomínios lipídicos, poderia ter um papel na evolução da DA.

REFERÊNCIAS

1. Suh, Y.; Checler, F. *Pharmacol. Rev.* 54: 469-525, 2002.
2. Zinser, E.G et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1768: 1991-2001, 2007.
3. Michelsen, M. Z. *SIC –UFRGS*, 2013.
4. Sonnino, S. *Mol Neurobiol.* 50: 130-148, 2014.
5. Kreutz, F. et al. *Neurochem Int.* 59(5):648-55, 2011.
6. Persaud, Sawin, D.A. et al. *Lipid Res.* 50: 759-767, 2008.
7. Peterson G.L. *Anal Biochem.* 183(2):346-356, 1977.

AGRADECIMENTOS

Ao doutorando Fernando Kreutz, à bolsista PNPd Florencia Barbé, à Profa. Christianne Salbego e às entidades: PIBIC-CNPq/UFRGS, CNPq.