



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Efeito do Peptídeo Beta-Amiloide e do Tratamento com Gangliosídeo GM1 sobre a Distribuição das Proteínas Amiloidogênicas (APP e BACE1) nos Rafts Lipídicos
Autor	MARINA ZANETI MICHELSEN
Orientador	VERA MARIA TREIS TRINDADE

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 - e γ -secretases (amiloidogênese). 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. Desta forma, a modulação da cascata amilóide 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 glicosfingolipídios.

Considerando trabalho prévio do grupo que demonstrou que o A β altera a integridade dos *rafts* e que a ação neuroprotetora do gangliosídeo GM1 seria mediada pela preservação da estrutura destes microdomínios, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da administração *i.c.v.* de A β 1-42 fibrilado sobre a distribuição de APP e de BACE1 (β -secretase) nos diferentes domínios de membrana, bem como, o efeito da administração de GM1 sobre este parâmetro.

Para isso, ratos *Wistar* machos (150 dias) foram submetidos à cirurgia estereotáxica e divididos em três grupos: SHAM (injeção *i.c.v.* de TRIS 0,05 M); A β (injeção *i.c.v.* de 2 nmol de A β 1-42 fibrilado); e A β +GM1 (injeção de A β e subsequente administração, também *i.c.v.*, de GM1 0,3 mg/kg). O efeito do A β sobre a cognição, bem como, o efeito neuroprotetor do GM1 foram confirmados com o teste de reconhecimento de objetos, um mês após a cirurgia. A extração e purificação dos *rafts* foram realizadas em córtex e em hipocampo, a partir de 100 mg de tecido, utilizando técnica de homogeneização em tampão de lise com detergente Triton X-100 (1%), a 4°C. Para excluir a hipótese de que a localização de APP ou BACE1 (Beta-secretase 1) nos *rafts* fosse artefato da utilização de detergentes, amostras do grupo SHAM foram, também, homogeneizadas sem detergente. Os homogeneizados foram, então, submetidos a um gradiente descontínuo de sacarose, sob centrifugação refrigerada a 200.000xg por 18h. Quatorze frações foram coletadas a partir do topo do gradiente. A fim de identificar as frações *rafts*, determinou-se a distribuição, por *western blot*, das proteínas flotilina-1 (marcadora de *raft*) e clatrina (marcadora de domínio não-*raft*), entre as diferentes frações. As proteínas APP e BACE1 foram identificadas igualmente por *western blot*.

Como resultado observamos 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 amilóide 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. PIBIC- CNPq/UFRGS, PROBIC- FAPERGS/UFRGS, CNPQ