



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Avaliação da atividade neuroprotetora do GM1 frente à toxicidade do peptídeo β -amilóide em células de neuroblastoma humano SH-SY5Y
Autor	ANA LUIZA RODRIGUES FRAGOSO
Orientador	VERA MARIA TREIS TRINDADE

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa que afeta a memória e as demais funções cognitivas de forma irreversível, sendo considerada a principal forma de demência, com mais de 15 milhões de casos no mundo. Uma das causas da DA se dá pela clivagem da proteína precursora amilóide, glicoproteína presente nas membranas neurais, por β - e γ -secretases, com a consequente liberação do peptídeo β -amilóide (A β). O A β , uma vez liberado ao meio extracelular, pode permanecer solúvel ou agregar-se, formando as denominadas placas senis, responsáveis por grande parte dos danos neurológicos característicos da doença.

Dentre os modelos *in vitro* para o estudo da DA cita-se a utilização de células da linhagem SH-SY5Y, células de neuroblastoma humano, expostas à ação neurotóxica do A β pela administração exógena do mesmo.

O presente trabalho testou a atividade neuroprotetora do gangliosídeo GM1, glicoesfingolipídio componente das membranas neurais, no modelo *in vitro* supracitado. Os objetivos do estudo foram: a) avaliar se a atividade neuroprotetora do GM1 frente à toxicidade do peptídeo A β , observada em trabalho anterior do grupo com modelo animal, seria reproduzível em células desta linhagem neural e b) determinar um possível mecanismo para esta neuroproteção.

Para isso, células SH-SY5Y foram semeadas em placas de 96 poços, na densidade de 3×10^4 células por poço, e então incubadas com diferentes concentrações de A β na forma fibrilada. A toxicidade do peptídeo foi avaliada 48h após a incubação, através da análise da incorporação de iodeto de propídio (PI) – marcador de necrose – e pela coloração de Höscht – identificação de células apoptóticas. Uma vez determinada a concentração de A β capaz de induzir morte celular, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de GM1 sobre a toxicidade induzida pelo peptídeo.

Como resultado, observamos que o A β desencadeou morte celular já na concentração de $0,5 \mu\text{M}$, e que a incubação conjunta com o gangliosídeo GM1 (nas concentrações de 10, 20 ou $30 \mu\text{M}$) foi capaz de prevenir a toxicidade causada pelo peptídeo.

Considerando dados da literatura que sugerem a interação entre o A β e o GM1 das membranas neurais como um evento inicial para o desencadeamento da neurotoxicidade, avaliamos se o GM1 exogenamente administrado poderia interagir com o peptídeo e assim reduzir a toxicidade deste, por dificultar sua interação com as membranas neurais.

Para testar esta hipótese, o A β fibrilado ($0,5 \mu\text{M}$) foi incubado *in vitro* com o GM1 ($10 \mu\text{M}$) por uma hora a 37°C . Após centrifugação, descartou-se o sobrenadante (solução de GM1) e ressuspendeu-se o sedimento (A β fibrilado com eventuais moléculas de GM1 associadas). Este procedimento foi repetido mais uma vez e o sedimento obtido no final do processo foi, finalmente, suspenso e testado quanto à presença de GM1 (*dotblot* utilizando toxina colérica) e quanto a sua toxicidade nas culturas de neuroblastoma. Como resultado, observamos a imunorevelação de GM1 no sedimento de A β , o que sugere que tenha ocorrido interação e co-sedimentação do gangliosídeo e do peptídeo. A capacidade do A β previamente incubado com GM1 de induzir necrose e apoptose nas culturas de neuroblastoma foi significativamente menor do que a da induzida pelo A β .

Em vista dos resultados obtidos, concluímos que o gangliosídeo GM1 promove neuroproteção frente ao dano desencadeado pelo A β e que esta neuroproteção pode ser, em parte explicada, pela possibilidade do GM1 exógeno interagir e neutralizar ou sequestrar o A β , impedindo sua interação com as membranas neurais e todos os eventos neuroquímicos decorrentes da mesma.