

# DÉFICIT COGNITIVO INDUZIDO PELO PEPTÍDEO BETA-AMILOIDE E AÇÃO NEUROPROTETORA DO GANGLIOSÍDIO GM1 EM RATOS ENVOLVEM MODULAÇÃO NA COMPOSIÇÃO E NA INTEGRIDADE DOS MICRODOMÍNIOS DE MEMBRANA

Marina Zaneti Michelsen, Fernando Kreutz, Fernanda dos Santos Petry, Bruna Estefanelo Rosa, Fabiana Santana, Camila Lino Pereira e Vera Maria Treis Trindade.  
( Dep. Bioquímica - ICBS - UFRGS)  
marina.michelsen@ufrgs.br

## INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa que afeta, de forma irreversível, a memória e as demais funções cognitivas. Sua patogênese envolve a produção de um peptídeo beta-amilóide (A $\beta$ ) e sua posterior agregação em fibrilas [1]. Trabalho recente do grupo demonstrou que a administração de GM1, um gangliosídeo componente das membranas neurais, é capaz de minimizar os efeitos neurotóxicos do A $\beta$ , prevenindo o déficit de memória desencadeado pela administração *i.c.v* do peptídeo em ratos *Wistar* machos [2]. Os mecanismos envolvidos na toxicidade do A $\beta$  e na neuroproteção do GM1 precisam ser, contudo, melhor elucidados.

Trabalho prévio do grupo e dados da literatura demonstram que o peptídeo afeta a composição lipídica das membranas neurais [3, 4], o que poderia alterar a estrutura, a organização e funcionalidade dos *rafts* lipídicos.

*Rafts* são microdomínios de membrana enriquecidos em colesterol e em esfingolípídios. Bioquimicamente caracterizados por sua insolubilidade em detergentes não-iônicos (TritonX100), os *rafts* podem ser extraídos e purificados através de gradiente de sacarose, utilizando-se como marcadores das frações *rafts* os seguintes parâmetros: presença da proteína flotilina (marcadora de *raft*), ausência ou menor conteúdo de clatrina (domínio fosfolipídico), e alto conteúdo de colesterol.

Por representarem plataformas lipídicas responsáveis pela compartimentalização de eventos celulares ao nível de membrana, e regulação da atividade de enzimas membranares, a organização e dinâmica dos *rafts* afetam as mais diversas vias sinalizatórias e funções neurais, a incluir memória e neuroplasticidade. A desorganização ou desmonte dos microdomínios, pode, portanto, ter participação nos danos neurais observados em diversas patologias, a incluir a DA. [5, 6].

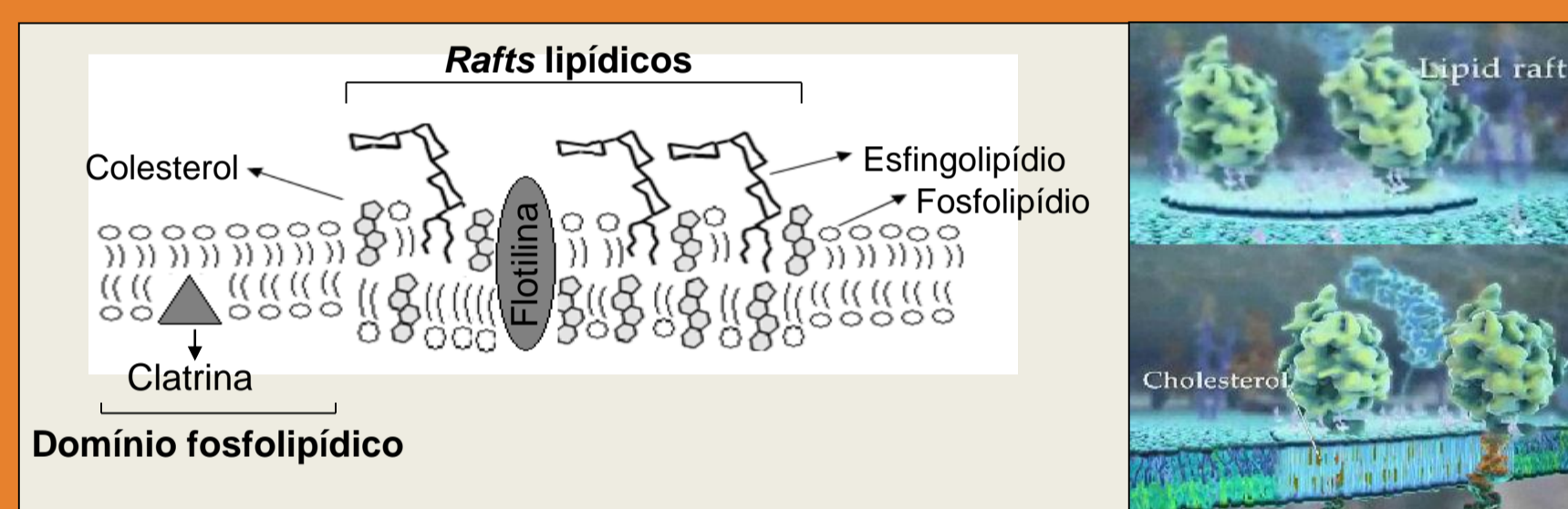
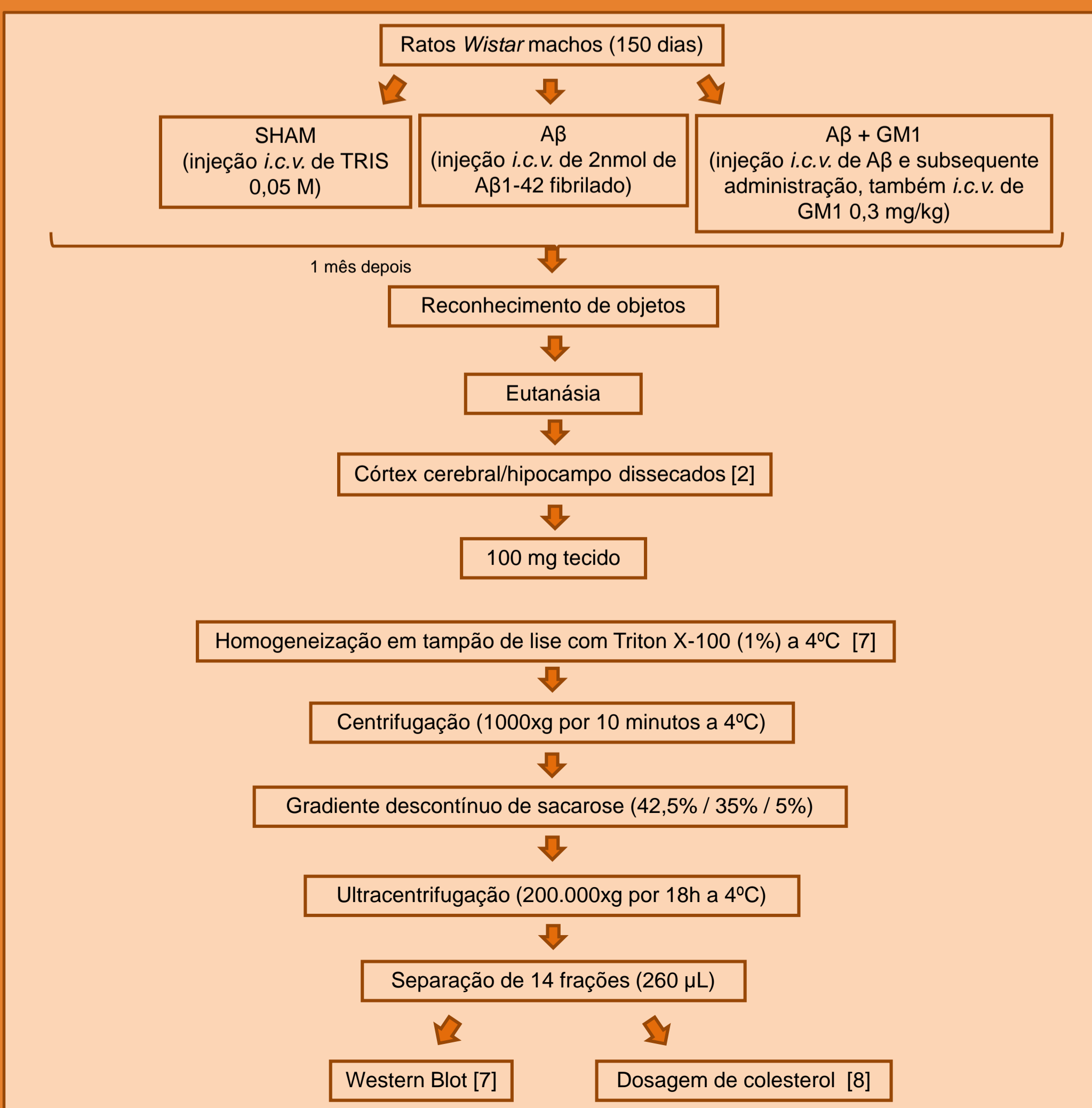


Figura 1. Microdomínios e organização das membranas biológicas

## OBJETIVOS

- 1) Avaliar o efeito da injeção (*i.c.v*) de A $\beta$ 1-42 fibrilado sobre a integridade dos *rafts* lipídicos;
- 2) Avaliar o efeito da administração sequencial de A $\beta$  e de GM1 sobre a integridade dos *rafts* lipídicos, a fim de propor a análise da composição e integridade dos microdomínios de membrana como parâmetro bioquímico no estudo de doenças neurodegenerativas e de drogas neuroprotetoras.

## METODOLOGIA



## RESULTADOS

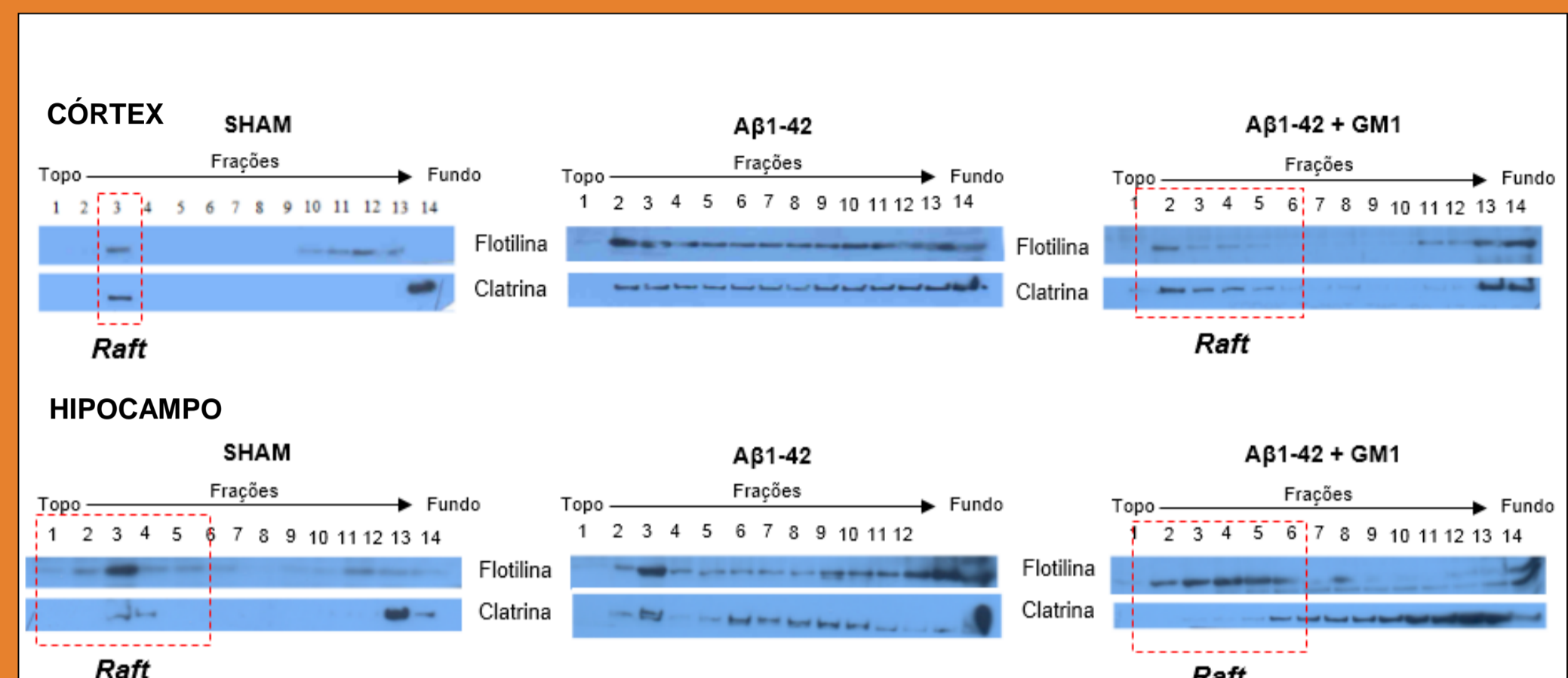


Figura 2. Western-blot das diferentes frações obtidas de córtex e hipocampo para os três grupos, o grupo controle (SHAM), o grupo A $\beta$  e o grupo A $\beta$  + GM1. A injeção *i.c.v* de A $\beta$ 1-42 promoveu, tanto no córtex quanto no hipocampo, alterações no padrão de distribuição das proteínas flotilina (marcadora de domínio *raft*) e clatrina (majoritariamente presente no domínio não-*raft*), sugerindo um desmonte parcial dos microdomínios de membrana. Por sua vez, a administração de GM1, imediatamente após a injeção do peptídeo, foi capaz de preservar a estrutura dos *rafts*, uma vez que preveniu os efeitos do A $\beta$  sobre a distribuição proteica das frações avaliadas.



Figura 3. Dosagem de colesterol das diferentes frações obtidas de córtex e hipocampo. A injeção *i.c.v* de A $\beta$ 1-42 promoveu, tanto no córtex quanto no hipocampo, alterações na distribuição de colesterol entre as diferentes frações, sugerindo um desmonte parcial dos microdomínios de membrana. No entanto, a administração de GM1, imediatamente após a injeção do peptídeo, foi capaz de preservar a estrutura dos *rafts*, uma vez que preveniu os efeitos do A $\beta$  sobre a distribuição lipídica das frações avaliadas.

## CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstram que a injeção *i.c.v* do peptídeo A $\beta$ 1-42 causa desmonte parcial dos microdomínios de membrana, efeito este que é prevenido pela administração (*i.c.v*) de GM1. Considerando o importante papel dos *rafts* enquanto plataformas sinalizatórias, podemos sugerir que as alterações neurais e o déficit cognitivo desencadeados pelo A $\beta$ 1-42 [2], bem como a neuroproteção induzida pelo GM1 [2], envolvem alteração da estrutura e/ou composição dos microdomínios de membrana. Mais estudos são necessários, no entanto, para identificar quais proteínas teriam sua distribuição nos *rafts* alterada pelo A $\beta$ , e que consequências este evento traria para sua atividade e funcionalidade.

## REFERÊNCIAS

1. Suh, Y.; Checler, F. *Pharmacol. Rev.* 54: 469-525, 2002.
2. Neumann, L. F.; Kreutz, F.; Petry, F.D.; Rosa, B.E.; Scherer, E.B.; Ferreira, A.G.; Pereira, C.L.; Santana, F.; Wyse, A.T.; Salbego, C.G.; Trindade, V.M.T. *SIC-UFRGS*, 2013.
3. Kreutz, F.; Frozza, R.L.; Breier, A.C.; de Oliveira, V.A.; Horn, A.P.; Pettenuzzo, L.F.; Netto, C.A.; Salbego, C.G.; Trindade, V.M.T. *Neurochem Int.* 59(5):648-55, 2011.
4. Zinser, E.G.; Hartmann, T.; Grimm, M.O.W. *Biochim. Biophys. Acta* 1768: 1991-2001, 2007.
5. Simons, K.; Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* 387: 569-572, 1997.
6. Brown, D.A.; London, E. *J. Biol. Chem.* 275: 17221-17224, 2000.
7. Persaud, Sawin, D.A.; Lightcap, S.; Harry, G.J. *J. Lipid Res.* 50: 759-767, 2008.
8. Zhou, M.; Diwu, Z.; Panchuck-Voloshina, N.; Haugland, R.P. *Anal. Biochem.* 253: 162-168, 1997. kit Amplex Cholesterol Assay.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC- CNPq/UFRGS, CNPq, FAPERGS.