



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Déficit cognitivo induzido pelo peptídeo beta-amilóide e ação neuroprotetora do gangliosídeo GM1 em ratos envolvem modulação na composição e na integridade dos microdomínios de membrana
<b>Autor</b>	MARINA ZANETI MICHELSEN
<b>Orientador</b>	VERA MARIA TREIS TRINDADE

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. 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. 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, o que poderia alterar a estrutura, a organização e funcionalidade dos *rafts* lipídicos, microdomínios de membrana enriquecidos em colesterol e esfingolipídios. Os *rafts* representam plataformas lipídicas responsáveis pela compartimentalização de eventos celulares ao nível de membrana, regulação da atividade de enzimas membranares, e como consequência, sua organização e dinâmica afetam as mais diversas vias sinalizatórias e funções neuronais, a incluir memória e neuroplasticidade. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da injeção (*i.c.v*) de A $\beta$ 1-42 fibrilado sobre a integridade dos *rafts* lipídicos, bem como o efeito da administração sequencial de A $\beta$  e de GM1 sobre os mesmos, 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. Para isso, ratos *Wistar* machos (150 dias) foram submetidos a cirurgia estereotáxica e divididos em três grupos: SHAM (injeção *i.c.v* de TRIS 0,05M); A $\beta$  (injeção *i.c.v* de 2nmol de A $\beta$  1-42 fibrilado); e A $\beta$  +GM1 (injeção de A $\beta$  e subsequente administração, também *i.c.v*, de GM1 0,3mg/kg). O efeito do A $\beta$  sobre a cognição, bem como o efeito neuroprotetor do GM1, foram confirmados com 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 100mg de tecido. Os tecidos foram homogeneizados em tampão de lise com Triton X-100 (1%), a temperatura de 4°C. Os homogeneizados foram 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* e avaliar sua integridade, 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, bem como o seu conteúdo de colesterol (por fluorimetria). Como resultado, observamos que 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 e clatrina, bem como da distribuição de colesterol entre as diferentes frações, 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 preveniu os efeitos do A $\beta$  sobre a distribuição protéica e lipídica das frações avaliadas. Considerando que a atividade de diversas proteínas de membrana é dependente da integridade dos *rafts*, a incluir receptores para neurotransmissores ou fatores neurotróficos, e enzimas envolvidas em cascatas de sinais ou mesmo na via amiloidogênica, nossos resultados sugerem que os efeitos do peptídeo beta-amilóide sobre a função cognitiva, bem como a neuroproteção promovida pelo GM1, possam ser mediados por modulações na estrutura, composição e organização dos microdomínios lipídicos de membrana. Mais estudos são necessários, no entanto, para identificar especificamente quais proteínas teriam sua distribuição nos microdomínios alterada pelo A $\beta$ , e que consequências este evento traria para sua atividade e funcionalidade. (PIBIC/CNPq-UFRGS, PROBIC/FAPERGS-UFRGS, CNPq).