



O papel da proteína astrocítica S100B na agregação do peptídeo β -amiloide

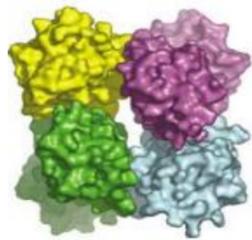
Bárbara Carolina Federhen, Carlos Alberto Saraiva Gonçalves, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Introdução

A doença de Alzheimer é a demência mais prevalente na população em envelhecimento, tendo como principal manifestação clínica o declínio progressivo das funções cognitivas dos indivíduos acometidos. No sistema nervoso central, os principais marcadores são os emaranhados neurofibrilares, as placas senis (compostas por agregados fibrilares de β -amilóide) e a astrogliose (Leclerc, 2010).

A S100B, por sua vez, é uma proteína produzida principalmente por astrócitos que exerce efeitos parácrinos e autócrinos em neurônios e células gliais (Donato, 2013). Essa proteína possui um importante papel na etiologia da doença de Alzheimer, sendo encontrada em níveis elevados no cérebro durante a doença juntamente com o seu receptor RAGE (Leclerc, 2010).

A muito vem sendo atribuído que os efeitos da S100B são dependentes da sua concentração, sendo concentrações na ordem de nM consideradas tóxicas e concentrações na ordem de μ M consideradas tóxicas (Donato, 2013). Há evidência na literatura científica que demonstra a capacidade da proteína formar formas multimeras que, por sua vez, se ligam com maior afinidade com o receptor RAGE, resultando em uma maior intensidade na resposta inflamatória (Ostendorp, 2007).



S100B tetramérica.
(Ostendorp, 2007)

Recentemente, já foi demonstrado que a S100B possui capacidade de se ligar ao peptídeo β -amiloide e essa ligação se dá com a intenção de evitar a β agregação (Cristovão, 2018). Além disso, também já se estuda a capacidade das proteínas da família S100 β agregarem, formando fibrilas (Carvalho, 2013).

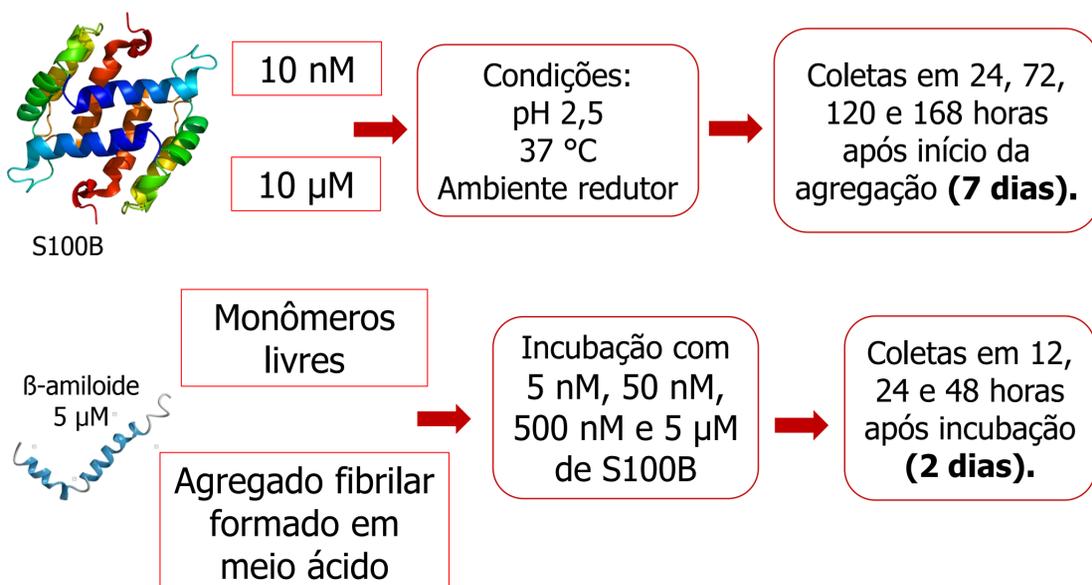
A hipótese levantada neste trabalho é de que a S100B, em altas concentrações, inibe a formação de agregados fibrilares de β amiloide, favorecendo o

acúmulo de formas oligoméricas do peptídeo, que são tóxicas. Além disso, imagina-se que altas concentrações da proteína favorecem a formação de agregados proteicos ou então formas multiméricas, contribuindo para a superativação do receptor RAGE e a neuroinflamação.

Objetivo

- Avaliar a formação de β agregados fibrilares da proteína S100B em concentrações nanomolares e micromolares;
- Avaliar a formação de aglomerados fibrilares na ausência e presença de diferentes concentrações de S100B (5 nM, 50 nM, 500 nM e 5 μ M).

Metodologia



Nas amostras coletas, avaliou-se:

- Formação de fibrilas através da fluorescência emitida pela tioflavina;
- Detecção de S100B através de ELISA;
- Morfologia dos agregados formados por MET.

Resultados

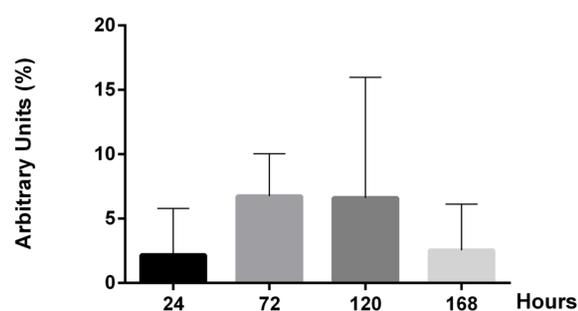


Fig. 1 – Agregação da S100B - 10 nM. Análise da agregação proteica ao longo do tempo (horas) pelo método de tioflavina. Letras indicam diferença estatística pela ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste Tuckey, assumindo $p < 0.05$.

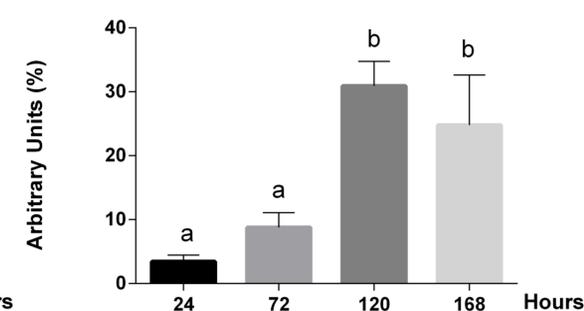


Fig. 2 – Agregação da S100B - 10 μ M. Análise da agregação proteica ao longo do tempo (horas) pelo método de tioflavina. Letras indicam diferença estatística pela ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste Tuckey, assumindo $p < 0.05$.

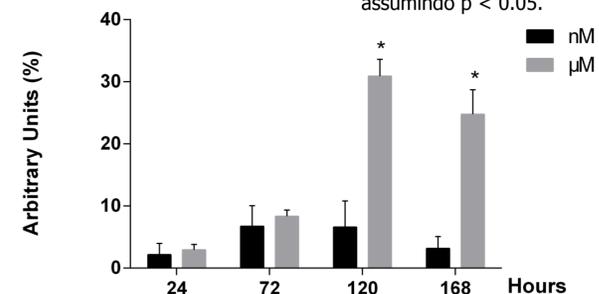


Fig. 3 – Comparação da agregação da S100B nM e μ M. Análise da agregação proteica ao longo do tempo (horas) pelo método de tioflavina. * indicam diferença estatística pela ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste Tuckey, assumindo $p < 0.05$.

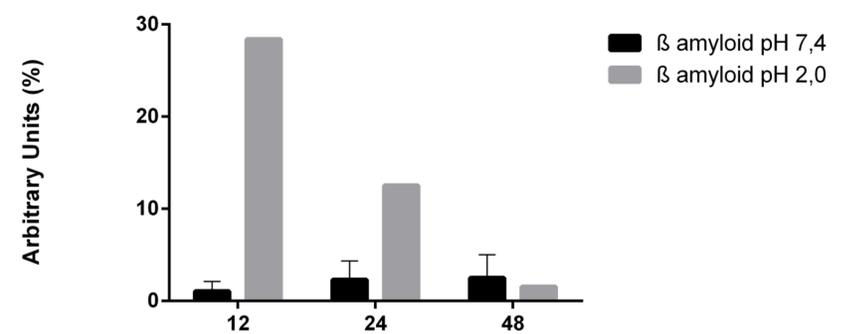


Fig. 4 – Formação de agregados fibrilares de β amiloide em diferentes pH. Análise da agregação proteica ao longo do tempo (horas) pelo método de tioflavina. Dado necessita de n experimental maior para a realização da estatística.

Discussão

A formação de agregados fibrilares da proteína S100B se dá, quando a mesma, se encontra em concentrações na ordem de μ M e é um processo lento. Esse comportamento da proteína pode estar relacionado com o efeito "tóxico" encontrado em concentrações elevadas. Entretanto, ainda é necessário estudo a respeito das vias que são ativadas nestas condições e se de fato essa propriedade contribui para a fisiopatologia da doença de Alzheimer.

Ainda, em meio tamponado (pH 7,4) não é possível observar a formação de agregados fibrilares de β amiloide, pois para a formação dos mesmos é necessária uma incubação em meio ácido (Cohen, 2013). Ainda assim, isso não significa que a S100B não interaja com os monômeros β amiloides. Para avaliar essa possível interação entre a proteína S100B e o peptídeo β amiloide será feito um estudo da morfologia dos mesmos (formação ou não de oligômeros) através de microscopia eletrônica de transmissão. Além disso, pretende-se dosar a S100B por ELISA, pois acreditamos que a interação entre ambos acarreta em uma mudança conformacional da proteína S100B, podendo prejudicar na sua detecção pela técnica.