



O envolvimento do dermatam sulfato na neuroregeneração e neuroproteção da ascídia *Styela plicata*

Taynan Motta Portal, Bruno da Costa Rodrigues, Rodrigo Nunes da Fonseca, Cintia Monteiro de Barros

A neuroregeneração pode ser caracterizada pela produção de novos neurônios funcionais após um dano. Entretanto, essa capacidade no sistema nervoso central (SNC) de mamíferos é muito limitada. Nesse contexto, as ascídias, invertebrados marinhos cordados, apresentam alta capacidade neuroregenerativa, e algumas moléculas têm sido estudadas por nosso grupo. Dentre elas, destaca-se o glicosaminoglicano (GAG) de dermatam sulfato (DS), que em algumas espécies de ascídias possuem um padrão específico de sulfatação, o 2,6 sulfatado (DS-2,6S). Na biossíntese desse GAG há o envolvimento de algumas enzimas, como a epimerase de DS (DSE) e a 6-sulfotransferase (CST6). Em vertebrados, essas moléculas podem modular a neuritogênese, favorecendo o reparo tecidual, conforme o padrão de sulfatação, porém, os mecanismos pelos quais elas atuam para promover a neuroregeneração ainda não foram descritos. Sendo assim, objetiva-se estudar o papel dessa molécula no SNC da ascídia *Styela plicata* durante o processo neuroregenerativo. Os experimentos foram realizados *in vivo*, utilizando 65mg/kg da neurotoxina 3-acetilpiridina para causar a degeneração do SNC do animal, e, após 1, 5 e 10 dias, os mesmos foram dissecados e processados para RT-qPCR e imunofluorescência, a fim de avaliar a expressão de RNAm das enzimas envolvidas na biossíntese do DS e o seu produto final, e os aspectos de neuroregeneração, utilizando anticorpo anti- β -III-tubulina (TUJ- marcação de microtúbulo neuronais), anti-sinaptofisina (marcação de sinapses) e anti-DS (avaliação do GAG), durante a neuroregeneração. Também foram realizadas análises *in vitro*, utilizando culturas primárias de neurônios de ascídia, que foram expostas ao DS extraído da ascídia *Phallusia nigra* para avaliar a capacidade neuroprotetora, através de ensaio de MTT, após exposição da neurotoxina. Por PCR, houve aumento da expressão, em 1 dia, de CST que sulfatam DS no carbono 6 e da epimerase de DS. Por imunofluorescência, após 1 dia da exposição à neurotoxina, observou-se aumento de DS-2,6S no córtex dos animais, vacuolizações no córtex e redução das marcações para TUJ e sinaptofisina em relação aos controles. Em 10 dias, todos os parâmetros se assemelharam ao controle. Para os ensaios *in vitro*, o DS de *P. nigra* foi extraído da respectiva ascídia e purificado, bem como a cultura de neurônios da ascídia *S. plicata*, que apresentou marcação para TUJ, e um efeito neuroprotetor do GAG frente a neurotoxina. Com isso, conclui-se que o DS-6S pode estar relacionado com o processo de neuroregeneração e neuroproteção da ascídia *Styela plicata*, abrindo portas para novas pesquisas sobre como este GAG pode atuar neste contexto.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF - PGBB
Fomento da bolsa (quando aplicável): CAPES