

Introdução

Neuroinflamação e neurogênese anormal são processos inerentes à patogênese da **Doença de Alzheimer (DA)** e, conseqüentemente, sinais que promovem esses processos podem atuar como desencadeadores deletérios iniciais. Além disso, estudos indicaram que as proteínas envolvidas em doenças neurodegenerativas como APP e PS, muitas vezes desempenham papéis críticos no desenvolvimento precoce do sistema nervoso central (1). No entanto, não se sabe se as alterações na inflamação começam nos estádios embrionários dos portadores de mutação associados à DA familiar.

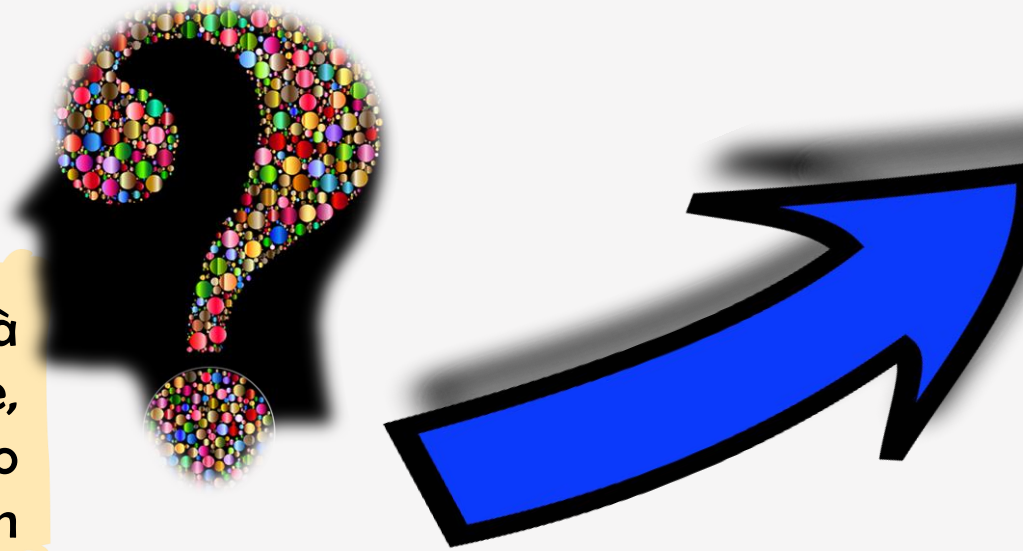
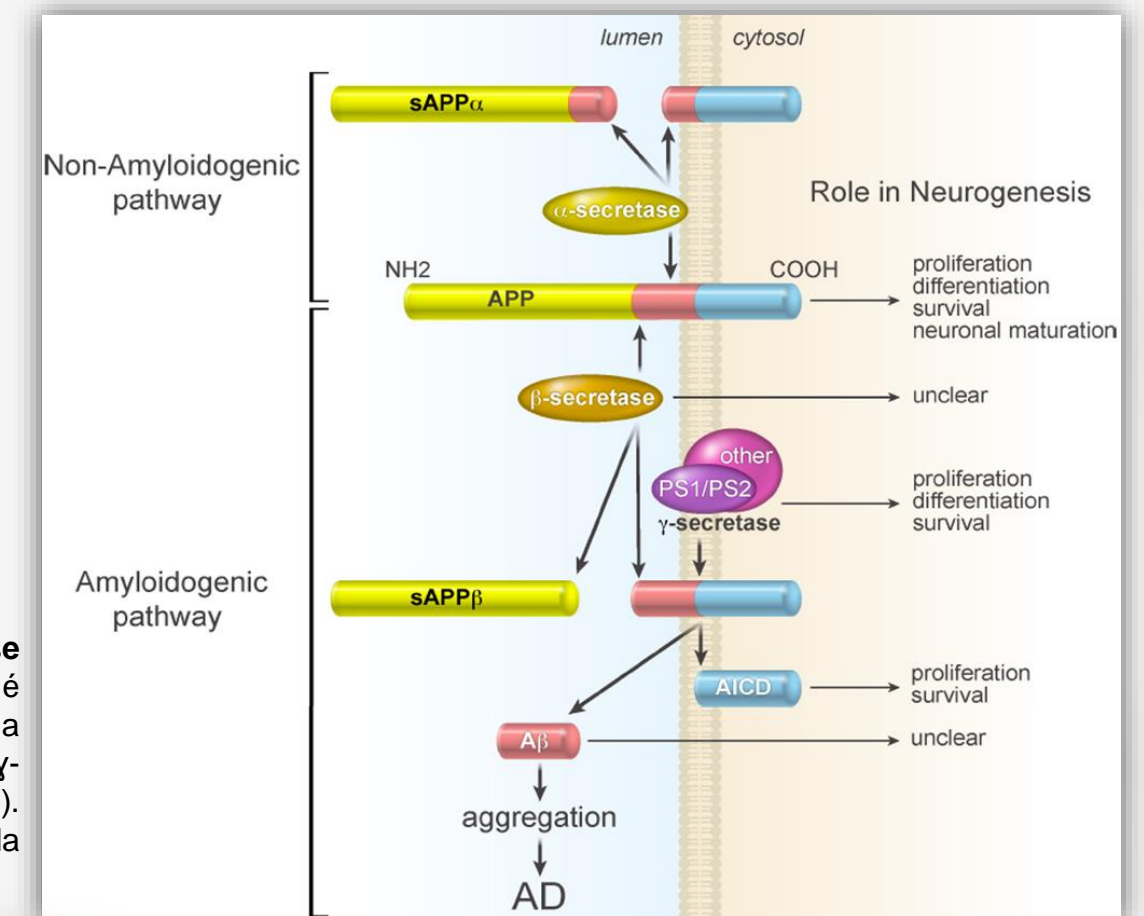


Fig. 1: Base molecular da DA e interação com a neurogênese no hipocampo do adulto. Na via não amiloidogênica, APP é processada pela α-secretase gerando sAPPα. Na via amiloidogênica, a APP é sequencialmente clivada pela β- e γ-secretases para liberar o peptídeo neurotóxico amiloide-β (Aβ). Funções sugeridas de moléculas sinalizadoras relevantes da neurogênese no hipocampo do adulto estão resumidas.

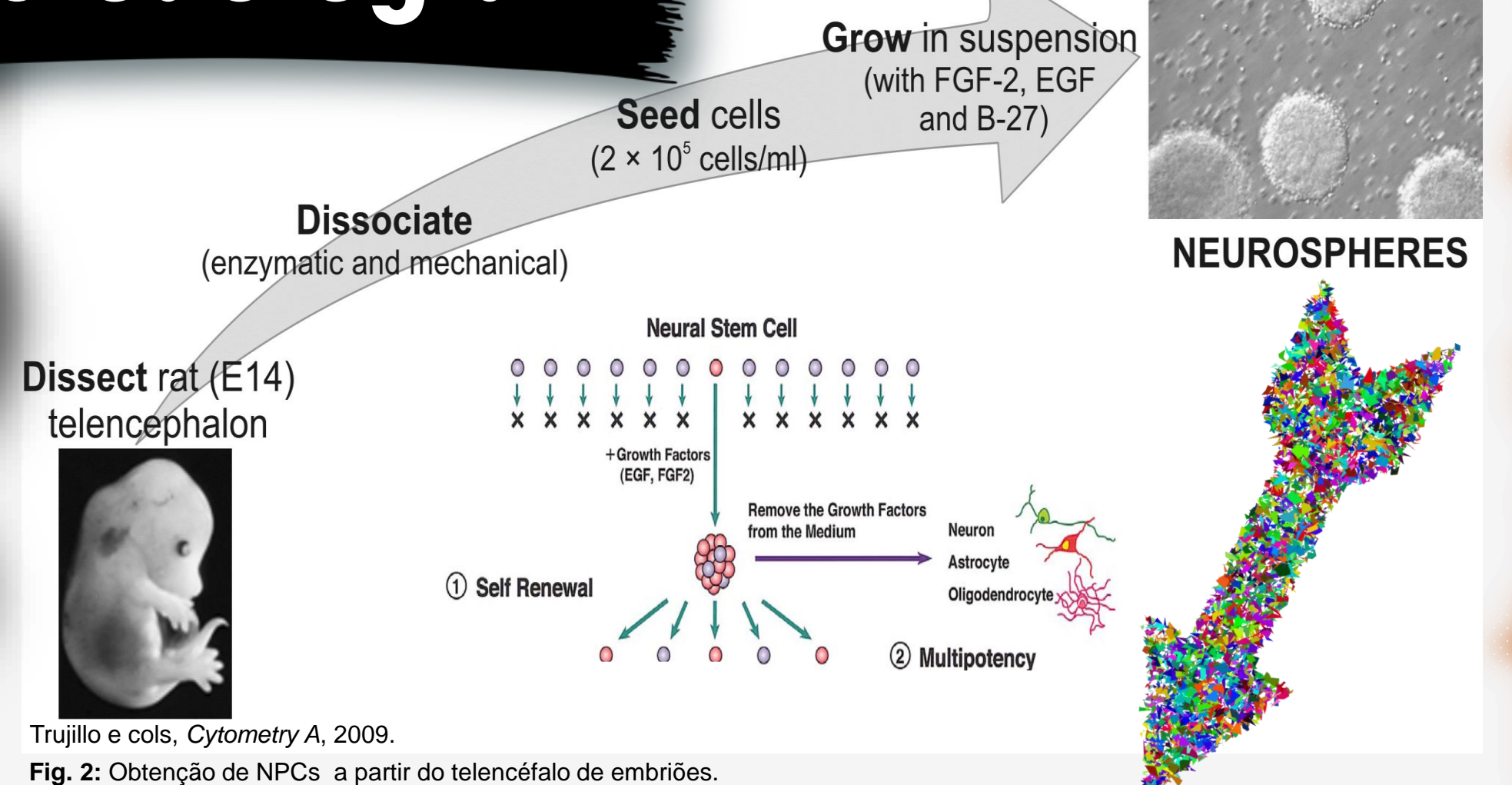


OBJETIVO: investigar estas questões utilizando camundongos duplos transgênicos como modelo de DA familiar (APP^{swE}/PS1^{dE9}).



Células progenitoras neurais (NPCs) foram obtidas a partir do telencéfalo de embriões (E13) selvagens (WT) e APP^{swE}/PS1^{dE9}. Essas células proliferam como agregados chamados neuroesferas na presença de EGF e FGF-2, mantendo a capacidade de se diferenciar em neurônios e células gliais. Usando a tecnologia de microarrays, foram estudados os perfis de expressão gênica do genoma nas células diferenciadas *in vitro*, obtidas de telencéfalo de embriões WT e APP^{swE}/PS1^{dE9}.

Metodologia



Trujillo e cols, *Cytometry A*, 2009.
Fig. 2: Obtenção de NPCs a partir do telencéfalo de embriões.

Resultados

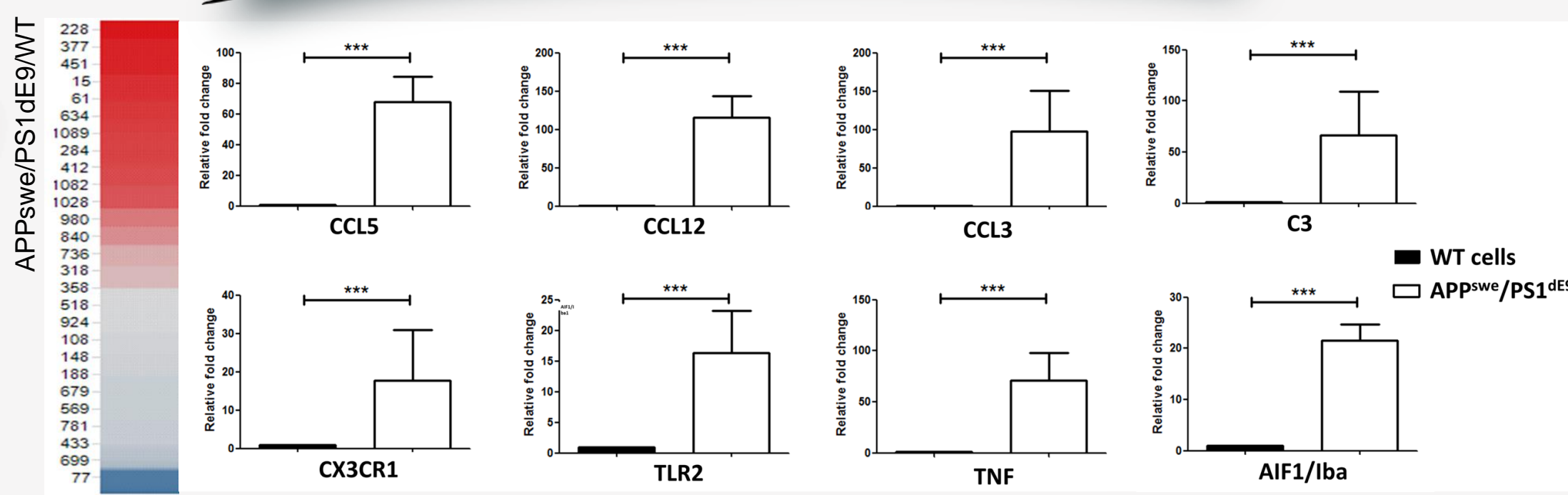


Fig. 3: Transcritos relacionados à resposta imune em células progenitoras neurais embrionárias (NPCs) obtidas de camundongos selvagens (WT) e APP^{swE}/PS1^{dE9}, um modelo da Doença de Alzheimer. Microarray e RT-qPCR da expressão do mRNA de oito genes de inflamação diferencialmente expressados nas células APP^{swE}/PS1^{dE9}. Os valores são representados como vezes de aumento das células APP^{swE}/PS1^{dE9} versus células WT (t-test pareado, duas vias; ***p < 0.05). Estes experimentos foram realizados usando quatro replicatas. GAPDH foi usado para normalizar os níveis de expressão.

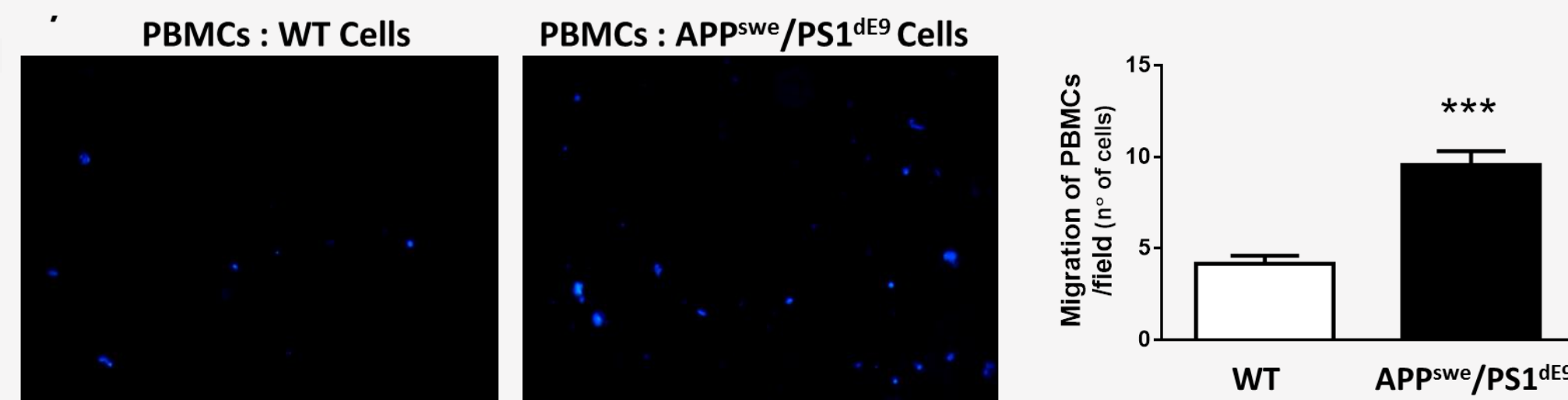


Fig. 4: Quimioatração de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) pelo secretoma de NPCs embrionárias diferenciadas obtidas a partir de um modelo de camundongo para a Doença de Alzheimer (APP^{swE}/PS1^{dE9}) ou de WT. O secretoma das células APP^{swE}/PS1^{dE9} aumentou a quimioatração de de PBMCs em comparação com o secretoma de células WT por meio do ensaio de migração transwell. Os núcleos marcados com DAPI foram utilizados para a contagem de células. n=4 animais em cada grupo, os experimentos foram realizados em triplicata (teste t de Student; *** p < 0.001).

- ✓ Foi observada a ocorrência de uma forte resposta imune com ativação microglial em células diferenciadas obtidas de embriões APP^{swE} / PS1^{dE9}.
- ✓ Curiosamente, as células obtidas dos embriões APP^{swE} / PS1^{dE9} expressaram aproximadamente 100 vezes mais **CCL12**, **CCL5 (RANTES)**, **CCL3**, **C3**, **CX3CR1**, **TLR2**, **Iba** e **TNF** do que as células obtidas a partir de embriões WT.
- ✓ Além disso, o secretoma da neurosfera diferenciada APP^{swE} / PS1^{dE9} induziu quimioatração significativa de células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) em comparação com o secretoma de células WT, evidenciada pelo ensaio de migração transwell.

Conclusão

Assim, os resultados sugeriram que as proteínas APP^{swE} e PS1^{dE9} mutantes, envolvidas na DA familiar neurodegenerativa, desempenham papéis críticos no desenvolvimento precoce do sistema nervoso central, provocando inflamação e ativação microglial.