

Neurodegeneración en un modelo animal de demencia frontotemporal asociada a TDP-43

Pablo R. Silva, Lionel Muller Igaz

IFIBIO Bernardo Houssay, Grupo de Neurociencia de Sistemas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires - CONICET, Buenos Aires, Argentina

Introducción

Una característica común a muchas enfermedades neurodegenerativas es la acumulación patológica de agregados proteicos. Para el caso específico de las patologías como la demencia frontotemporal (DFT) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), dos enfermedades actualmente sin cura conocida, evidencias indican que TDP-43 tendría un rol clave en la etiología de estas enfermedades. TDP-43 es una proteína predominantemente nuclear de unión a ADN/ARN, algunas de sus funciones incluyen la regulación de la transcripción, traducción, estabilidad y transporte de ARNm. En el presente trabajo utilizamos un modelo murino transgénico basado en la sobreexpresión condicional (suprimible en presencia de doxiciclina) de TDP-43-WT humana bajo el control del promotor CaMKII α , enriqueciendo la sobreexpresión en regiones específicas del SNC como lo son el hipocampo, el estriado y corteza cerebral, pero no a nivel de la medula espinal y cerebelo. El modelo presenta un fenotipo con las características asociadas a proteinopatías de TDP-43, incluyendo la formación de inclusiones de TDP-43, pérdida neuronal selectiva, gliosis y disminución de niveles de TDP-43 endógeno y también a nivel conductual (alteraciones motoras).

Objetivos

Analizar : a) Si se puede modular la neurodegeneración en nuestros animales bigénicos TDP-43-WT, al suprimir la sobreexpresión del transgén. b) la morfología nuclear de las neuronas presentes las distintas capas de la corteza somatosensorial (CSS), luego de 1 mes de sobreexpresión y luego del protocolo de supresión del transgén.

1-La supresión de la expresión hTDP-43-WT previene la disminución del ancho total en las regiones CA1 y GD del hipocampo.

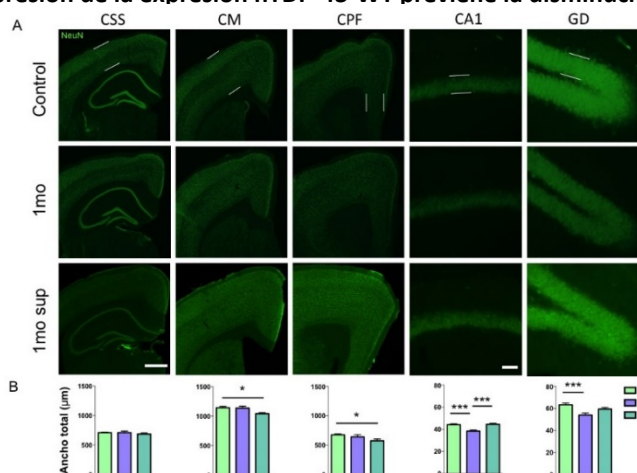


Figura 1. Medición del ancho total regional utilizando NeuN como marcador neuronal. (A) Inmunofluorescencia para NeuN (verde) en ratones control no transgénicos (fila superior), ratones tTA / WT bigénicos (1mo) (fila central) y animales suprimidos [ratones 1mo (sup)]. Se analizó el ancho entre las barras blancas en cada región. (B) Análisis cuantitativo del ancho de células NeuN+. Las secciones se analizaron y cuantificaron utilizando el software ImageJ (NIH). Los datos representan la media $\pm$ EEM, (* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$) ANOVA de una vía, seguido de prueba Tukey post hoc de comparaciones múltiples. $n = 9-17$, (excepto para CPF $n = 5-12$) animales por grupo. Barra de escala: 500 μ m, CSS: corteza somatosensorial, CM: corteza motora, CPF: corteza prefrontal; 50 μ m, áreas hipocámpicas CA1 y GD (giro dentado).

2-Análisis de la morfología nuclear y cuantificación de neuronas en las capas II, III, IV y V de la corteza somatosensorial (CSS) en animales que sobreexpresan hTDP-43-WT y luego del protocolo de supresión.

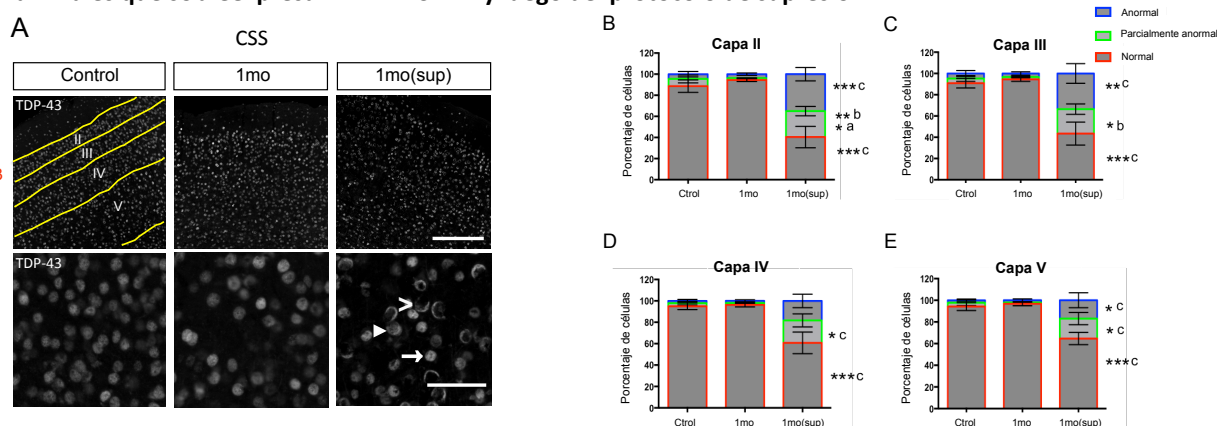


Figura 2. Cuantificación de las distintas morfologías celulares en la corteza somatosensorial. A. Inmunofluorescencia para TDP-43 total. Se muestran imágenes representativas a baja magnificación (fila superior) de animales controles, de bigénicos TDP-43 con 1 mes de sobreexpresión del transgén (1mo) y luego de suprimir la sobreexpresión (1mo(sup)). En la fila inferior, se ejemplifica la presencia de células con morfología normal ($\rightarrow$), parcialmente anormal ($\blacktriangleright$) y anormal ($\triangleright$). (B-E). Cuantificación de células de cada subtipo en las distintas capas (II-V) de la CSS. Se indica la media $\pm$ EEM, (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ANOVA de dos vías/ post hoc test de comparaciones múltiples de Tukey; a: vs control, b: vs bigénico, c: vs control y bigénico), $n=3-4$ animales por grupo. Barra de escala: 200 μ m (fila superior), 50 μ m (fila inferior).

Conclusiones

- La supresión del transgén previene la disminución del ancho de las regiones CA1 y GD del hipocampo. Sin embargo se observó una disminución del ancho de las CM y CPF luego de la supresión.
- Encontramos un aumento en el porcentaje de núcleos anormales en el grupo de animales suprimidos en comparación con los encontrados en el grupo control y con 1 mes de sobreexpresión del transgén. Esto sugiere que los mecanismos celulares para lidiar con la sobreexpresión serían distintos a los utilizados luego de la supresión.