

696

ANÁLISE DA DINÂMICA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA DOS RECEPTORES DE ÁCIDO RETINOICO EM CÉLULAS HUMANAS (SH-SY5Y) SOB DIFERENCIAÇÃO NEURONAL: RELEVÂNCIA NA ABORDAGEM TERAPÊUTICA DE DOENÇA DE PARKINSON

Vitor de Miranda Ramos, Fares Zeidán-Chuliá, Ben-Hur Neves de Oliveira, Matheus Augusto Pasquali de Bittencourt, Moara Mingori, Daniel Pens Gelain, José Cláudio Fonseca Moreira. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

A linhagem de células SH-SY5Y, derivada de neuroblastoma humano, tem sido amplamente utilizada como modelo in vitro em estudos de neurotoxicidade. A literatura atualmente reporta uma série de protocolos para indução de um processo de diferenciação nessas células em tratamento sustentado com diferentes agentes, dentre eles, o ácido retinóico (AR). O tratamento de células SH-SY5Y com AR induz alterações no padrão de expressão gênica implicando um fenótipo semelhante a de um neurônio catecolaminérgico maduro. Os mecanismos moleculares que guiam esse fenômeno, no entanto, ainda são pouco compreendidos, mas envolvem a participação dos receptores de AR (RAR α , RAR β , RAR γ , RXR α e RXR β). Além disso, a complexidade do processo impõe um desafio aos pesquisadores, sendo importante a introdução de ferramentas de bioinformática para lidar com a quantidade massiva de dados existentes. Nosso objetivo foi avaliar o comportamento da expressão dos receptores de AR ao longo do tratamento de diferenciação induzida por AR com o visando desenhar novas estratégias terapêuticas que auxiliem na geração e sobrevivência de neurônios dopaminérgicos em doenças neurodegenerativas como doença de Parkinson. Com esse objetivo, gerou-se a rede de coexpressão dos cinco mil transcritos mais variantes e calculou-se overlap topológico (OT) para cada par de transcritos, gerando-se uma matriz quadrada de similaridade para construção de um dendrograma e gerou-se os valores de expressão representativos de cada módulo. Tais valores foram correlacionados com a expressão dos receptores de AR via correlação de Pearson, e valores p de significância foram obtidos através da transformação Z de Fisher. Os resultados obtidos foram confirmados com análises RT-PCR e Western-blot. Células SH-SY5Y foram silenciadas para RXR β e diferenciadas por 7 dias. O grau de diferenciação foi avaliado por imuno-marcação com β -III-tubulina e tirosina hidroxilase (TH). A expressão dos receptores RXR tende a correlacionar fortemente com a expressão de módulos relacionado a diferenciação. No entanto, ao avaliarmos a dinâmica da expressão dos receptores de AR ao longo do processo de neurodiferenciação, vemos que simultaneamente ocorre um pulso de superexpressão de receptores RAR e depressão dos receptores RXR. Nossos experimentos de silenciamento transitório da expressão de RXR β evidenciam que esse mecanismo, de fato, beneficia a diferenciação. Palavra-chave: receptores de ácido retinóico; células SH-SY5Y; diferenciação neuronal.