

# Análise de Expressão Gênica em Larga Escala de Células SH-SY5Y sob Diferenciação Neuronal Induzida por Ácido Retinóico

Ben-Hur Neves Oliveira\*, Fares Zeidán-Chuliá, Matheus Augusto Pasquali de Bittencourt, José Cláudio Fonseca Moreira & Daniel Pens Gelain



UFRGS PROPEAQ XXV SIC  
Salão Iniciação Científica

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo  
Departamento de Bioquímica, ICBS  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
POA, RS, Brasil



CB - Ciências Biológicas

\*eMail: oliveira.bhn@gmail.com

## Introdução

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 distintos para indução de um processo de diferenciação nessas células sob tratamento sustentado com uma gama de agentes, incluindo, dentre outros, o ácido retinóico (AR). O tratamento de células SH-SY5Y com AR induz alterações no padrão de expressão gênica que, em última instância, implicam um fenótipo semelhante a de um neurônio catecolaminérgico maduro. Os mecanismos moleculares que guiam esse fenômeno ainda são pouco compreendidos, mas envolvem a participação dos receptores de AR (RARA, RARB, RARG, RXRA e RXRB). Além disso, a complexidade do processo impõe um desafio aos pesquisadores que buscam entender o problema em nível sistemático e global, sendo importante a introdução de ferramentas de bioinformática para lidar com a quantidade massiva de dados experimentais disponíveis na literatura.

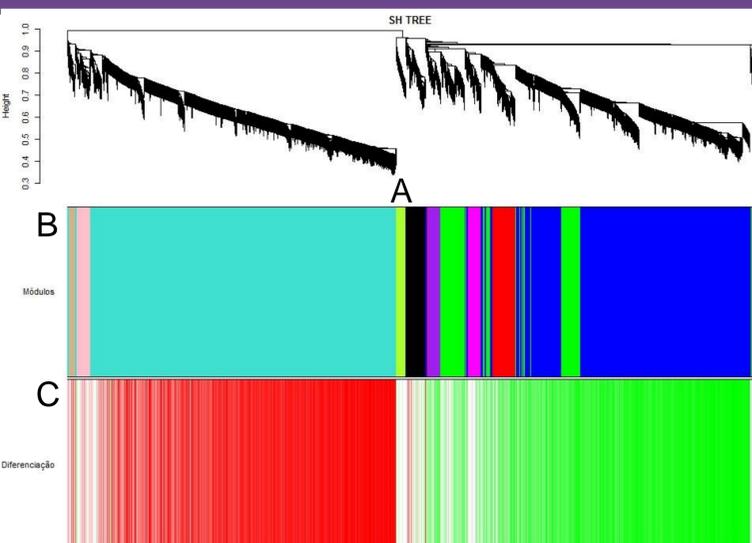
## Objetivos

1. A través de uma análise de coexpressão, identificar conjuntos de genes cuja expressão está correlacionada (i.e. módulos)
2. Caracterizar a correlação entre os receptores de AR e os módulos previamente identificados
3. Avaliar o comportamento da expressão dos receptores de AR ao longo do tratamento de diferenciação induzida por AR

## Material e Métodos

1. 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. Essa matriz foi utilizada para construção de um dendrograma (figura 1). Através do algoritmo de "corte dinâmico de ramos", agrupou-se as folhas dessa árvore por grau de similaridade (OT), gerando grupos de genes coexpressos (módulos)
2. Através de uma análise de componente principal, 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 (figura 2)
3. Células SH-SY5Y foram silenciadas para RXRb e diferenciadas por 7 dias com AR. Posteriormente, o grau de diferenciação foi avaliado por imunomarcagem com  $\beta$ -III-tubulina e tirosina hidroxilase (TH) (figura 4)

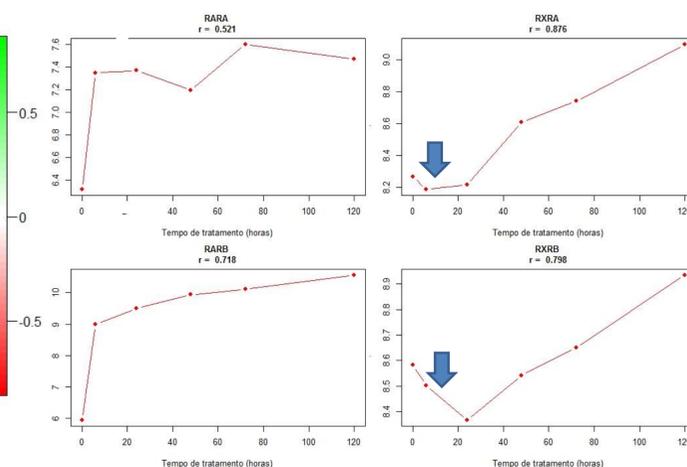
## RESULTADOS



1

**A)** Árvore gerada por similaridade de coexpressão. Cada folha representa um gene, e as folhas mais próximas nessa árvore são representadas por grupos de genes coexpressos.  
**B)** Para cada módulo, foi assinalado uma cor diferente; cada folha da árvore está alinhada com a cor do módulo a qual ela pertence.  
**C)** Para cada folha, calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson da expressão do gene contra o tempo de tratamento com AR (vermelho indica correlação negativa; branco indica ausência de correlação; verde correlação positiva)

RARA	-0.52 (0.03)	0.52 (0.02)	0.26 (0.3)	-0.15 (0.5)	0.25 (0.3)	0.24 (0.3)
RARB	-0.69 (0.001)	0.73 (3e-04)	0.18 (0.5)	0.006 (1)	0.37 (0.1)	0.43 (0.08)
RARG	-0.73 (4e-04)	0.61 (0.006)	0.068 (0.8)	-0.24 (0.4)	0.63 (0.004)	-0.1 (0.7)
RXRA	-0.86 (8e-07)	0.87 (3e-07)	-0.52 (0.02)	0.55 (0.02)	0.72 (4e-04)	0.43 (0.08)
RXRB	-0.81 (1e-05)	0.79 (3e-05)	-0.65 (0.002)	0.59 (0.008)	0.76 (1e-04)	0.36 (0.1)
	turquoise	blue	tan	purple	red	green



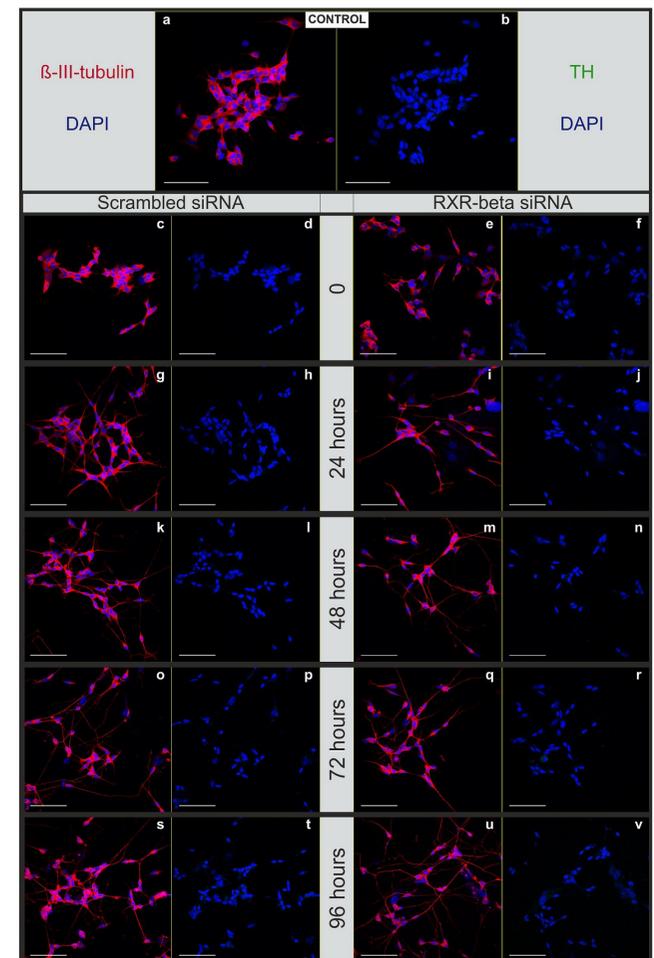
2 Quadro comparando a correlação entre a expressão de receptores de AR e os diferentes módulos identificados na figura 1. Os números indicam o coeficiente de correlação de Pearson e, entre parênteses, o valor p de significância.

3 Comportamento da expressão dos receptores de AR ao longo do processo de neurodiferenciação induzida. O eixo 'x' apresenta tempo de tratamento com AR, e o eixo 'y' o coeficiente de expressão normalizado.

## CONCLUSÃO

O processo de diferenciação neuronal induzida por AR em células da linhagem SH-SY5Y é muito complexo, e o efeito da expressão dos diferentes receptores de AR ainda é pouco compreendido. Nesse trabalho, nós investigamos o papel dos diferentes receptores de AR através de uma análise de coexpressão a nível transcriptômico. Nossos resultados indicam que a expressão dos receptores RXR tende a correlacionar fortemente com a expressão de módulos relacionados a diferenciação. No entanto, ao avaliarmos a dinâmica da expressão dos receptores de AR ao longo do processo de neurodiferenciação induzida, vemos que ocorre simultaneamente um pulso de superexpressão de receptores RAR e depressão dos receptores RXR. Nossos experimentos de silenciamento transitório da expressão de RXRb evidenciam que esse mecanismo, de fato, beneficia a diferenciação

4 Análise por imunofluorescência confocal de células SH-SY5Y após diferenciação com AR (controle vs. células silenciadas para RXRb)



MODALIDADE DE BOLSA

