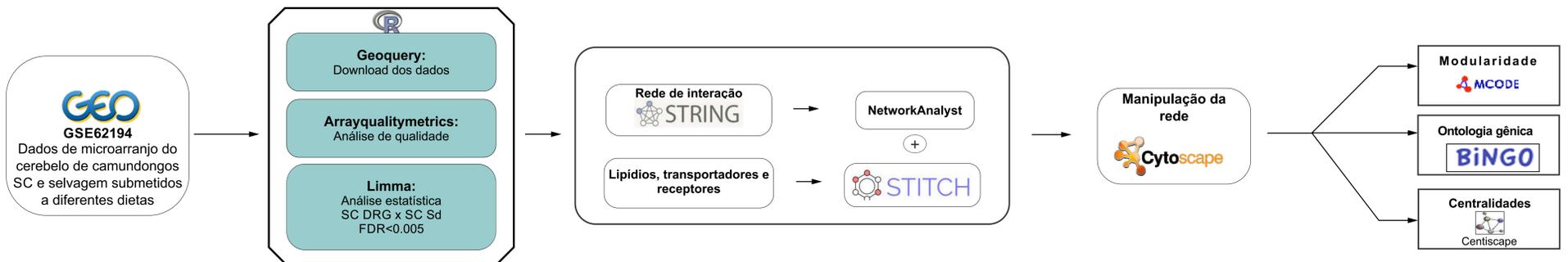


Introdução

A síndrome de Cockayne (SC) é uma doença autossômica recessiva caracterizada por envelhecimento precoce, curto tempo de vida e neurodegeneração originada por hipomielinização e perda axonal nos tecidos do SNC, especialmente no cerebelo. SC é causada por mutações nos genes CSA e CSB (genes do sistema de reparo de DNA) levando a alterações na atividade de outras proteínas, como a superativação da PARPs, causando depleção energética e até mesmo morte celular. Embora não exista nenhum tratamento efetivo disponível ainda, estudos demonstraram que camundongos SC alimentados com uma dieta rica em gordura (DRG) apresentaram uma melhora das suas funções neuronais [1]. Isso poderia ser resultado de uma possível suplementação energética provinda da DRG e também uma consequência da alteração de vias metabólicas que poderiam recuperar as funções neurológicas. Entretanto, não se sabe quais mecanismos e vias são responsáveis por tais eventos. Assim, o objetivo deste projeto é utilizar ferramentas de transcriptômica e biologia de sistemas para elucidá-los e ligá-los aos efeitos neuroprotetores da DRG em SC.

Material e métodos



Resultados e Discussão

Observamos a presença de 285 genes diferencialmente expressos (GDEs) na rede, a partir da nossa lista de input inicial de 600 GDEs. Para entender o impacto da DRG no contexto da SC, analisamos o papel destes genes na rede. A análise de modularidade identificou 18 módulos. Por meio da análise de ontologias gênicas (OG), filtramos 5 destes módulos relacionados ao metabolismo, à regulação da morte celular e à neurogênese, apresentamos três (Figura 1) que incluem genes chave do metabolismo lipídico (Figura 2) e de processos neuronais (Figura 3). Estes nós foram a base para desenvolver os modelos que almejam explicar a relação entre a DRG e a SC.

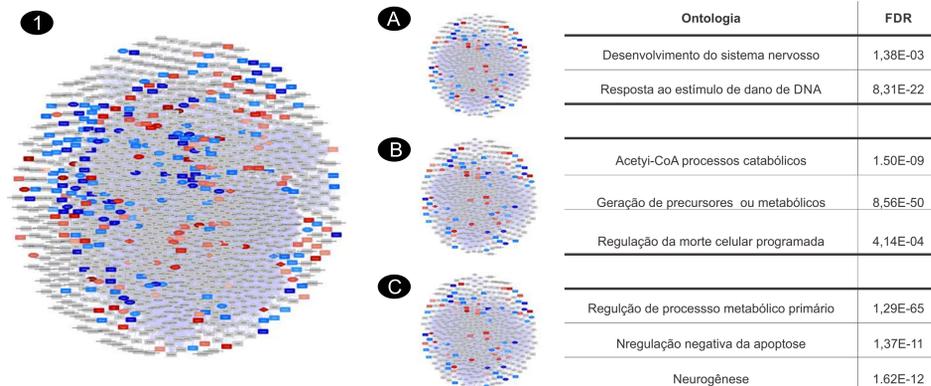


Figura 1- (1) Rede de interação proteína desenvolvida baseado nos GDEs. (A,B,C) Módulos filtrados a partir da rede (1). Os nós em vermelho são superexpressos e os em azul são subexpressos. Quanto mais escura a cor, maior sua diferença de expressão. A forma dos nós representa as centralidades dos nós: diamante representa os hubs; octágono representa os bottlenecks; e elipse representa hub-bottlenecks. A análise de ontologia gênica demonstrou os principais processos com os quais os módulos são associados.

A partir destes nós, observamos uma tendência no catabolismo lipídico em detrimento ao anabolismo, ao qual é evidenciado tanto pela presença de genes superexpressos (da β -oxidação e ciclo do ácido cítrico) quanto pelo bottleneck subexpresso SREBF1 (Figura 2). Este gene codifica um importante fator de transcrição regulador da lipogênese. Juntos, esses dados sugerem que a DRG - na SC - provê energia principalmente por meio do catabolismo lipídico. Esse balanço energético poderia ser vantajoso para muitos processos neurológicos como transporte axoplasmático, sobrevivência celular e mielinização.

Considerando os módulos relacionados aos processos mencionados anteriormente, a análise dos GDEs neles presentes revelou um importante gene bottleneck relacionado a processos neurais: Lingo1. Este nó faz parte do complexo NOGO, o qual, além dele mesmo, é formado pelas proteínas NGFR e RTN4R (bottleneck). Esse complexo liga-se às proteínas inibidoras associadas à mielina (NOGOA (RTN4), OMG, e MAG), presentes na mielina e que medeiam a transdução de sinais inibitórios da maturação de precursores de oligodendrócitos, da formação de neuritos e da mielinização por meio da ativação da RHOA [2] (Figura 3). Essa situação ocorre em processos traumáticos e em doenças neurodegenerativas, nos quais ocorre a liberação de detritos de mielina juntamente com seus inibidores.

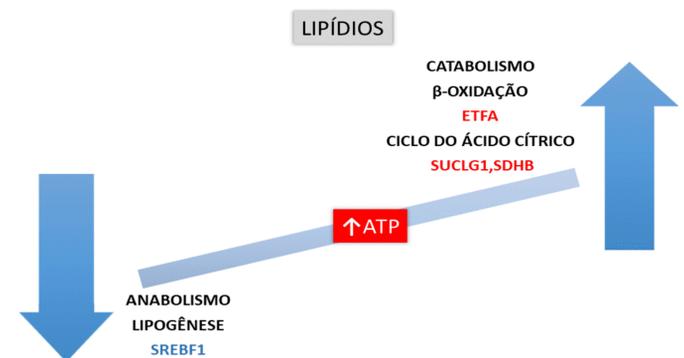


Figura 2- Modelo molecular demonstrando a tendência metabólica em direção ao aumento do catabolismo e diminuição no anabolismo.

A literatura tem demonstrado que o complexo NOGO é funcional apenas quando todos os três componentes estão presentes. Assim, visto que LINGO1 está subexpresso - e consequentemente menos complexo NOGO funcional é formado, a ativação de RHOA é reduzida e o sinal inibitório anteriormente mencionado pode ser atenuado, permitindo um melhor desenvolvimento de oligodendrócitos. Além disso, também observamos a presença de genes subexpressos cujo produto proteico está associado a ativação de RHOA como fatores de troca de nucleotídeo guanina (GEFs), o que corrobora a relevância deste mecanismo em SC. Também observamos a superexpressão da proteína básica de mielina (MBP), um dos principais constituintes da bainha de mielina [3]. Esta apresenta relatos na literatura por ter uma relação de expressão inversa com LINGO1. Isto poderia ser um resultado da maior ativação do processo de formação de neuritos, maturação de oligodendrócitos e consequentemente da mielinização. Juntamente, essas observações ajudam a entender os possíveis processos que podem ser capazes de recuperar as funções cerebelares em indivíduos SC por meio da DRG.

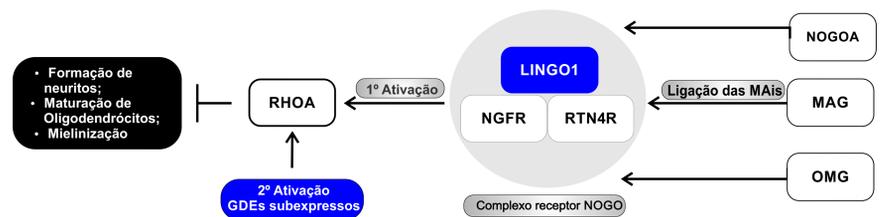


Figura 4- Modelo molecular demonstrando o papel complexo NOGO (círculo em cinza) na inibição de importantes processos neuronais (quadro preto). Os retângulos representam as proteínas que formam o complexo. A cor azul representa a subexpressão gênica. Os quadros que apontam para RHOA indicam a primeira e segunda etapa de ativação desta proteína.

Conclusões

Podemos concluir que a DRG é capaz de suplementar o deficit energético causado pela superativação de PARP, o que poderia aumentar o potencial de sobrevivência celular. Além disso, a dieta também poderia afetar a expressão de genes (como Lingo1) relacionados a processos neurais relevantes como a formação de neuritos, a maturação de oligodendrócitos e a mielinização. Assim, isto poderia ser um dos fatores no resgate de um cerebelo funcional em indivíduos SC. As futuras etapas desta pesquisa envolvem uma análise aprofundada das vias relacionadas ao metabolismo neuronal e mielinização, assim como da relação entre estes processos com as vias de reparo de DNA.

Referências

- Scheibye-Knudsen, M. et al. A high-fat diet and NAD(+) activate Sirt1 to rescue premature aging in cockayne syndrome. Cell Metab. 20, 840–855 (2014).
- Mi, S. et al. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. Nat. Neurosci. 7, 221–228 (2004).
- Weil, M. et al. Loss of Myelin Basic Protein Function Triggers Myelin Breakdown in Models of Demyelinating Diseases. Cell Rep. 16, 314–322 (2016)

Agradecimentos