

# EFFECTOS NEUROPROTECTORES DEL TRIPLE RECEPTOR AGONISTA GLP-1/GIP/GLUCAGÓN EN EL MODELO DE RATÓN TRANSGÉNICO APP/PS1 EN ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Presentado por: J. Berges Navarro<sup>1</sup>, I. Mínguez Santos<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>. Carrera de Biomedicina, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid

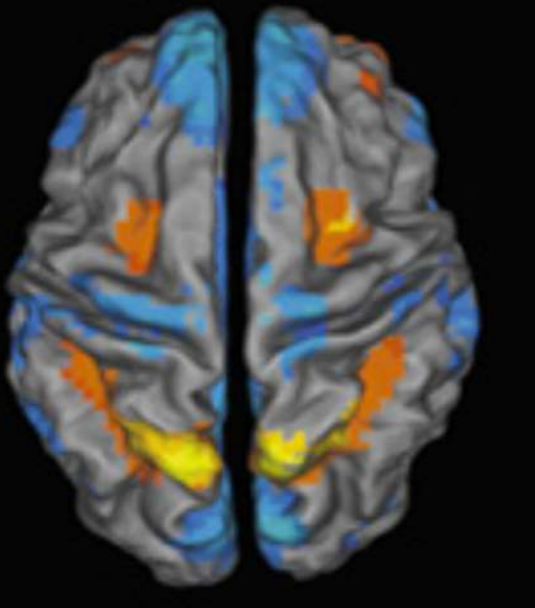
Autores: J. Tai<sup>a</sup>, W. Liu<sup>b</sup>, L. Li<sup>c</sup>, C. Hölscher<sup>d</sup>

a. Key Laboratory of Cellular Physiology, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, PR China

b. Department of Human Anatomy, Medical College, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan, PR China

c. Second Hospital Neurology Dept., Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, PR China

d. Biomedical and Life Science, Faculty of Health and Medicine, Lancaster University, Lancaster LA1 4YQ, UK



**OBJETIVO.** Probar efectos neuroprotectores de TA en ratones transgénicos APP/PS1 en enfermedad de Alzheimer.

**INTRODUCCIÓN.** La enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva caracterizada por una pérdida de memoria, deterioro cognitivo y alteraciones en el comportamiento. Existe una evidencia de que la diabetes tipo II (T2DM) influye directamente y de forma negativa sobre la enfermedad de Alzheimer. En estudios previos se consiguió demostrar que las hormonas GLP-1 y GIP aumentan los efectos del Alzheimer por sus propiedades diabéticas. En el paper referido, se estudia el triple receptor agonista TA que activa al mismo tiempo a los receptores de GLP-1, GIP y Gcg. El TA se ha evaluado en ratones APP/PS1 de forma que el tratamiento con este triple receptor disminuye el déficit de memoria por un descenso en las señales mitocondriales apoptóticas, además de evidenciarse una disminución de las placas  $\beta$ -amiloideas y por tanto de la neuroinflamación y el estrés oxidativo. Por último se demuestra que la activación del receptor de glucagón tiene propiedades neuroprotectoras y de ahí la importancia de su activación.

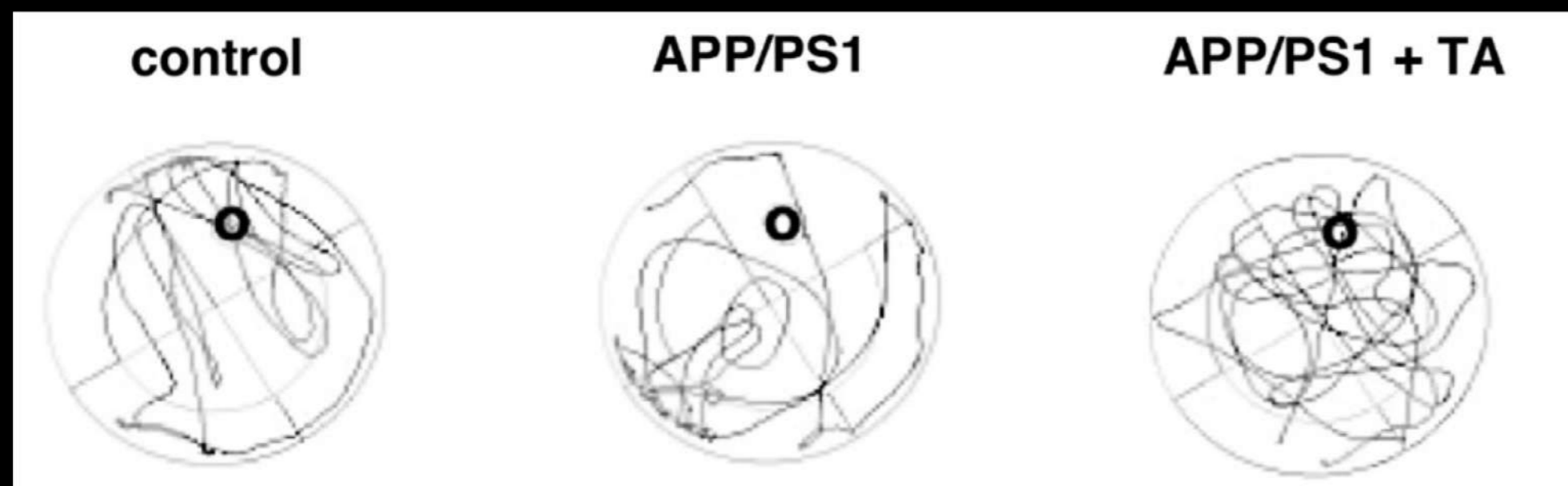
## MATERIALES Y MÉTODOS.

1. Péptido y químicos	2. Animales y tratamientos	3. Prueba del laberinto acuático de Morris	4. Preparación del tejido cerebral	5. Inmunohistoquímica	6. Western Blot	7. Análisis estadísticos
<ul style="list-style-type: none"> <li>Triple receptor GLP-1/GIP/Gcg</li> <li>Diferentes anticuerpos primarios como BAX o DCX</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ratón transgénico APP/PS1 y tratamiento de TA</li> <li>Ratón wild type</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Piscina de 150cm de diámetro y 60cm de alto llena de agua dividida en cuatro cuadrante y con una plataforma oculta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>½ animales: obtención de hipocampo</li> <li>½ animales: extracción cerebral con paraformaldehído</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Detección con anticuerpos acoplados a una enzima</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Técnica para detectar proteínas específicas en una muestra concreta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Test ANOVA junto con la corrección de Benferroni's</li> </ul>

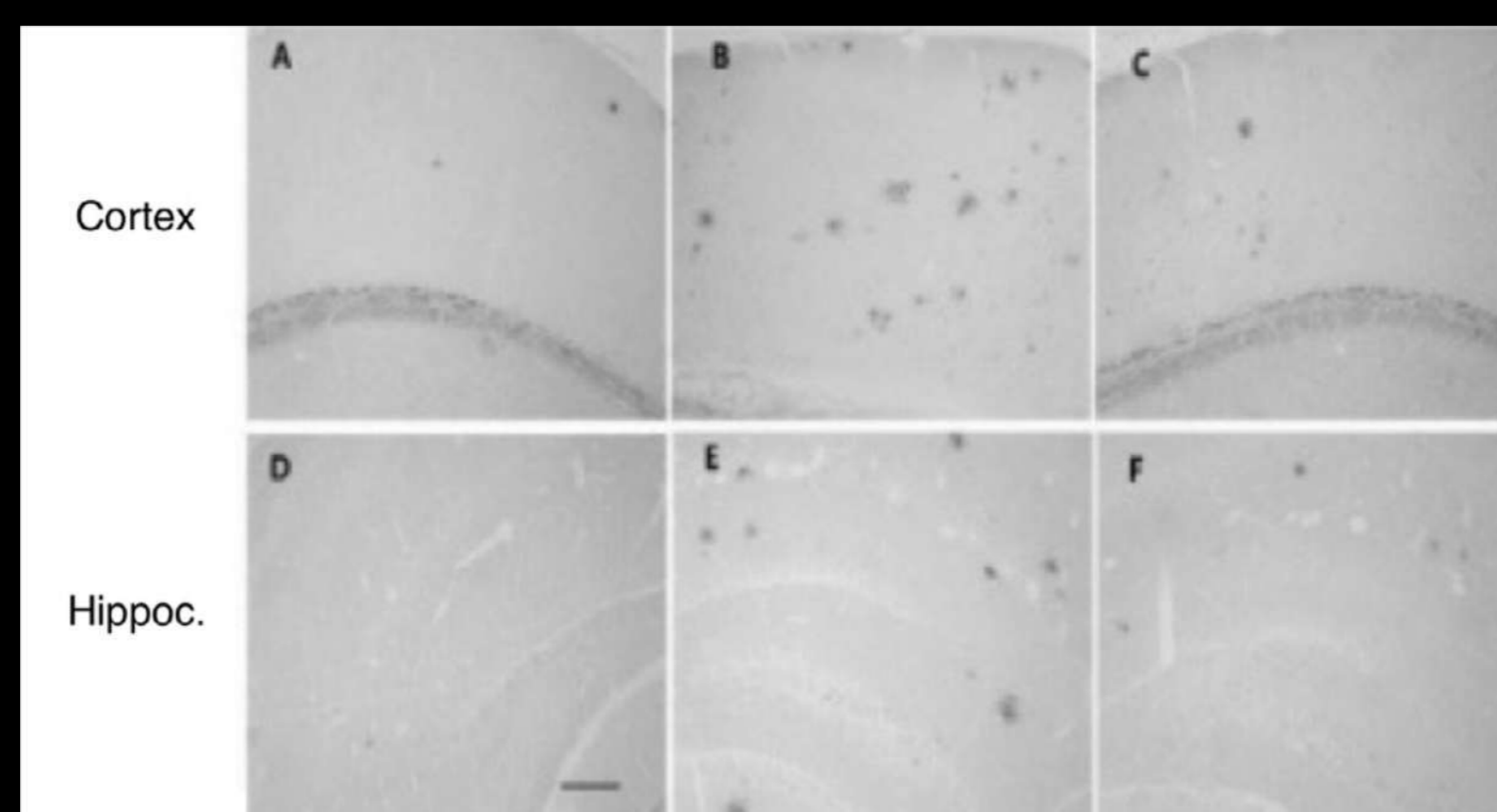
## RESULTADOS

### 1. Test acuático de Morris.

- Día 5: distancia en la búsqueda de la plataforma oculta diferente en ratones WT (control), ratones APP/PS1 y ratones tratados con TA. Los tratados disminuyeron la distancia con respecto a los ratones APP/PS1. Cabe destacar que no hubo diferencia en las velocidades de nado.
- Día 6: eliminación de la plataforma. Se ve que los ratones tratados con TA pasan más tiempo en el lugar donde el día anterior estaba la plataforma con respecto a los no tratados (APP/PS1).

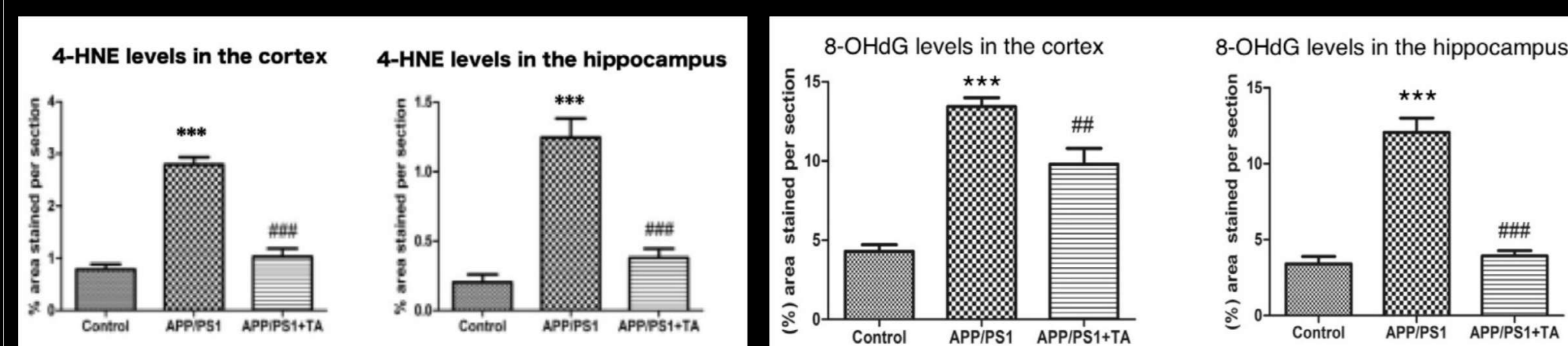


**2. Análisis inmunohistoquímico para conocer el número de placas  $\beta$ -amiloideas en ratones APP/PS1.** Diferencias de depósitos de placas en corteza e hipocampo entre los tres grupos de ratones. Los ratones tratados con TA disminuyeron las placas con respecto a los APP/PS1.

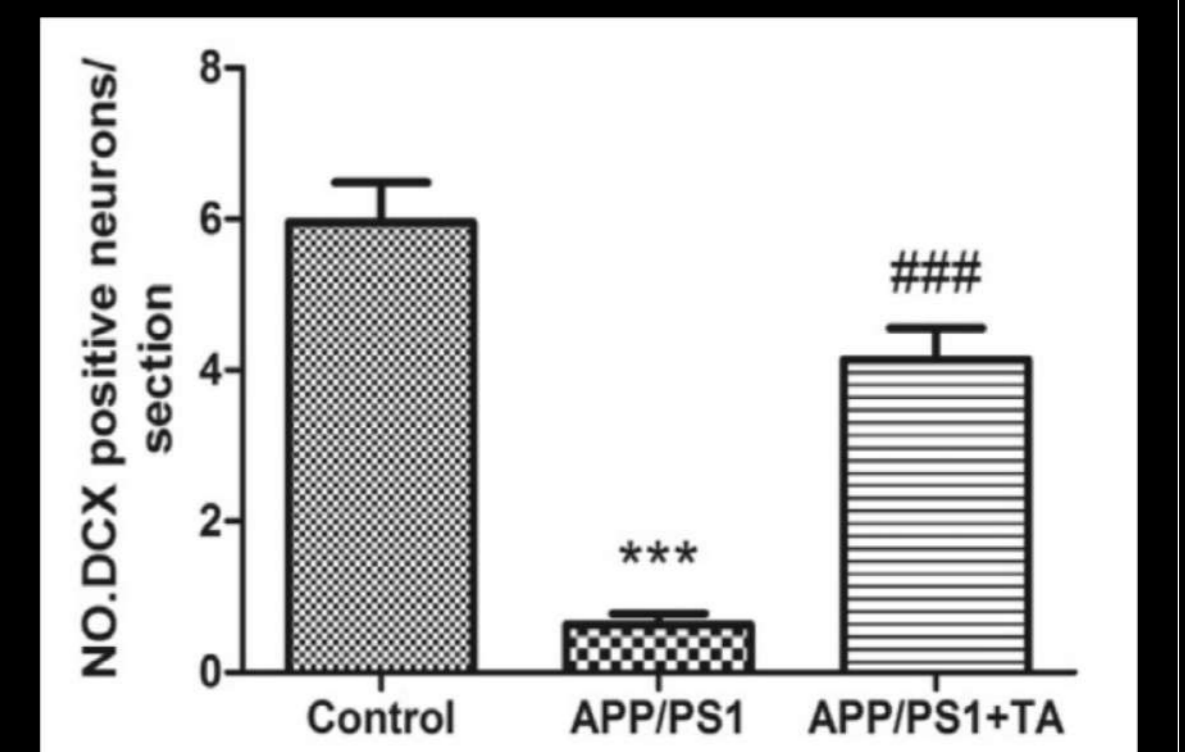


**3. Análisis inmunohistoquímico con anticuerpo anti-GFAP (indicador de astrocitos activados) y anti-IBA-1 (indicador de microglía activa) en corteza e hipocampo.** En ratones APP/PS1 encontraron mucho GFAP e IBA-1 y en ratones con el tratamiento TA disminuyó la expresión de dichos indicadores.

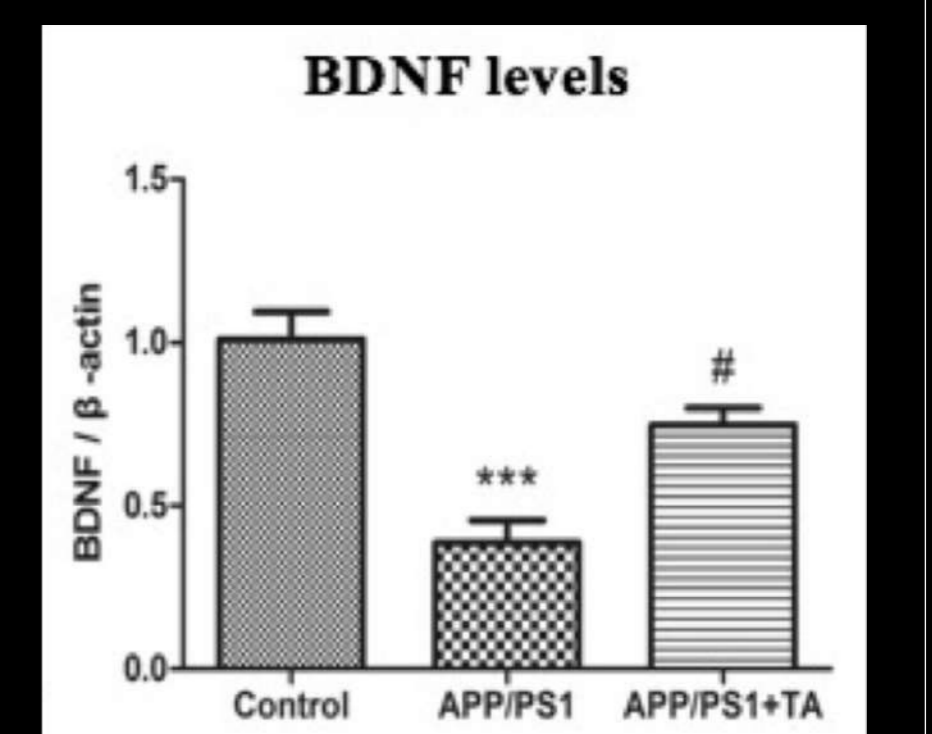
**4. Análisis inmunohistoquímico contra 4-HNE (genera una señal pro-apoptótica) y 8-OHDG (oxidación DNA).** En ratones tratados con TA disminuyó la expresión de 4-HNE e IBA-1.



**5. Análisis inmunohistoquímico del número de neurogénesis evaluado con DCX (anticuerpo primario).** El número de DCX era muy bajo en ratones APP/PS1; en cambio, los ratones tratados con TA previnieron dicha reducción.

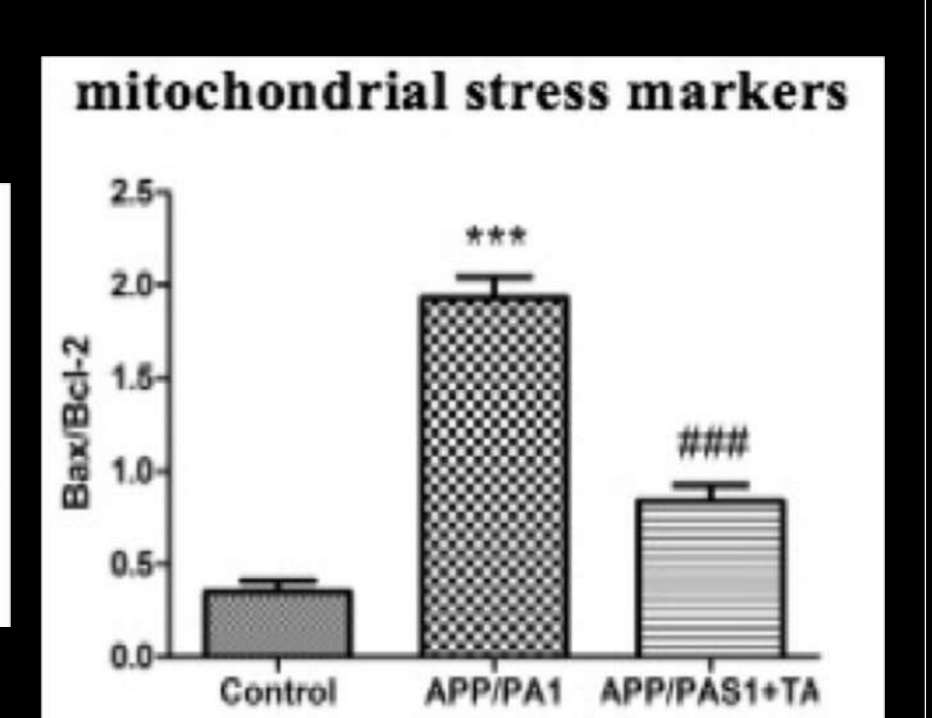
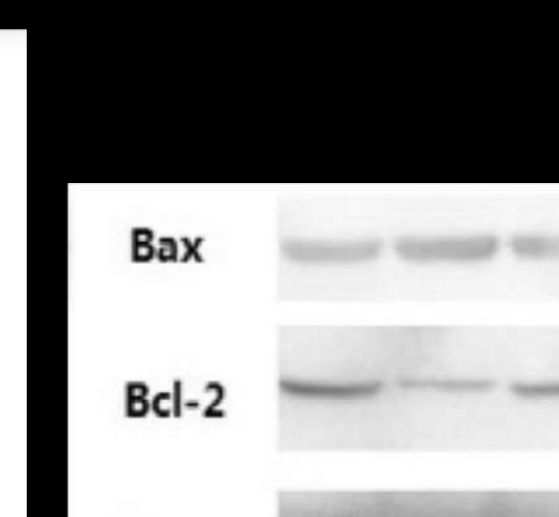
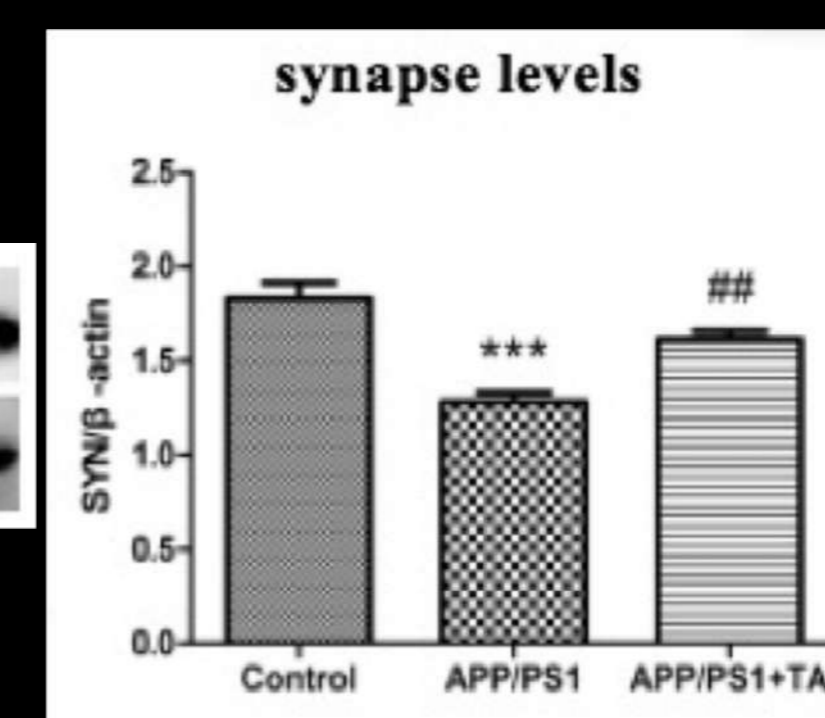
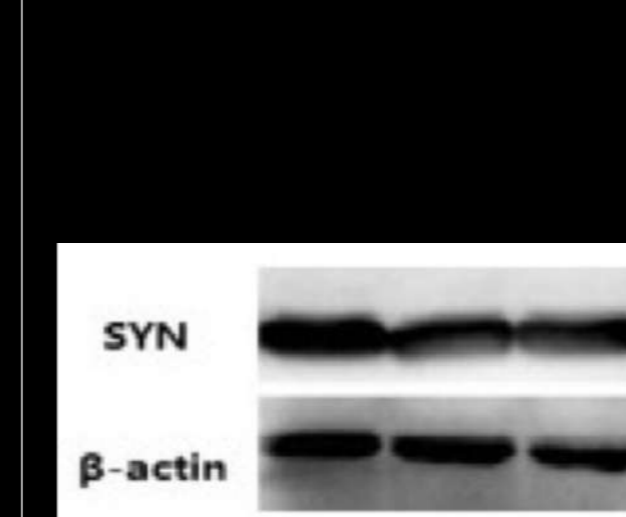


**6. Western Blot para detectar los niveles de BDNF (factor neurotrófico) en hipocampo y corteza.** Nivel de BDNF muy bajo en ratones APP/PS1 mientras que los TA revirtieron la disminución.



**7. Western Blot para detectar los niveles de sinaptosina (marcador sináptico).** Reducción de los niveles de sinaptosina en hipocampo. Los APP/PS1 poseen un nivel muy bajo de sinaptosina y el tratamiento con TA previene esa reducción.

**8. Western Blot para detectar la expresión de BCL2 (proteína anti-apoptótica) y BAX (proteína apoptótica) en hipocampo.** La proporción BAX/BCL2 es muy elevada en ratones APP/PS1, en cambio en ratones tratados con TA disminuye esa proporción.



## CONCLUSIONES.

- El tratamiento con TA mejoró el aprendizaje y la memoria del ratón APP/PS1.
- El tratamiento con TA mejoró el número de placas  $\beta$ -amiloideas en ratones APP/PS1.
- El tratamiento con TA redujo inflamación crónica e hipocampo en ratones APP/PS1.
- El tratamiento con TA suprimió efectos de estrés oxidativo en corteza e hipocampo en ratones APP/PS1.
- El tratamiento con TA aumentó el número de neuronas inmaduras en dentate gyrus en ratones APP/PS1.
- El tratamiento con TA disminuye BNF en hipocampo y corteza del ratón APP/PS1.
- El tratamiento con TA revirtió la reducción de niveles de sinaptosina.
- El tratamiento con TA mostró efectos antiapoptóticos reduciendo la proporción BAX/BCL2 en ratones APP/PS1.