

LA MICROGLÍA LIMITA LA EXPANSIÓN DE LAS PLACAS B-AMILOIDES EN UN MODELO DE RATÓN CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Presentado por: L. Soto Polo¹, L. Martínez Rábade¹, P. Riosalido De Lucas¹

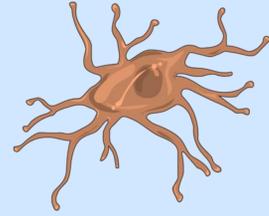
¹Carrera de Biomedicina, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid

Autores: Ruohe Zhao^{1,2}, Wanling Hu¹, Julia Tsai², Wei Li^{1,2} and Wen-Biao Gan^{1,2}

Centros de Trabajo:

¹Drug Discovery Center, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China.

²Skirball Institute, New York University School of Medicine, New York, NY 10016, USA.



OBJETIVO

Examinar la función de la microglía en la deposición de las placas β -amiloide ($A\beta$) de la enfermedad de Alzheimer (EA) en ratones APP/PS1 eliminando la microglía.

INTRODUCCIÓN

La microglía son las células inmunes residentes del sistema nervioso central (SNC). El papel de estas células en la limitación y formación de las placas $A\beta$ en la EA sigue siendo polémico debido a conclusiones opuestas de estudios anteriores.

Se sabe que la acumulación de estas placas produce anomalías neuronales como neuritas distróficas, pérdida de espinas dendríticas o disfunción sináptica. Todo ello contribuye a un déficit cognitivo y pérdida de la memoria en estos pacientes.

RESULTADOS

1. La reducción de la microglía durante 2 semanas no causa efectos en el número de placas (Fig. 2)

- Cronograma de la administración de tamoxifeno (días 1-3), la administración de la toxina (días 10-12) y de la toma de imágenes in vivo de las placas teñidas con Rojo Congo (días 13, 20 y 27).
- Imágenes tomadas los días 13, 20 y 27 de los ratones control APP/PS1. No se observa variación en el tamaño y en el número de placas.
- Imágenes tomadas los días 13, 20 y 27 de los ratones APP/PS1/CX3CR1-iDTR. No se observan diferencias en el número de placas pero sí en el tamaño de estas.

2. La reducción de la microglía lleva a un alargamiento de las placas $A\beta$ (Fig. 3)

- Comparación de la distribución del tamaño de las placas en el día 13 entre los ratones control y los caso. No se aprecian diferencias significativas entre ambos.
- Imágenes de las placas en los días 13, 20 y 27 en los ratones control. No se observa crecimiento.
- Imágenes de las placas en los días 13, 20 y 27 en los ratones caso. Se observa un aumento en el tamaño.
- Comparación en el tamaño de las placas el día 13 respecto al 20 entre los ratones control y los APP/PS1/CX3CR1-iDTR. En los controles no se ven diferencias significativas pero en los casos sí.
- Comparación del tamaño de las placas en el día 20 respecto al 27 entre los ratones control y los APP/PS1/CX3CR1-i. No se ven diferencias entre ambos. Esto se debe a que a las dos semanas, la microglía vuelve a repoblar el córtex cerebral.

DISCUSIÓN

Una diferencia de este estudio respecto a estudios previos es que analizaron el número y tamaño de las placas usando un tejido cerebral fijado, mientras que en este se ha podido monitorizar la respuesta in vivo durante la reducción de la microglía y así observar pequeños cambios en el tamaño de las placas. Además, la eliminación de la microglía se ha realizado de forma rápida, mientras que en otros estudios no, lo que ha podido ocasionar respuestas compensatorias como la activación astrocitaria.

CONCLUSIÓN

Estos resultados sugieren que la microglía tiene un papel fundamental limitando el crecimiento de las placas sin afectar a su número. Además se ha visto que una semana después de eliminar la microglía, se produce un aumento considerable del tamaño de la placa y, sin embargo, 2 semanas después (cuando se da la repoblación) las placas se estabilizan.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Ratones transgénicos:** Se cruzaron ratones transgénicos APP/PS1 (que desarrollan placas $A\beta$ y los cuales se usan como control) con ratones CX3CR1-iDTR, que contienen YFP y el receptor para la toxina diftérica bajo el control de un promotor inducible por el fármaco tamoxifeno, gracias a la recombinación mediada por *Cre*. El cruce obtenido entre ambos (APP/PS1/CX3CR1-iDTR) se genotipó mediante PCR y estos serán los casos.
- Marcar placas amiloides in vivo:** se tiñen las placas $A\beta$ con Rojo Congo inyectándolo en el espacio subaracnoideo de los ratones.
- Imagen de las placas $A\beta$ mediante un microscopio de dos fotones in vivo:** se abrió una ventana en el cráneo de los ratones y se observaron imágenes de las placas $A\beta$ teñidas con Rojo Congo.
- Reducción de la microglía:** se administró tamoxifeno a los ratones para inducir la expresión del receptor de la toxina diftérica y después se les dio la toxina para reducir de esta forma su microglía.
- Inmunohistoquímica:** se usaron anticuerpos primarios contra *Iba 1* (proteína de la superficie de la microglía) y anticuerpos secundarios con un fluorocromo para distinguir la microglía y poder observarla.

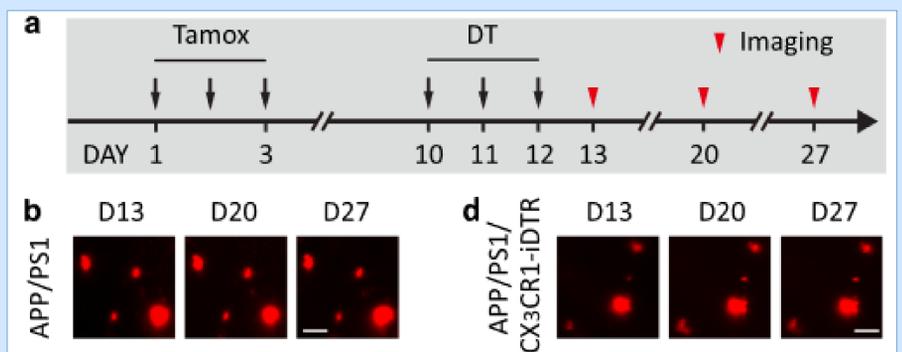


Figura 2

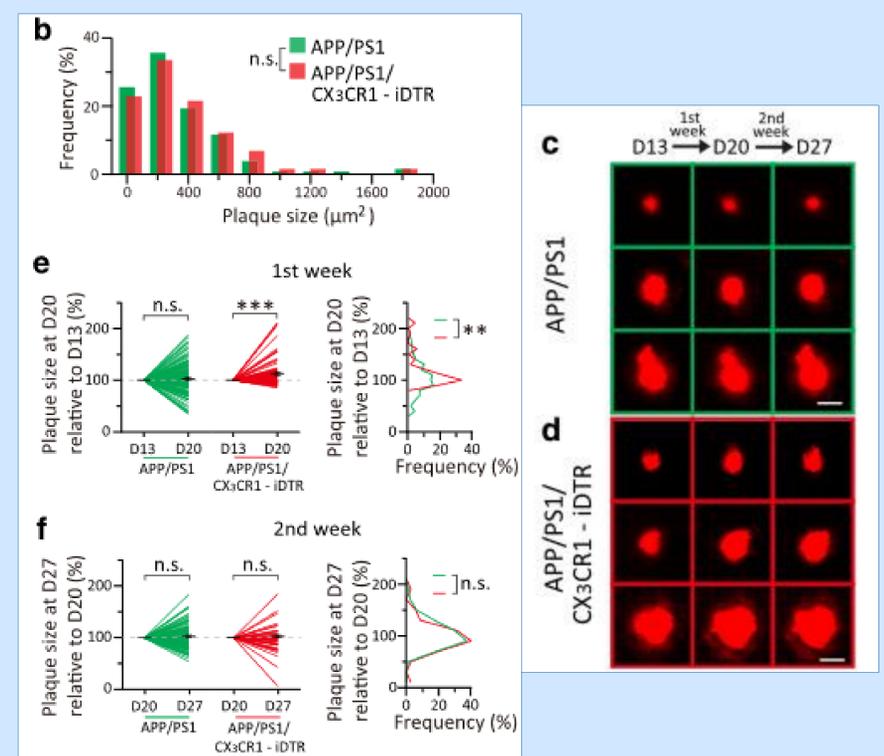


Figura 3