



**Fundació**  
La Marató de TV3

XVII SIMPOSIUM

Lesiones medulares y cerebrales adquiridas



## PROTECCIÓN FRENTE AL INFARTO CEREBRAL INDUCIDO POR EL DAÑO NEURONAL PROVOCADO POR LA INHIBICIÓN DE LA AUTOFAGIA. PAPEL DE BMF Y NOXA

**Cristina Muñoz Pinedo**

Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

**Jochen Prehn**

Neuroscience Research Centre, Irlanda





## 1. Resumen del proyecto

El infarto cerebral es una de las causas mayoritarias de muerte y discapacidad. Aparte de la trombólisis, no existen tratamientos farmacológicos para el tratamiento del ictus. En el núcleo hipóxico, las neuronas y los astrocitos se mueren rápidamente. En la zona llamada *de penumbra*, el daño neuronal progresa con el tiempo. Este daño se asocia con la activación del sensor de energía AMPK. En este proyecto exploramos el papel de la autofagia y la muerte celular y su relevancia directa para la patofisiología y el tratamiento futuro del ictus. Basándonos en trabajos preliminares del grupo, hipotetizábamos que la AMPK y la inhibición de la autofagia podrían ejercer efectos protectores.

Hemos explorado los efectos terapéuticos de la inhibición de la autofagia y de la señalización de la AMPK en neuronas corticales primarias y en un modelo *in vivo* de ictus basado en la oclusión de la arteria cerebral media. Se han empleado métodos farmacológicos y genéticos. Hemos explorado los mecanismos moleculares que vinculan la AMPK y la autofagia con los efectos dañinos de la isquemia cerebral. En particular, nos hemos centrado en el papel que las proteínas Noxa y Bmf, de la familia Bcl-2, juegan en la señalización que provoca la muerte neuronal.

## 2. Resultados

- Las neuronas sometidas a condiciones *in vitro* que simulan isquemia/reperfusión se encuentran protegidas de la muerte celular cuando se reducen los niveles de Noxa o de Bmf. Hemos confirmado *in vivo* que la deficiencia de Bmf previene la muerte celular y reduce el daño isquémico.
- Hemos probado que la inhibición de la autofagia no sería una buena estrategia terapéutica para prevenir el daño isquémico, ya que aumenta la muerte celular en condiciones de isquemia/reperfusión *in vitro*.
- La muerte neuronal en estas condiciones muestra características de necroptosis y se previene mediante el uso de inhibidores químicos de la necroptosis, siempre que las células se preincuban con estos productos.

- Hemos identificado microRNA que se activaron a través de la proteína AMPK en la isquemia cerebral y regulan la muerte celular en condiciones de isquemia/reperfusión *in vitro*.

### 3. Relevancia y posibles implicaciones terapéuticas

Este estudio aporta información importante que demuestra el papel que juega la proteína Bmf como contribuyente al daño neuronal en condiciones de hipoxia e isquemia. Nuestros datos también sugieren que la inducción temprana de Noxa que hemos detectado no influye en la supervivencia neuronal ni en el daño isquémico, lo que sugiere que existe redundancia funcional entre proteínas de esta familia (*BH3-only*) en cuanto a su participación en la muerte neuronal, o funciones de Noxa que no están relacionadas con la muerte celular. Estos resultados son importantes para la selección futura de estrategias de neuroprevención para combatir el daño cerebral durante el ictus.

Por otro lado, nuestros resultados indican que algunos inhibidores de la necroptosis podrían ser de utilidad para reducir los síntomas del infarto si se proporcionan como tratamiento preventivo.

Hemos identificado microRNA (miRNA) endógenos como reguladores potentes de la función génica que se incrementa durante la isquemia, con un papel crucial como reguladores de las rutas de señalización involucradas en el daño neuronal. Esto los presenta como un nuevo tipo de indicadores de prognosis y agentes diagnósticos en pacientes que han sufrido ictus, y también como posibles agentes neuroprotectores que podrían rescatar las neuronas del daño irreversible, lo que facilitaría la recuperación cerebral. El papel que juegan los miRNA y su alteración en enfermedades, su capacidad de regulación de varios genes que participan en rutas similares, y su gran estabilidad los sitúa como nuevas dianas terapéuticas en ensayos clínicos. De hecho, datos obtenidos en este proyecto han servido como base para la progresión de ensayos preclínicos usando un microRNA como nueva diana terapéutica y biomarcador de prognosis en sangre para la intervención clínica para la neuroprotección en la isquemia/reperfusión.

Esta investigación ha incrementado significativamente nuestro conocimiento de la patofisiología del ictus, pero, además, ha ayudado a definir nuevas posibilidades terapéuticas para su tratamiento.

#### 4. Bibliografía

##### Artículos publicados

Ramírez-Peinado S, León-Annicchiarico CL, Galindo-Moreno J, Iurlaro R, Caro-Maldonado A, Prehn JH, Ryan KM, Muñoz-Pinedo C.

*Glucose-starved cells do not engage in prosurvival autophagy.*

J Biol Chem. 2013 Oct 18;288(42):30387-98

Open access:

<http://www.jbc.org/content/early/2013/09/06/jbc.M113.490581.full.pdf+html>

Pfeiffer S, Chen G, Ramírez-Peinado S, Anilkumar U, Watters O, Muñoz-Pinedo C, Prehn JHM.

*Analysis of BH3-Only Proteins Upregulated in Response to Oxygen/Glucose Deprivation in Cortical Neurons Identifies Bmf but not Noxa as Potential Mediator of Neuronal Injury.*

Cell Death Dis. 2014 Oct 9;5:e1456

Open access: <http://www.nature.com/cddis/journal/v5/n10/full/cddis2014426a.html>

##### Presentaciones en conferencias

Pfeiffer S, Ramírez-Peinado S, Chen G, Muñoz-Pinedo C, Prehn JHM.

*Protection from oxygen glucose/deprivation-induced neuronal injury by deletion of noxa and bmf*

Cold Spring Harbor Laboratories Cell Death Meeting. 2013.

Pfeiffer S, Chen G, Prehn JHM.

*Identification of miRNA regulated by activation of AMP-activated protein kinase during ischemic neuronal injury.*

Society for Neuroscience Meeting. Chicago (EE UU), 2015.

### **Artículo en preparación**

Galindo-Moreno J, Domínguez-Villanueva D, Prehn JHM, Muñoz-Pinedo C.  
*Neurons under glucose/oxygen deprivation die by necroptotic cell death.*

### **Tesis doctoral**

Galindo Moreno J.

*Papel de proteínas de la familia Bcl-2 en el estrés metabólico. Implicación en cáncer y en daño neuronal por isquemia.*

Universidad de Barcelona, 2015.

### **Artículos relacionados en que se agradece la financiación de La Marató al laboratorio**

López-Erauskin J, Galino J, Bianchi P, Fourcade S, Andreu AL, Ferrer I, Muñoz-Pinedo C, Pujol A.

*Oxidative stress modulates mitochondrial failure and cyclophilin D function in X-linked adrenoleukodystrophy.*

Brain. 2012 Dec;135(Pt 12):3584-98.

Lyssiotis CA, Vander-Heiden MG, Muñoz-Pinedo C, Emerling BM.

*Emerging concepts: linking hypoxic signaling and cancer metabolism*

Cell Death and Disease (2012) **3**, e303.

Doi:10.1038/cddis.2012.41

Muñoz-Pinedo C, Martin SJ.

*Autosis: a new addition to the cell death tower of babel*

Cell Death and Disease (2014) **5**, e1319