



Fundació
La Marató de TV3

XVII SIMPOSIUM

Lesiones medulares y cerebrales adquiridas



NEUROINFLAMACIÓN Y NEUROGÉNESIS DESPUÉS DE LESIÓN CEREBRAL AGUDA EN CEREBRO ADULTO. PERSPECTIVAS PARA LA RECUPERACIÓN NEURONAL DESPUÉS DE LESIÓN CEREBRAL

Esther Pozas Pulido

Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer



1. Resumen

En situaciones fisiológicas normales el cerebro presenta nichos neurogénicos capaces de producir nuevas neuronas a lo largo de toda la vida (SVZ i DG). Modelos experimentales de lesión cerebral aguda muestran que estos nichos son capaces de reaccionar produciendo una mayor proliferación y diferenciación neuronal. La relevancia funcional real de este fenómeno, así como de los mecanismos moleculares y celulares que lo regulan son poco conocidos.

El objetivo principal del presente proyecto era descubrir la relevancia funcional del balance entre interleucinas pro y antiinflamatorias en el mantenimiento y la diferenciación celular que tiene lugar de forma habitual en los nichos neurogénicos en el cerebro adulto sano y en el lesionado.

Con la presente propuesta hemos podido determinar cómo ciertos mediadores de la inflamación (IL-10 y IFN γ) cuentan con una acción directa y diferencial en la regulación de la neurogénesis, tanto en situaciones fisiológicas como patológicas, siendo así factores relevantes para regular la generación de nuevas neuronas en el cerebro adulto de animales de experimentación. También hemos descifrado las vías de señalización intracelular activadas por estas citosinas en los nichos neurogénicos adultos.

Finalmente, asimismo hemos realizado estudios sobre muestras humanas, las cuales apuntan que la neurogénesis no tendría lugar de manera importante ni en tejido sano ni lesionado en humanos.

2. Resultados

Los niveles de IL-10 regulen la neurogénesis adulta mediante la activación de vías intracelulares específicas

Hemos determinado cómo la presencia de niveles elevados de IL-10 conducen a una acumulación de marcadores de progenitores indiferenciados (Nestin, Nestin, Sox1, Sox2, Mash1), a la activación de genes de la vía NOTCH (NICD, Musashi), y que mantiene a los progenitores en ciclo celular activo (Ki67, pCDC42). En consecuencia, la diferenciación neuronal se halla reducida. Cuando los niveles de IL-10 se encuentran

comprometidos, el balance de estos genes se revierte de tal modo que la expresión de genes neuronales es más prevalente, causando un incremento en la neurogénesis (Pérez-Asensio *et al.*, 2012; 2013, Pereira *et al.*, 2014).

También hemos determinado, a diferencia de lo que hay descrito en el sistema inmune, cómo la IL-10 activa el mediador intracelular STAT3 con independencia de la activación de JAK y dependiente de ERK. La inhibición farmacológica de la vía de ERK supone la no fosforilación de STAT3 y los efectos biológicos inducidos por la IL-10 descritos anteriormente. Todo ello indica que ERK es necesario para la función de la IL-10 en los progenitores de la SVZ.

También, hemos realizado abordajes moleculares para determinar la relevancia de STAT3 en este contexto de estudio. Así, abordajes mediante lentivirus que expresan un miRNA que inhibe la expresión de STAT3 han puesto de manifiesto que STAT3 es mediador de las acciones de la IL-10 sobre los progenitores neuronales de la SVZ. (Pereira *et al.*, 2015a; c).

El IFN γ posee una acción dual sobre los progenitores de la SVZ mediante la activación de STAT1

Hemos determinado cómo el IFN γ ejerce un efecto dual sobre los progenitores de la SVZ *in vivo*: mientras inhibe la proliferación de los progenitores, posee un efecto positivo sobre la diferenciación neuronal. No obstante, el efecto antiproliferativo es más intenso que el proneurogénico, de tal forma que el resultado neto final es una reducción en la neurogénesis ante la presencia de esta citocina. Además, hemos descifrado que los efectos del IFN γ sobre los progenitores de la SVZ están mediados a nivel intracelular por la molécula STAT1 (Pereira *et al.*, 2015b).

Efecto conjunto de la IL-10 y el IFN γ sobre los progenitores de la SVZ

En primer lugar hemos observado que la presencia conjunta de estas dos citocinas no interfería en la viabilidad de los progenitores, y que los efectos provocados por su presencia conjunta eran similares a los hallados cuando se presenta individualmente el IFN γ (efectos expuestos en el apartado anterior). Esto nos indica que los efectos producidos por la IL-10 no se manifiestan ante la presencia de IFN γ . Por otro lado, los análisis de las vías de señalización nos han determinado que la vía ERK-STAT3 activada por la IL-10 no se pone de manifiesto ante la presencia de IFN γ ; además la vía Jak2-

STAT1 activada per IFN γ se ve atenuada ante la presencia de la citocina antiinflamatòria IL-10.

Efecto de las citocinas sobre la neurogénesis en modelos animales de lesión cerebral aguda

Hemos observado que el alcance de la lesión es importante para la respuesta de la SVZ en modelos experimentales de daño cerebral agudo (isquemia cerebral y lesión traumática), de tal modo que tiene que ser una lesión importante para dicha respuesta, y que a mayor lesión mayor reacción de la SVZ, si bien una lesión muy grande ocasiona una gran respuesta tisular que dificulta los estudios morfológicos. Mediante el modelo de isquemia cerebral por craneotomía hemos podido determinar que si bien la proliferación celular en la SVZ no se ve alterada, sí existe una reducción en el número de neuroblastos (células DCx+) que salen del hemisferio ipsilateral hacia la lesión (Baena *et al.*, 2015). Por otra parte, en el modelo de lesión traumática realizado en el córtex cerebral no se induce ninguna alteración, ni en la proliferación ni en la neurogénesis de la SVZ.

Finalmente, hemos analizado el efecto de los modelos de isquemia experimental (craneotomía y oclusión intraluminal) en ratones deficientes en IL-10 y STAT-1. En ausencia de IL-10 hemos observado que no se produce ningún efecto aditivo y tanto la proliferación como la diferenciación neuronal es similar a la producida en animales salvajes. Por otro lado, los estudios iniciales con animales deficientes en STAT1, han demostrado que esta molécula no es necesaria para la neurogénesis endógena en situaciones normales (Pereira *et al.*, 2015b).

Neurogénesis en muestras humanas

Cabe señalar que, atendiendo a las características de las enfermedades de pérdida neuronal aguda (rápidas y súbitas), se ha obtenido un número reducido de muestras, debido a la complicación de obtener donantes.

A través de inmunofluorescencias en secciones histológicas hemos observado que el número de células en ciclo celular activo (células KI67+, PCN+), así como el número de neuroblastos (células DCX+, PSANCAM+) se presentan en un número muy bajo, tanto en regiones sanas como lesionadas en todos los casos analizados, y en ningún caso se han determinado diferencias claras entre regiones sanas y lesionadas, si bien

sería necesario un número superior de muestras para obtener conclusiones firmes. Los estudios bioquímicos de las muestras han confirmado estas observaciones, de modo que tampoco han mostrado diferencias significativas entre regiones sanas y afectadas. Nuestros estudios apuntan, de manera similar a los resultados obtenidos en otros laboratorios, a que no hay evidencias sólidas que indiquen que la neurogénesis tiene lugar en el cerebro adulto sano, ni ante lesiones cerebrales agudas. Y señalar que a pesar de ser un resultado aparentemente negativo, es de gran valor por tipota clase de muestras analizadas.

3. Relevancia y posibles implicaciones

Las lesiones cerebrales agudas tienen una rápida evolución y en pocos minutos se puede producir una pérdida importante de tejido cerebral y, con ello, una gran pérdida de células neurales, que pueden ocasionar la desaparición de funciones cerebrales importantes y que pueden incapacitar en diferente medida a los enfermos. Cabe indicar que estas enfermedades neurológicas son de las más representadas en los servicios de neurología de los hospitales en la actualidad y suponen un gran gasto para la Sanidad en la sociedad moderna. Por otra parte, no existe una terapia neuroprotectora, y el único tratamiento, de aplicación exclusiva en los ictus embólicos, es la aplicación de r-TPA para intentar deshacer el coágulo y facilitar la recirculación sanguínea. Además, hasta la actualidad, ninguna de las terapias neuroprotectoras desarrolladas en investigación en modelos animales para proteger a las células frente a un ataque isquémico ha tenido una repercusión positiva en la clínica. Y poco se conoce acerca de los mecanismos neurorreparadores que podrían activarse desde el organismo para favorecer la recuperación de las funciones cerebrales perdidas en estos enfermos. La presente propuesta indica que los mediadores de la inflamación intervienen en la regulación de la neurogénesis; así pues, moduladores farmacológicos de esta podrían ser relevantes para la regeneración tisular tras una lesión cerebral aguda. En segundo lugar, hemos realizado una importante recolección y análisis de muestras humanas de lesiones cerebrales agudas, y a pesar de que nuestras observaciones indican que la neurogénesis endógena no tendría lugar de modo importante en el cerebro adulto humano, no deja de ser una información relevante en este ámbito de investigación.

4. Bibliografía generada

Publicaciones

F. J. Perez-Asensio, U. Perpiñá, A. M. Planas, E. Pozas*

Interleukin-10 regulates progenitor differentiation and modulates neurogenesis in adult brain.

J Cell Sci. 126:4208-19 (2013)

L. Pereira, M. Font-Nieves, C. Van den Haute, V. Baekelandt V, A.M. Planas AM, E. Pozas *

IL-10 regulates adult neurogenesis by modulating ERK and STAT3 activity.

Front Cell Neurosci.25;9:57. (2015a)

L. Pereira, R. Medina, M. Baena, A.M. Planas, E. Pozas*

IFN gamma regulates proliferation and neuronal differentiation by STAT1 in adult SVZ niche

Front Cell Neurosci 13;9:270 (2015b)

M. Baena, I. Pérez-de Puig, E. Martínez, A.M. Planas, E. Pozas*

Neurogenesis in experimental models of acute neuronal injury

Trauma (en prensa, 2016)

Presentaciones en congresos

Pérez-Asensio FJ, Perpiná U, Planas AM, Pozas E

Interleukin-10 modulates neurogenesis on adult SVZ in normal brain

8th FENS (The Federation of European Neuroscience Societies). Barcelona- 2012.

Pereira L, Planas AM, Pozas E

Adult neurogenesis and cytokines

The Stem Cell Niche. Copenhagen-2014.

Pereira L, Planas AM, Pozas E

Adult neurogenesis and cytokines

13th CRG Symposium: Gene Regulation, Stem Cell and Cancer. Barcelona -2015c.