

Papel de las vesículas extracelulares en la propagación y mantenimiento de la neuroinflamación inducida por el consumo de alcohol en la adolescencia

Francesc Ibáñez Cabanes

Resumen

El consumo de altas cantidades de etanol durante en un corto período de tiempo, conocido también como *consumo en atracón*, causa importantes alteraciones en el sistema nervioso central del adolescente, activando la respuesta innata inflamatoria, que puede causar muerte neuronal y alteraciones a nivel estructural y de la conducta. Esta respuesta se produce mediante la activación de los receptores de membrana Toll-like, y específicamente por los receptores TLR4, localizados en células gliales. Cuando dicho receptor se une a su ligando y dimeriza, desencadena una cascada de señalización que finaliza con la translocación al núcleo del factor de transcripción NF- κ B, donde se promueve la síntesis y liberación de citoquinas y quimioquinas pro-inflamatorias al medio extracelular. Entre los mecanismos que podrían participar en la amplificación de la respuesta neuroinflamatoria se encontrarían un tipo de vesículas extracelulares (VEs), denominadas exosomas. Por tanto, la hipótesis que planteamos en esta tesis doctoral es que las *VEs ejercen un papel en el mantenimiento y propagación de la neuroinflamación causada por el consumo de alcohol en forma de atracón*. Los exosomas son micropartículas de 30-150 nm de tamaño con un contenido de carácter bioactivo, formado por proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, y que cumplen un papel importante en la comunicación intercelular. Utilizando VEs de cultivos primarios de astrocitos demostramos que el etanol induce una mayor secreción de VEs y altera los niveles de determinadas proteínas y microARNs (miARNs) asociados con la neuroinflamación. Además, demostramos que cuando las neuronas corticales en cultivo se incuban con VEs

procedentes de los astrocitos WT tratados con etanol, se inducen marcadores inflamatorios en las neuronas y presentan mayores niveles de apoptosis.

Durante el proceso de biogénesis exosomal, se ha demostrado la participación de una familia de enzimas, llamadas esfingomielinasas, que estarían relacionadas con la biogénesis y secreción de las VEs, puesto que la inhibición de estas enzimas disminuye la liberación de VEs al medio intercelular. Estudios previos de este laboratorio han demostrado que el etanol es capaz de activar las esfingomielinasas, aunque el mecanismo por el cual esto ocurre se desconoce. En este proyecto de tesis proponemos que las membranas asociadas a mitocondrias (MAM) son un mecanismo regulador de la secreción de VEs mediada por esfingomielinasas. Mediante el análisis de la actividad de transferencia de fosfolípidos, marcador de actividad de MAM, observamos que el etanol, tanto a nivel tisular como en cultivo, es capaz de activar MAM. Además, demostramos que inhibiendo la actividad tanto de MAM como de las esfingomielinasas, se revierte el aumento en secreción de VEs causado por el tratamiento con etanol. Estos resultados sugieren, que etanol promueve una mayor liberación de VEs mediante la activación de las enzimas esfingomielinasas a través de MAM.

Además, puesto que las VEs tienen la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica (BBB) y tener estabilidad en la circulación, se han considerado que podrían ser candidatos a biomarcadores de situaciones patológicas. Uno de los elementos presentes en las VEs que se ha utilizado recientemente como biomarcador en diversos estudios son los miARNs, que son moléculas de ARN no codificante de cadena corta implicados en la regulación génica. Se ha descrito que, en pacientes con enfermedades neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson u otras, se detectan patrones de expresión diferencial de miARNs en las VEs circulantes, en comparación con pacientes control. Estos resultados y otros abogan por las VEs y su contenido en miARNs como

posibles candidatos a biomarcadores para el diagnóstico de ciertas enfermedades. En este estudio demostramos que el etanol es capaz de alterar los perfiles de miARNs relacionados con la inflamación presentes en VEs circulantes de jóvenes con intoxicación etílica aguda (IEA). Estos efectos presentan diferencias de género, siendo las mujeres/chicas más vulnerables a los efectos del alcohol, ya que la expresión de marcadores inflamatorios en cerebro y en VEs circulantes son más elevadas en chicas que en chicos. Estos resultados ponen de manifiesto a las VEs circulantes y sus perfiles de miARNs como posibles candidatos a biomarcadores de la neuroinflamación asociadas con el abuso de alcohol.