

# La autofagia inducida por trehalosa y metformina tiene un efecto de protección en un modelo celular de la enfermedad de Parkinson

Yareth Gopar-Cuevas<sup>a\*</sup>, Rosa N. Díaz-Pérez<sup>a</sup>, Odila Saucedo-Cárdenas<sup>a,b</sup>, Humberto Rodríguez-Rocha<sup>a</sup>, Aracely García-García<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Terapéutica Antioxidante, Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Madero S/N, C.P. 64460, Monterrey, Nuevo León, México.

<sup>b</sup> Departamento de Genética Molecular, Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Delegación Nuevo León, Instituto Mexicano del Seguro Social, Monterrey, Nuevo León, México.

\* yareth.goparcu@uanl.edu.mx

**Palabras clave:** Enfermedad de Parkinson, autofagia, estrés oxidativo

## Introducción

La Enfermedad de Parkinson (EP) es un desorden neurodegenerativo, cuya incidencia va en aumento. Esta enfermedad se caracteriza por la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la substancia *nigra pars compacta*<sup>1</sup>. En esta patología se incrementan las especies reactivas de oxígeno (ROS) ocasionando estrés oxidativo, se presentan alteraciones a nivel mitocondrial, así como en las vías de degradación de proteínas mediadas por el proteosoma y la autofagia<sup>2</sup>. La autofagia juega un papel importante en el sistema nervioso central para el mantenimiento de las neuronas, ya que al ser inhibida ocurre un proceso de neurodegeneración<sup>3</sup>. Sin embargo, la inducción de la autofagia con rapamicina disminuye tanto el estrés oxidativo como la muerte de las células dopaminérgicas mediada por apoptosis en un modelo de la EP inducido con paraquat<sup>4</sup>. Además de la rapamicina existen otras moléculas que inducen autofagia, como la metformina, cuya vía de acción es dependiente de m-TOR y la trehalosa que lo hace a través de dos vías, una dependiente de m-TOR y una vía alterna<sup>5</sup>. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los inductores de autofagia trehalosa y metformina en un modelo celular de la EP.

## Metodología

Las células dopaminérgicas SH-SY5Y fueron pretratadas durante 1 h con trehalosa (100 mM), metformina (1 y 2.5 mM) o rapamicina (10  $\mu$ M), este último se utilizó como control positivo de la inducción de autofagia. Luego, se adicionó el paraquat (PQ) (0.5 mM) durante 24 o 48 h. La autofagia se evaluó mediante western blot con el marcador LC3-II y mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) para observar los autofagosomas en diferentes grados de maduración. El estrés oxidativo citoplasmático se evaluó por citometría de flujo mediante el uso de dihidroetidio (0.5  $\mu$ M); mientras que en la mitocondria, se evaluó por inmunofluorescencia utilizando MitoTracker Red CM-H<sub>2</sub>XROS (500 nM) y DAPI como marcador nuclear. Además, la hiperoxidación de las peroxirredoxinas (PRXs), que refleja un ambiente altamente oxidante, se analizó a través de inmunofluorescencia con un anticuerpo específico (anti-PrxSO<sub>3</sub>) y se usó DAPI como marcador nuclear. Por último, se evaluó el efecto de los inductores de autofagia sobre la función mitocondrial mediante el ensayo de MTT, y la viabilidad celular con el método de azul tripano.

## Resultados y discusión

Primero, demostramos la inducción de autofagia por trehalosa y metformina en las células dopaminérgicas. Detectamos un incremento del marcador LC3-II, así como un mayor número de autofagosomas en diferentes grados de maduración, en comparación con el control. El PQ inhibe el flujo de la autofagia, el cual fue prevenido por el pretratamiento con metformina y trehalosa, seguido de la exposición a PQ.

Después, evaluamos el efecto de los inductores de autofagia sobre el estrés oxidativo inducido por PQ. La trehalosa no mostró efecto antioxidante en el citoplasma, mientras que la metformina incrementó dicho estrés. Sin embargo, ambos inductores de autofagia disminuyeron el estrés oxidativo mitocondrial mediado por PQ. Además, la trehalosa disminuyó la hiperoxidación de las peroxirredoxinas (PrxSO<sub>3</sub>) inducida por PQ.

Asimismo, la estimulación de autofagia con trehalosa y metformina antes de la exposición a PQ, incrementó la actividad mitocondrial y tuvo un efecto de protección sobre la muerte de las células dopaminérgicas.

## Conclusiones

La inducción de autofagia con trehalosa y metformina tiene efecto antioxidante sobre el estrés oxidativo inducido por PQ, y ejercen un efecto de protección sobre las células dopaminérgicas al mejorar la actividad mitocondrial y protegerlas de la muerte en el modelo celular de la EP. Por lo tanto, ambos inductores de autofagia tienen un potencial prometedor para prevenir el desarrollo de la EP.

## Referencias

### Artículos:

1. Dauer, W.; Przedborski, S. *Neuron*. **2003**, 39, 889-909.
2. Henchcliffe, C.; Beal, M. F. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **2008**, 4, 600-609.
3. Hara, T.; Nakamura, K.; Matsui, M.; et al. *Nature* **2006**, 441, 885-889.
4. Ramirez-Moreno, MJ.; Duarte-Jurado, AP.; Gopar-Cuevas, Y.; et al. *Mol Neurobiol.* **2019**, 56, 8136-8156.
5. Levine, B.; Packer, M.; Codogno, P. *J. Clin. Invest.* **2015**, 125, 14-24.