



UBA
Universidad de Buenos Aires



Facultad de Ciencias
VETERINARIAS
Universidad de Buenos Aires

IX JORNADAS DE JÓVENES INVESTIGADORES

**6 y 7 de junio de 2019
Buenos Aires – ARGENTINA**



EFFECTO NEUROPROTECTOR DE FK506 FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO.

Daneri-Becerra C¹, Rosbaco, ME¹, Galigniana MD^{1,2}, Ramos-Hryb AB¹

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME/CONICET). Laboratorio de Receptores Nucleares, C.A.B.A. (1428).²Departamento de Química Biológica de la FCEN-UBA, Ciudad Universitaria (1428).

Las inmunofilinas son proteínas que unen drogas inmunosupresoras. Las que unen ciclosporina A (CsA) son las ciclofilinas (ej: CyPA), y las que reconocen al macrólido FK506 son las FKBP5 (FK506-Binding Proteins), una subfamilia a la que pertenecen FKBP51 (51-kDa) y FKBP52 (52-kDa). Ambas FKBP5 fueron descritas en los heterocomplejos de receptores esteroidales con Hsp90, Hsp70 y p23. FKBP51 y FKBP52 poseen 60% de similitud y 75 % de homología. Estudios previos del laboratorio evidenciaron que FK506 posee efectos reguladores sobre la neurodiferenciación vía ambas FKBP5, tal que la sobreexpresión de FKBP52 o el silenciamiento de FKBP51 promovieron la neuritogénesis. Análogamente, el daño axonal de las células se revirtió con FK506, siendo acelerado al sobreexpresarse a FKBP52 o por *knock-down* de FKBP51. Ello sugiere que estas inmunofilinas podrían tener acciones neuroprotectoras o neuroregeneradoras ante situaciones adversas como, p.ej., el estrés oxidativo asociado a enfermedades neurodegenerativas, accidentes cerebro-vasculares o sobreexcitación neuronal. En este estudio, se analizó si tratamientos con FK506 pueden prevenir y/o revertir los efectos deletéreos asociados al estrés oxidativo del H₂O₂. Células N2a (neuroblastoma murino) indiferenciadas fueron incubadas en medio DMEM/OptiMEM (sin suero) con 1 μM FK506, observándose la rápida generación de neuritas. Cortes de 250 μm de espesor obtenidos de corteza prefrontal de ratones macho Balb/C (60 d) se incubaron en medio especial sobre 4% agar. Luego de 72 hs de estabilización del tejido, los explantes se incubaron por 4 hs con 200 μM H₂O₂. Se evidenció la inducción de Hsp90, Hsp70, FKBP52 y p23, lo cual se previno por pretratamiento (1 h) con 1 μM FK506. Respecto a FKBP51, los controles mostraron tres bandas correspondientes a sus consabidas isoformas fosforiladas, mientras que los explantes tratados con H₂O₂ mostraron sólo a la banda menos fosforilada. El pretratamiento con FK506 protegió a las isoformas fosforiladas, mostrando el mismo patrón de isoformas que el control. A su vez, las muestras tratadas con FK506 mostraron solamente la banda fosforilada intermedia, sugiriendo que esta isoforma (reactiva con anticuerpos anti-P-Tyr) es la favorecida en el mecanismo de acción de la droga. Para evidenciar efectos *in vivo*, se generó un cuadro de hipoxia relativa por inyección estereotáxica de 2 μl 150 mM CoCl₂ en la corteza prefrontal del hemisferio derecho, utilizándose el contralateral como control. La expresión de chaperonas se mostró inducida en lisados tisulares obtenidos 24 h después, lo que fue parcialmente prevenido por pretratamiento (24 h) con 10 mg/Kg FK506. Los efectos sobre el equilibrio motor se estudiaron luego de 21 días (FK506 inyectado cada 3 días) por Rotarod y campo abierto (Anymaze), observándose una mejor y más rápida recuperación en los ratones tratados con FK506. Este es el primer estudio que evidencia un efecto neuroprotector de FK506 frente al estrés oxidativo.