

Laminina como biomarcador de la alteración de la barrera hematoencefálica bajo condiciones neuroinflamatorias provocadas por accidente cerebrovascular *



Zapata-Acevedo J.F.¹, García V.², Cabezas R³, Losada Barragan M.³, Vargas-Sánchez K.², González-Reyes R¹.



1. Grupo de Investigación en Neurociencias (NeUROS), Centro de Neurociencia Neurovitae-UR, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, 111711, Colombia; rodrigo.gonzalez@urosario.edu.co. (R.E.G.-R.)

2. Grupo de Neurociencia Translacional, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá D.C., 111711 Bogotá, Colombia; j.vargass@uniandes.edu.co (K.V.-S.)

3. Grupo de Biología celular y funcional e Ingeniería de moléculas, Departamento de Biología, Universidad Antonio Nariño, Sede Bogotá D. C., 110231, Colombia; monica.losada@uan.edu.co (M.L.-B.)

* Registrado en prospero como "Analysis of laminin as biomarker of blood-brain barrier disruption under neuroinflammation"

RESUMEN

El evento cerebrovascular isquémico es una de las principales causas de mortalidad. La oclusión de un vaso arterial conduce a ausencia de oxígeno y nutrientes, asimismo ocasiona cambios estructurales y funcionales de la barrera hematoencefálica (BHE) acompañados por neuroinflamación. La neuroinflamación se asocia con alteraciones en las proteínas de la lámina basal, y en las uniones estrechas de las células endoteliales. Las lamininas constituyen el principal componente de colágeno de las membranas basales, y están involucradas en la regulación de la BHE. Se ha demostrado que la actividad de la laminina se ve comprometida durante los procesos neuroinflamatorios. Sin embargo, sus posibles implicaciones en la integridad de la BHE durante eventos cerebrovasculares no se han esclarecido. Esta revisión sistemática busca analizar los cambios funcionales en la laminina inducidos por la neuroinflamación, en modelos animales de evento cerebrovascular. Se incluyeron estudios que evaluaron cambios de neuroinflamación, BHE y laminina. Todos los estudios mostraron una respuesta neuroinflamatoria significativa, cambios en la BHE y posteriores alteraciones de laminina. Se encontró que la expresión de laminina se redujo significativamente en estudios con modelos experimentales de isquemia transitoria o hipoxia, mientras que, en estudios de lesión permanente, la expresión de laminina aumentó significativamente. Estos cambios en la expresión de laminina podrían servir como un posible biomarcador de alteraciones de la BHE según el compromiso cerebrovascular y la respuesta neuroinflamatoria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estrategia de búsqueda

Se realizaron búsquedas en las siguientes bases de datos: PubMed, Scopus y Web of Science (WoS). Estas bases de datos se exploraron sin límites de fecha para los artículos publicados hasta el 16 de septiembre de 2020. Usamos una combinación de los siguientes criterios de búsqueda clave (SC):

SC1: Neuroinflammation, neuroinflammatory

SC2 Blood-brain barrier, Central Nervous System, permeability, disruption

SC3 Murine, Rat, Mouse, Mice, animal

SC4 Laminin

(Este poster se enfoca únicamente en accidente cerebrovascular y hace parte de un artículo sistemático que está en proceso de publicación registrado en PROSPERO CRD42020212547 en cuyos resultados incluyen otras enfermedades e inducciones de neuroinflamación)

Criterio de elegibilidad

Se incluyeron estudios experimentales *in vivo* en modelos animales, escritos en inglés y disponibles en texto completo. No se incluyeron estudios *in vitro*, *in silico* o en humanos. Además, se excluyeron revisiones de literatura, resúmenes de congresos, editoriales y tesis. Se incluyeron modelos de accidente cerebrovascular. Estos, debían reportar marcadores de BHE o de permeabilidad a la BHE, marcadores de neuroinflamación y medición de laminina. Los artículos que cumplieron con los criterios de elegibilidad se revisaron en texto completo y se evaluaron en busca de sesgos utilizando la herramienta de riesgo de sesgo (RoB) del Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE), y para la evaluación de la calidad, usando el enfoque de Collaborative Approach to Meta Analysis and Review of Animal Data from Experimental Studies (CAMARADES), para estudios *in vivo*.

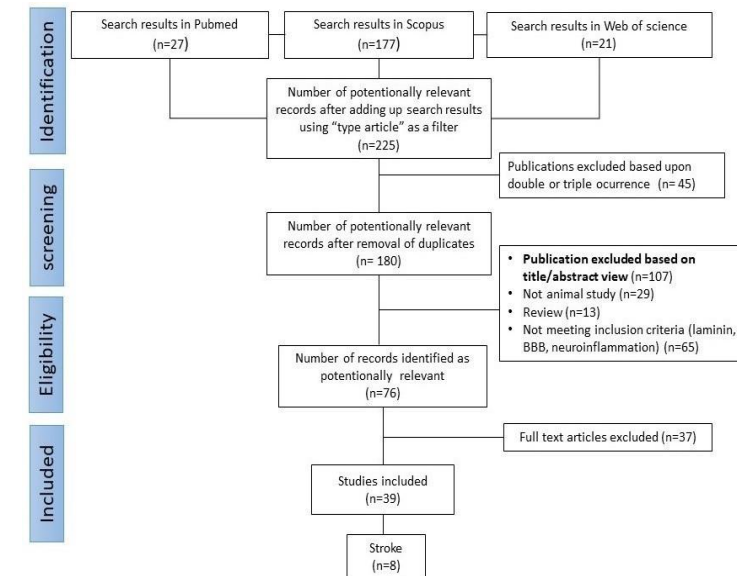


Diagrama de flujo del proceso de selección de estudios. 39 estudios fueron incluidos de los cuales ocho estudios realizados en diferentes modelos animales de accidente cerebrovascular o isquemia cumplieron los criterios de inclusión y se incorporaron en esta revisión sistemática.

RESULTADOS

Author (year)	Animal models of ischemia	Laminin		BBB		BBB permeability		Neuroinflammation		
		Time	Changes	Time	Markers	Time	Markers	Time	Markers	
McColl BW et al. (2008)	tMCAO for 30 min	4, 8, 24h	↓ = No changes in vessel-associated laminin but loss of neuronal laminin at 24h.	4, 8, 24h	Claudin-5 ↓; Occludin =	↓	--	8-24h	MMP-9 ↑	
Ji K, Tsirka SE. (2012)	pMCAO	6-12h	↑ in pMCAO (β and γ subunits) but not in COX-2 KO mice.	--	--	--	6-12h; 1, 24-48h	VEGF; CD45 ↑	6h	TLR9, CD14 ↑
Steiner E et al. (2012)	left tMCAO for 30 min	12, 24, 48h	↓ α2 and α4 isotypes decreased at 24 and 48h. No changes at 12h.	24h	Claudin-5 =	=	--	--	24, 48h	β-DG ↓
Lee JY et al. (2014)	Transient bilateral occlusion 15 min.	7d	↓ α4 in hippocampus.	7d	Occludin ↓	↓	7d	EVB ↑	7d	MMP-2, MMP-9, TNF-α, IL-1β, IL-6, COX-2, iNOS, Gro-α (CXCL-1), MCP-1, MIP-1α, MIP-1β (CCL-4), and MIP-2α (CXCL-2) ↑
Boroujerdi A et al. (2015)	Chronic hypoxia model	7d hypoxia, 7 and 14d post hypoxia	↓ increased fragmentation of vascular laminin in WT at 7d hypoxia, and at 7d and 14d post hypoxia vs normoxia.	14d hypoxia	Claudin-5 expression in WT ↑	↓	--	--	2d hypoxia and 7-14d post hypoxia	MMP-9 levels ↑
Cisbani G et al. (2018)	pMCAO	48h-7d	↑ at 7d in WT, CCR2 KO and CX3CR1 KO.	--	--	--	48h-7d	CD45 at 48h and 7d and 7/4+ at 48 h =	7d	TREM2 =, TLR2 =, CD68 =
Wang J et al. (2018)	Right tMCAO for 60 min.	3d	↓ in tMCAO	3d	ZO-1 ↓	↓	6 and 72h	EVB ↑	3d	TNF-α, IL1β, MMP-9 ↑
Kim DY et al. (2020)	Left tMCAO for 90 min.	16h	↓ in tMCAO	--	--	--	16h	EVB ↑	16h	β-DG ↓

Modelo utilizado para establecer la interrupción de la perfusión sanguínea

Oclusión transitoria o hipoxia	Oclusión permanente
<p>↓ Expresión de laminina.</p> <ul style="list-style-type: none"> Se ven afectadas las subunidades α de la laminina, en particular α2 y α4. Elevada actividad y expresión de la MMP-9 relacionada con la reducción de las proteínas de la membrana basal. Además de activación de citocinas y quimocinas proinflamatorias. Cambios estructurales y funcionales de la BHE: degradación de occludinas claudina-5 y zonula occludens-1. 	<p>↑ Expresión de laminina.</p> <ul style="list-style-type: none"> Se ven afectadas las subunidades β y γ de laminina. Infiltración de leucocitos y activación microglial. Cambios estructurales y funcionales de la BHE: permeabilidad, infiltración de leucocitos.

De los ocho estudios seleccionados, dos utilizaron un modelo de oclusión permanente de la arteria cerebral media, cinco indujeron isquemia transitoria, y un estudio indujo hipoxia crónica. Todos los estudios mostraron una respuesta neuroinflamatoria, alteraciones en la BHE y cambios de expresión de la laminina. Los cambios de laminina dependieron del tipo de modelo utilizado para establecer la isquemia. La laminina se redujo en todos los estudios que utilizaron modelos experimentales de isquemia transitoria (tMCAO) o hipoxia afectando principalmente a las subunidades α. Por otro lado, en los estudios de oclusión de la arteria media de forma permanente (pMCAO), la expresión de laminina aumentó en respuesta al daño y la neuroinflamación afectando a las subunidades β y γ.

CONCLUSIÓN

Los cambios en la expresión de laminina podrían servir como un posible biomarcador de alteraciones de la BHE según el compromiso cerebrovascular y la respuesta neuroinflamatoria. Es necesaria una exploración más profunda de los subtipos de laminina (411, 511, entre otros), al igual que de las diferentes subunidades en futuros estudios de evento cerebrovascular.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Minciencias el apoyo económico al proyecto con código de registro CT-672-2018 (código 123377757091), en la convocatoria 777-2017 para proyectos de ciencia, tecnología e innovación en salud 2017. Proyecto de Profesores Asistentes FAPA KARINA VARGAS, - [P20.263622.005 / 01]. Universidad de los Andes, Facultad de Medicina.

Contacto: juanfe.zapata@urosario.edu.co