



El bloqueo genético del receptor Sigma-1 previene la alodinia mecánica y podría atenuar la pérdida de fibras intraepidérmicas inducidas por paclitaxel

A. Artacho-Cordón^{1,2,3,4}, C. Ureña^{1,2}, L. Romero^{1,2}, E. Fernández-Segura^{2,5}, JM. Baeyens^{1,2,3}, FR. Nieto^{1,2,3}

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada. 2. Instituto de Neurociencias, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada, Granada. 3. Instituto de Investigaciones Biosanitarias IBS GRANADA, Granada. 4. Instituto Fundación Teófilo Hernando, Madrid. 5. Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada.

Introducción: El receptor sigma-1 ($R\sigma_1$) es una chaperona cuyo bloqueo produce efectos antinociceptivos en diversos modelos de dolor neuropático, entre ellos los inducidos por antineoplásicos como el paclitaxel^{1, 2}. El dolor neuropático inducido por paclitaxel está asociado a la pérdida de fibras intraepidérmicas³. Sin embargo, se desconoce si la reducción del dolor neuropático inducido por paclitaxel, gracias del bloqueo del $R\sigma_1$, se asocia también con el restablecimiento de la densidad de fibras intraepidérmicas.

Material y Métodos: Se usaron ratones CD-1 hembras WT y desprovistos del $R\sigma_1$ (σ_1 -KO) que fueron tratados con paclitaxel (7 mg/kg durante 5 días consecutivos; I.V.). La alodinia mecánica fue evaluada con filamentos de von Frey (*up and down*), antes y varios días después de la administración de paclitaxel. El análisis histológico se realizó sobre muestras obtenidas con "punch" de biopsia de las patas traseras en animales naïve, y en animales tratados a día 10 y 17 (n=3-8). La densidad de fibras nerviosas intraepidérmicas (DFNIE) (marcadas con el anticuerpo PGP 9.5.) se expresó como el cociente entre el número de fibras identificadas y la superficie medida en mm (DFNIE/mm). Los datos se expresaron como media \pm SEM, y la significación estadística se determinó usando ANOVA de una vía, seguida del test de Bonferroni. Las diferencias se consideraron significativas si $p < 0.05$.

Objetivos: Investigar si el bloqueo genético del $R\sigma_1$ previene la pérdida de fibras intraepidérmicas en paralelo al alivio del dolor neuropático, en un modelo de neuropatía inducida por paclitaxel.

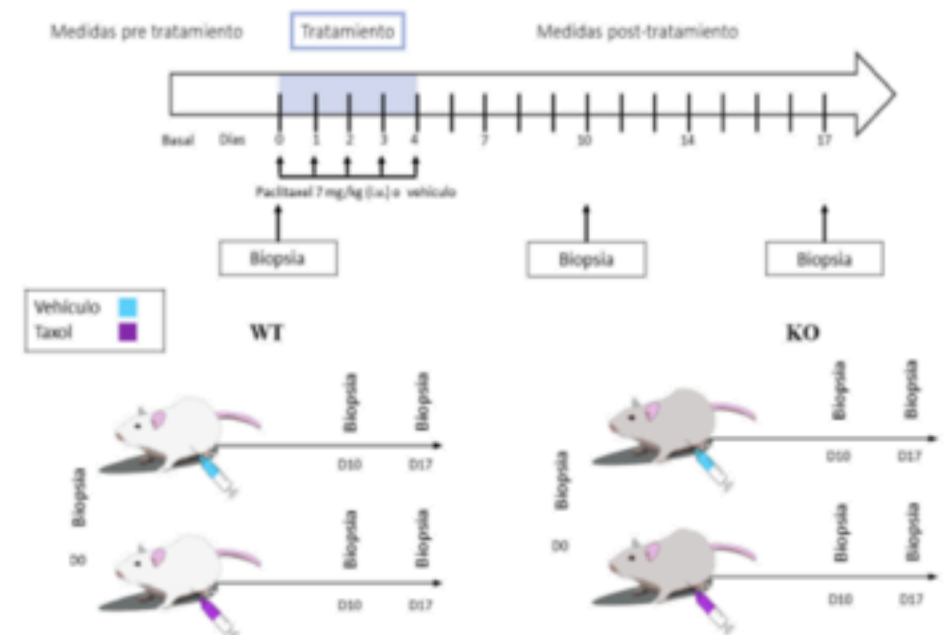


Fig1. Protocolo de inducción de neuropatía inducida por Taxol y recogida de muestras.

Resultados

Alodinia mecánica

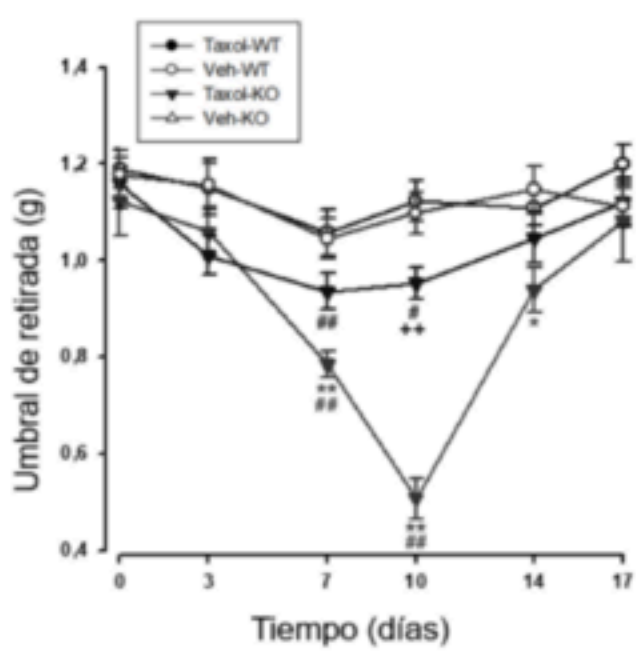
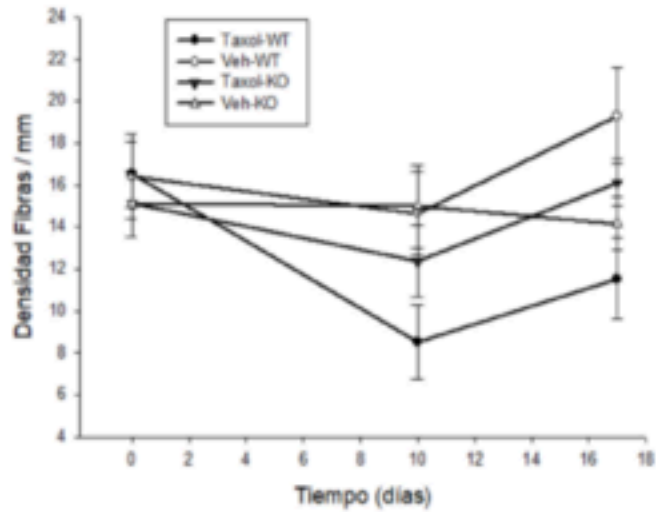


Fig2. Efecto de la inactivación genética sigma-1 KO en el modelo de dolor neuropático inducido por Taxol®. Efecto del tratamiento con Taxol o vehículo en el umbral de retirada en los diferentes grupos experimentales. Los animales fueron tratados diariamente entre los días 1 y 5 con una inyección i.v. de Taxol (7mg/kg). Cada punto y su barra horizontal representan la media \pm EEM. Los datos se analizaron con un ANOVA de doble vía seguido del test de Bonferroni. Las diferencias fueron estadísticamente significativas con respecto a tiempo 0 # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$; con respecto vehículo * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y con respecto Taxol-WT + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$

Los animales WT tratados con paclitaxel desarrollaron alodinia mecánica, la cual estaba atenuada en los ratones σ_1 -KO (Fig2)

Comparación global



Taxol

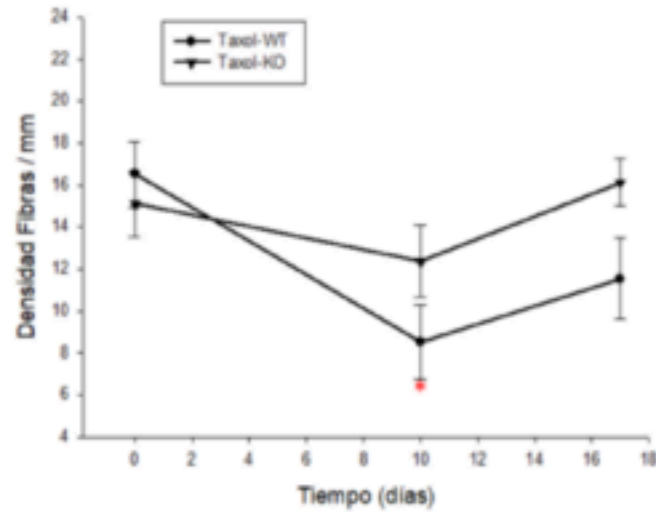


Fig3. Comparación de la densidad de fibras nerviosas intraepidérmicas (DFNIE) de biopsias cutáneas obtenidas de ratones wild type (WT) y con bloqueo genético del receptor σ_1 (sigma-1 KO) en los días 0, 10 y 17 posteriores a la administración del vehículo o Taxol®.

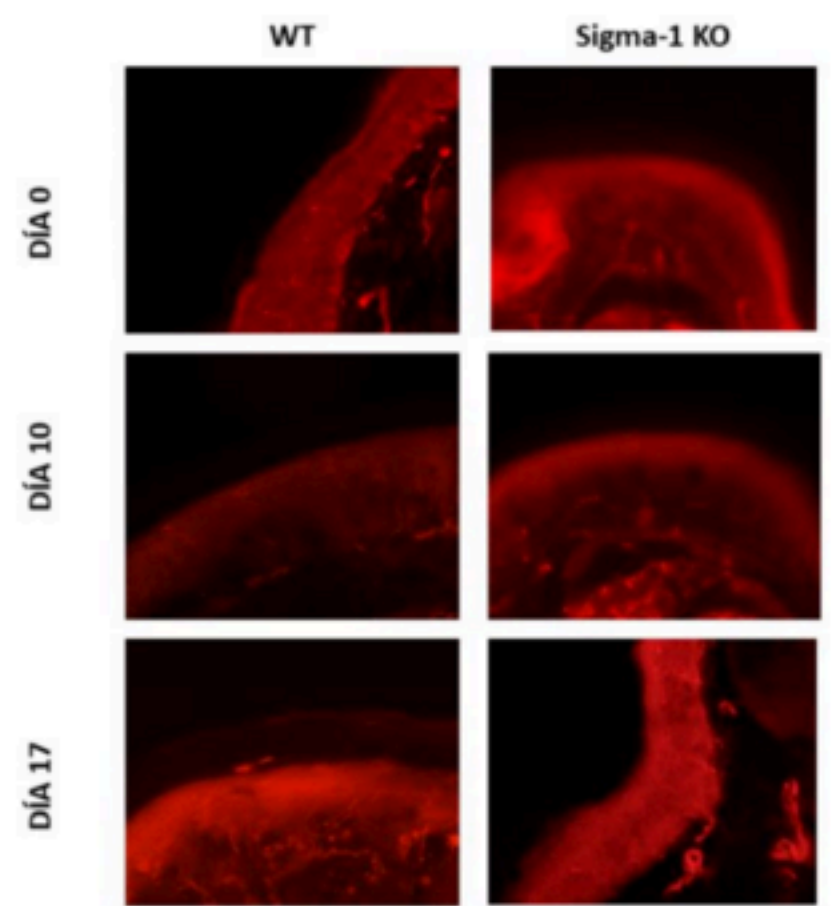


Fig5. Secciones de biopsia cutánea procesadas para inmunofluorescencia con el marcador panneuronal PGP 9.5 para ratones WT y KO tratados con Taxol en los días 0, 10 y 17.

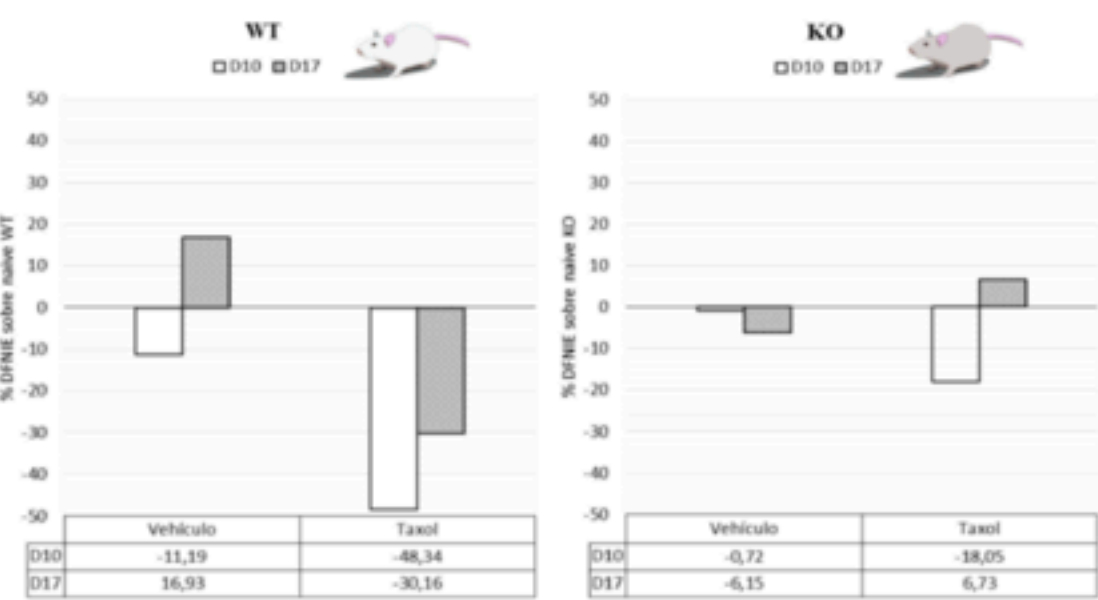


Fig4. Análisis porcentual de DFNIE en animales WT y KO. Los valores representan la diferencia porcentual de la DFNIE de los distintos grupos experimentales sobre el grupo naïve de cada grupo.

EL BLOQUEO GENÉTICO DEL $R\sigma_1$ ATENÚA LA ALODINIA MECÁNICA Y MUESTRA TENDENCIA EN REDUCIR LA PÉRDIDA DE FIBRAS INTRAEPIDÉRMICAS INDUCIDOS POR PACLITAXEL

Se observa una reducción significativa de la DFNIE en los animales WT tratados con paclitaxel a día 10 post-tratamiento con respecto a los WT naïve (16.50 ± 1.57 vs 8.52 ± 1.78 ; $p < 0.05$) (Fig3-5).

Esta reducción fue mucho menor en el grupo σ_1 -KO, aunque no significativa (15.09 ± 1.55 vs 12.37 ± 1.76 ; $p=0.276$) (Fig3-5).

Al comparar la DFNIE entre los ratones WT y σ_1 -KO tratados con paclitaxel, no se hallaron diferencias significativas, aunque sí había una clara tendencia en los animales σ_1 -KO a presentar una mayor DFNIE (Fig3-5).

Bibliografía:

- Merlos M, Romero L, Zamanillo D, Plata-Salamán C, Vela JM. Sigma-1 Receptor and Pain. En: Kim FJ, Pasternak GW, editores. Sigma Proteins: Evolution of the Concept of Sigma Receptors. Cham: Springer International Publishing; 2017 p. 131-61. (Handbook of Experimental Pharmacology). doi.org/10.1007/164_2017_9
- Nieto FR, Cendán CM, Sánchez-Fernández C, Cobos EJ, Entrena JM, Tejada MA, Zamanillo D, Vela JM, Baeyens JM. Role of Sigma-1 Receptors in Paclitaxel-Induced Neuropathic Pain in Mice. The Journal of Pain. November 2012;13(11):1107-1121. DOI:10.1016/j.jpain.2012.08.006
- Singhmar P, Huo X, Li Y, Dougherty PM, Mei F, Cheng X, et al. An orally active Epac inhibitor reverses mechanical allodynia and loss of intraepidermal nerve fibers in a mouse model of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Pain. mayo de 2018;159(5):884-93.

El tratamiento con paclitaxel produce pérdida de fibras nerviosas intraepidérmicas coincidiendo con el punto de mayor expresión de la alodinia

Proyecto financiado por la Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P11-CTS-7649 y grupo de investigación CTS-109.

Contacto: A. Artacho-Cordón; e-mail tartacho@ugr.es