

Resumen

Los animales knock out para la proteína de sustrato de receptor insulínico 2 (IRS2) y aromatasa P450 desarrollan procesos neurodegenerativos que podrían implicar a la prolactina (PRL) y modificar la expresión de Tau hipocámpales. Se plantea un estudio preliminar que analiza mediante doble marcaje inmunocitoquímico con microscopía confocal y el análisis densitométrico mediante un gradiente de intensidad de reacción y el estudio de los niveles de gris en las neuronas granulares del Giro Dentado (GD) y en la piramidales de CA1 y CA3, los cambios en la expresión inmunocitoquímica de PRL y Tau en el GD.

La deficiencia de IRS2 disminuye la presencia de prolactina en el giro dentado y la región CA1 del hipocampo del ratón, mientras que la aumenta en la región CA3. La deficiencia de aromatasa P450 disminuye, aún más que la ausencia de IRS2, la presencia de prolactina en el giro dentado y la región CA1 del hipocampo, sin modificarla en la región CA3. La deficiencia de IRS2 provoca un aumento en la expresión inmunocitoquímica de Tau en todas las regiones del hipocampo. A excepción de la región CA3, donde aumenta, en el resto de las regiones del hipocampo o no se modifica o disminuye la presencia de Tau ante la ausencia de aromatasa P450.

Resultados

CA1

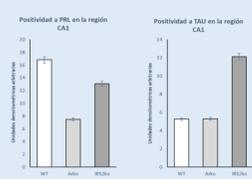
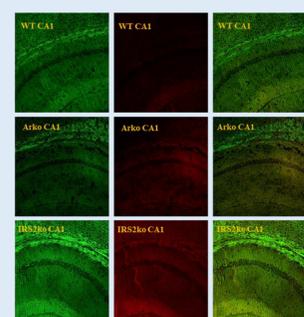


Figura 2: Intensidad de reacción a Prolactina (izquierda) y a Tau (derecha) en la región CA1 del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa; IRS2ko: Animales knockout para IRS2).

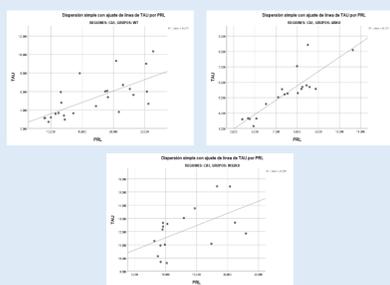


Figura 3: Correlaciones entre la inmunoexpresión de Prolactina y la proteína Tau en los distintos grupos de estudio para la región CA1 del hipocampo. (WT: Wild Type (arriba a la izquierda); Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa (arriba a la derecha); IRS2ko: Animales knockout para IRS2 (abajo)).

CA3

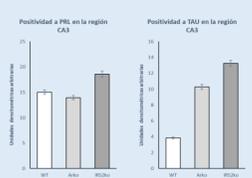
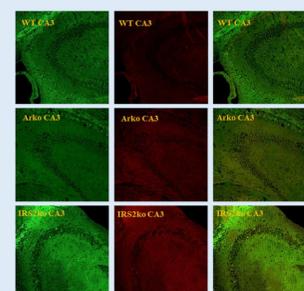


Figura 4: Intensidad de reacción a Prolactina (izquierda) y a Tau (derecha) en la región CA3 del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa; IRS2ko: Animales knockout para IRS2).

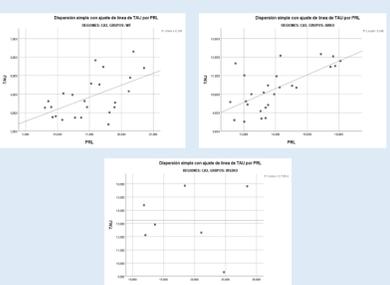


Figura 5: Correlaciones entre la inmunoexpresión de Prolactina y la proteína Tau en los distintos grupos de estudio para la región CA3 del hipocampo. (WT: Wild Type (arriba a la izquierda); Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa (arriba a la derecha); IRS2ko: Animales knockout para IRS2 (abajo)).

Giro Dentado dorsal

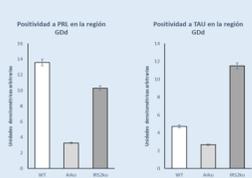
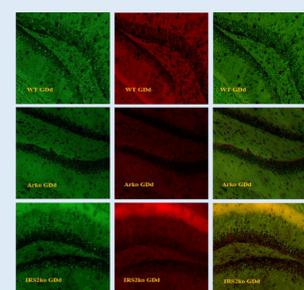


Figura 7: Intensidad de reacción a Prolactina (izquierda) y a Tau (derecha) en la región dorsal del Giro Dentado del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa; IRS2ko: Animales knockout para IRS2).

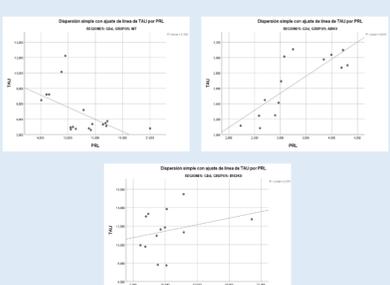


Figura 8: Correlaciones entre la inmunoexpresión de Prolactina y la proteína Tau en los distintos grupos de estudio para el Giro Dentado dorsal del hipocampo. (WT: Wild Type (arriba a la izquierda); Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa (arriba a la derecha); IRS2ko: Animales knockout para IRS2 (abajo)).

Materiales y métodos

Animales

Ratones macho IRS2^{-/-}, AR^{-/-} (2-3 meses) y ratones wild type (WT) (como controles) fueron usados para este estudio (n = 5 ratones por grupo).

Inmunohistoquímica

El estudio inmunohistoquímico se realizó por inmunofluorescencia, utilizando diferentes anticuerpos destinados a la detección de PRL (Abcam ab183967) y de Tau (Novocastra NCL-Tau-2). Los anticuerpos secundarios utilizados fueron GAR-Alexa488 (Abcam ab150077) y GAM-Cy3 (Abcam, ab97035) respectivamente.

Densitometría

Se cuantificó el nivel de gris medio de reacción para PRL y Tau de los estratos piramidales de la asta de Ammón (CA1 y CA3b) y granular del giro dentado, analizando por separado el pico y las zonas dorsal y ventral del giro dentado y las regiones CA1 y CA3b del asta de Ammón.

Análisis estadístico

Los valores obtenidos para cada parámetro se procesaron estadísticamente con el software SPSS y se compararon las diferencias observadas entre los valores medios, aceptándose valores de p < 0,05 como significativos para la prueba ANOVA, utilizando como prueba post hoc el test de Tukey. Los resultados se expresan como medias aritméticas ± error estándar de la media.

Giro Dentado ventral

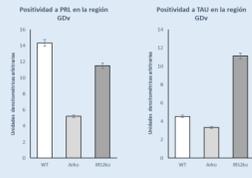
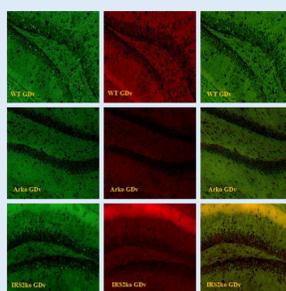


Figura 10: Intensidad de reacción a Prolactina (izquierda) y a Tau (derecha) en el Giro Dentado ventral del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa; IRS2ko: Animales knockout para IRS2).

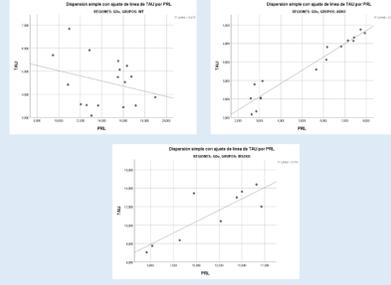


Figura 11: Correlaciones entre la inmunoexpresión de Prolactina y la proteína Tau en los distintos grupos de estudio para el Giro Dentado ventral del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa (arriba derecha); IRS2ko: Animales knockout para IRS2 (abajo)).

Pico del Giro Dentado

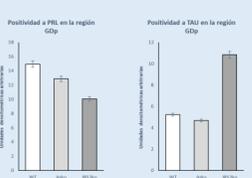
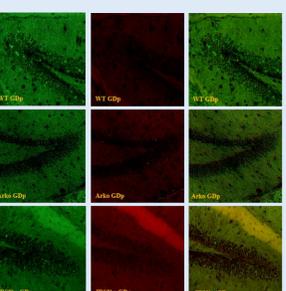


Figura 13: Intensidad de reacción a Prolactina (izquierda) y a Tau (derecha) en el pico del Giro Dentado del hipocampo. (WT: Wild Type; Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa; IRS2ko: Animales knockout para IRS2).

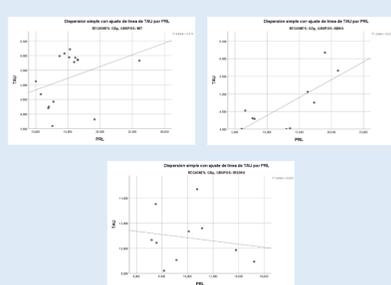


Figura 14: Correlaciones entre la inmunoexpresión de Prolactina y la proteína Tau en los distintos grupos de estudio en el pico del Giro Dentado. (WT: Wild Type (arriba izquierda); Arko: Animales knockout para la enzima aromatasa (arriba derecha); IRS2ko: Animales knockout para IRS2 (abajo)).

Conclusiones

- La deficiencia de IRS2 disminuye la presencia de prolactina en el GD y la región CA1 del hipocampo del ratón, mientras que la aumenta en la región CA3. La deficiencia de aromatasa P450 disminuye aún más la presencia de prolactina en el GD y la región CA1 del hipocampo, sin modificarla en la región CA3. Estos hallazgos sugieren que los mecanismos reguladores de la neuroprotección relacionados con la insulina y los neuroestrógenos y activados por la prolactina responden de forma diferente en la región CA3 que en el resto del hipocampo.
- La deficiencia de IRS2 provoca un aumento en la expresión inmunocitoquímica de Tau en todas las regiones del hipocampo, lo que sugiere que la insulina y el IGF-1 juegan un papel relevante en la inhibición de la presencia hipocámpal de Tau.
- A excepción de la región CA3, donde aumenta, en el resto de las regiones del hipocampo o no se modifica o disminuye la presencia de Tau ante la ausencia de aromatasa P450, lo que sugiere que los neuroestrógenos sólo intervienen disminuyendo la expresión de Tau en CA3.

Comentario final: Parece claro que los procesos neurodegenerativos que se dan en el cerebro de los animales IRS2^{-/-} y AR^{-/-} se acompañan de cambios en la PRL y la Tau hipocámpales. Estudios que analicen la hiperfosforilación de Tau y los mecanismos que la producen, cambios en la síntesis hipocámpal de PRL y los mecanismos implicados en su regulación, y si, en el tiempo, estos cambios se acompañan o no de la aparición de placas de β-amiloide, correlacionado los hallazgos obtenidos, completarán en el futuro este estudio preliminar.

Bernard, V., Young, J., & Binart, N. (2019). Prolactin — a pleiotropic factor in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(6), 356-365. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0194-6>

Carretero, J., Sánchez-Robledo, V., Carretero-Hernández, M., Catalano-Iniesta, L., García-Barrado, M. J., Iglesias-Osma, M. C., & Blanco, E. J. (2019). Prolactin system in the hippocampus. *Cell and Tissue Research*, 375(1), 193-199. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2858-2>

Morales, T., Lorenson, M., Walker, A. M., & Ramos, E. (2014). Both prolactin (PRL) and a molecular mimic of phosphorylated PRL, S179D-PRL, protect the hippocampus of female rats against excitotoxicity. *Neuroscience*, 258, 211-217. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.11.015>

Vergara-Castañeda, E., Grattan, D. R., Pasantes-Morales, H., Pérez-Domínguez, M., Cabrera-Reyes, E. A., Morales, T., & Carbón, M. (2016). Prolactin mediates neuroprotection against excitotoxicity in primary cell cultures of hippocampal neurons via its receptor. *Brain Research*, 1636, 193-199. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.02.011>