

La enfermedad **del lupus** **neuropsiquiátrico:**

¿es posible entender
esta enfermedad
investigando
en ratones?

Flavio Sandoval García
Daniel González Inostroz
Beatriz Teresita Martín Márquez

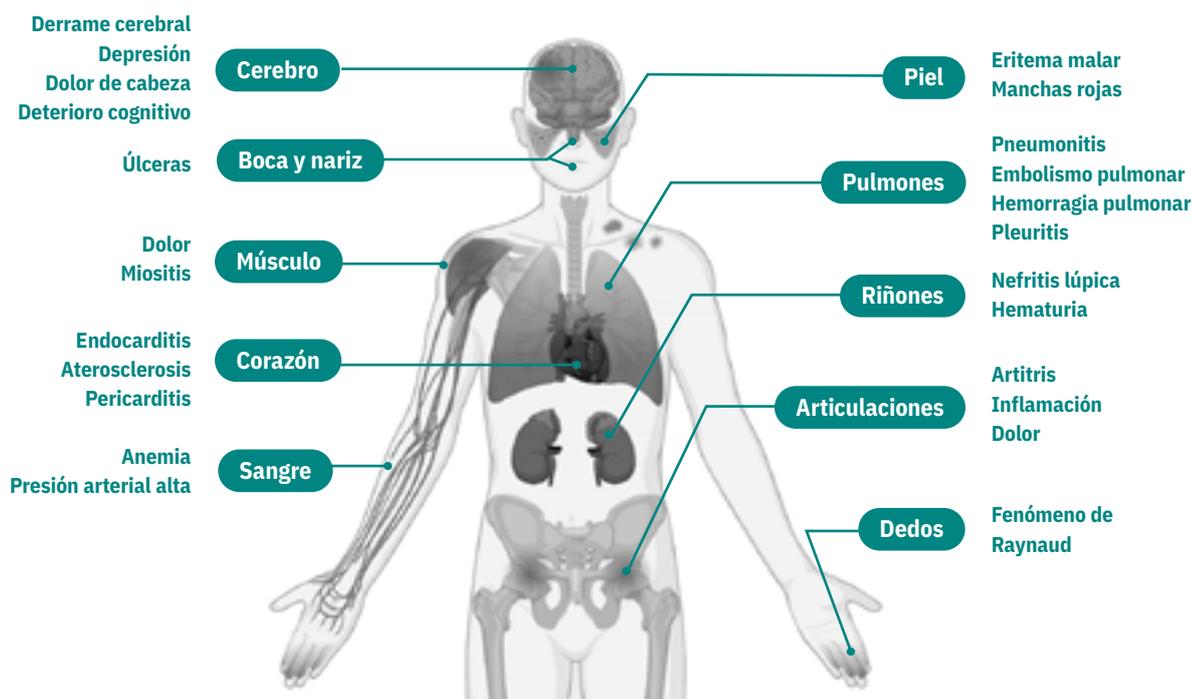


Figura 1. Manifestaciones clínicas del lupus eritematoso sistémico (LES).

¿Qué es el lupus eritematoso sistémico?

El lupus eritematoso sistémico (LES) es un trastorno autoinmune crónico en el cual el sistema inmune ataca a sus propias células y tejidos mediante la producción de autoanticuerpos, que se manifiesta por inflamación y daño orgánico permanente. El LES afecta a personas del sexo femenino en etapas entre la pubertad y la menopausia, por lo que la participación de los estrógenos son importantes como desencadenantes de este padecimiento. El origen del LES es desconocido, aunque se le considera multifactorial y se sugiere que se encuentran involucrados factores genéticos, hormonales, inmunológicos y ambientales.

Dentro de las principales manifestaciones clínicas del LES se encuentran dolor e inflamación de las articulaciones, enrojecimiento y erupción en la piel, inflamación de la membrana que reviste al corazón y pulmones, alteraciones hematológicas, inflamación de los riñones (nefritis lúpica) y trastornos focales y difusos del sistema nervioso central y periférico conocidos como lupus neuropsiquiátrico (LESNP) (figura 1) [1].

Lupus neuropsiquiátrico (LESNP)

El LESNP es una afectación reportada en más del 75% de los pacientes y abarca una gran variedad de desórdenes psiquiátricos (depresión, psicosis, ansiedad, alteraciones de humor, disfunción cognitiva, déficit de memoria, delirio y estados confusionales agudos). Aunque el origen del LESNP aún es desconocido, algunos estudios sugieren que la presencia de autoanticuerpos dirigidos hacia los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) en suero y en líquido cefalorraquídeo pueden ser el resultado de su producción a nivel cerebral por moléculas del sistema inmune. Por otra parte, se ha reportado que los anticuerpos anti-DNA de cadena doble (anti-dsDNA) y los anti-NMDA pueden pasar de la circulación sanguínea al cerebro a través de la disrupción de la barrera hematoencefálica, y que los anti-dsDNA pueden causar una reacción cruzada con un pentapéptido conocido como DWEYS, que se encuentra presente en las subunidades *NR2A/B* del receptor NMDA, y producir muerte neuronal manifestada como pérdida de la capacidad de aprendizaje y memorización (figura 2) [2].



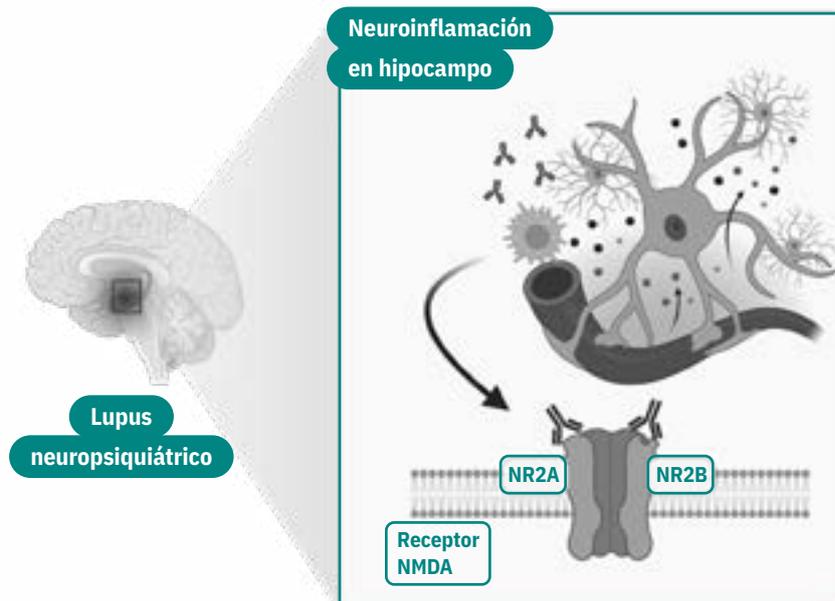


Figura 2. Patología del lupus neuropsiquiátrico (LESNP).

Modelo de lupus inducido por pristane en ratones

El LES es una enfermedad autoinmune que afecta a una gran variedad de órganos y tejidos, en la cual los factores hereditarios y ambientales intervienen para desequilibrar al sistema inmune y hacerlo susceptible a la producción de autoanticuerpos. Debido a su complejidad, los investigadores comenzaron a utilizar animales para comprender la enfermedad desde su inicio hasta su desenlace. El animal que por conveniencia se emplea para experimentación por su corta vida (dos años) es el ratón, y se ha descubierto que algunas variantes presentan susceptibilidad hereditaria similar al LES humano y otras pueden desarrollar la enfermedad al exponerlas a factores ambientales, como lo son radiaciones o sustancias químicas como el pristane.

El pristane es un químico conocido como el 2,6,10,14-tetrametilpentadecano, el cual es un aceite derivado de la clorofila que se encuentra en el petróleo crudo y como componente del aceite de hígado de tiburón. Los investigadores descubrieron que el pristane al ser sintetizado, purificado y aplicado vía intraperitoneal en un

ratón, causa inflamación crónica y ocasiona la formación de unas estructuras que combinan grasa con tejido conocidas como lipogranulomas en intestino; además de producir eritema malar (erupción en las mejillas), artritis, inflamación en el cerebro y en el riñón. También se encontró que puede inducir la producción de anticuerpos contra moléculas propias características del lupus, tales como el anticuerpo anti-Smith (anti-Sm), anti-DNA de cadena sencilla (anti-ssDNA) y anti-sdDNA, entre otros [3], por lo que el pristane puede ser empleado como un modelo experimental para inducir el lupus en ratones relacionado con la exposición a agentes ambientales, como lo son los químicos (figura 3).

Deterioro cognitivo en el modelo de lupus inducido por pristane

Con la finalidad de profundizar en el conocimiento de los mecanismos que generan la muerte de las neuronas en personas que padecen LESNP, se han ideado experimentos en

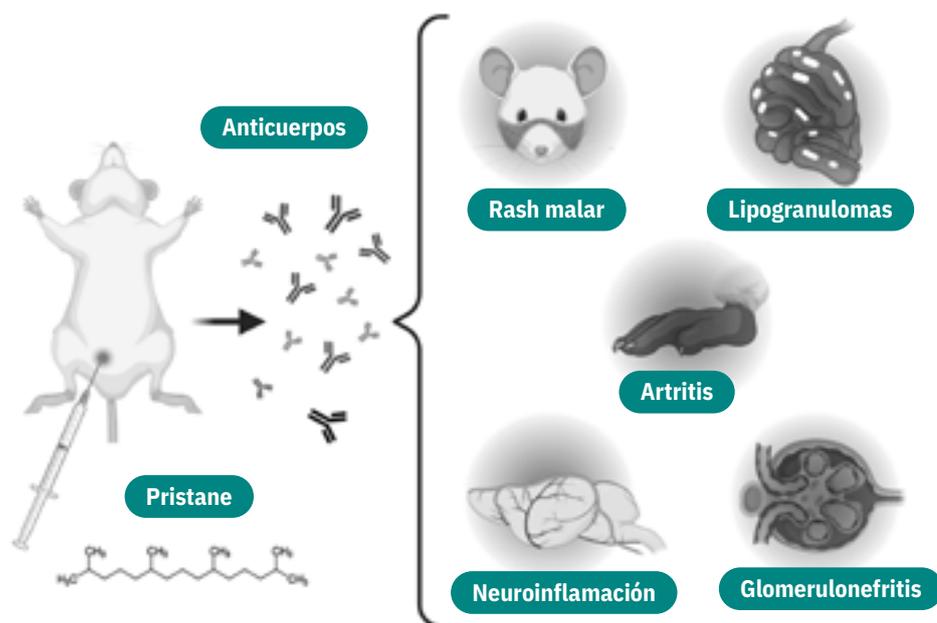


Figura 3. Modelo de lupus inducido por pristane, en el cual se observan características clínicas similares a las presentadas en pacientes con LES.

ratones para investigar a profundidad los mecanismos que pueden originarla. En nuestro grupo de investigación nos interesamos por estudiar y determinar la participación de algunas moléculas, como lo son los autoanticuerpos, en el desarrollo del daño neurológico que se observa en pacientes con LESNP en ratones a los cuales se les induce lupus con pristane [4].

Para lograr este fin, estudiamos ratones hembra de la cepa *BALB/c* (albinas) que se dividieron en tres grupos: el grupo control, el grupo pristane y el grupo pristane + lipopolisacárido (LPS). El pristane fue aplicado vía intraperitoneal y el LPS se aplicó 4 meses después del pristane para facilitar el paso de moléculas y células al cerebro. Después de 7 y 12 semanas de la aplicación del LPS, se evaluaron los procesos de aprendizaje y memoria, cuya disfunción se relaciona con el daño ocasionado a una estructura cerebral conocida como hipocampo.

La evaluación de los procesos de aprendizaje y memoria en ratones se estudiaron con el empleo de prueba de conducta que se basan en el comportamiento del ratón y sus preferencias naturales, como por ejemplo el ambiente oscu-

ro. La prueba conductual de Barnes es considerada como un examen que evalúa la memoria del ratón para encontrar en un laberinto el agujero de una caja y permanecer resguardado. Esta prueba evalúa dos elementos importantes: el tiempo que dura el ratón en encontrar el agujero de la caja (latencia de escape) y los errores que comete durante la prueba antes de entrar a la caja de escape (figura 4).

En nuestro estudio, el laberinto se conformó por una plataforma circular con 20 orificios dispuestos de forma radial, de los cuales solo uno contenía una caja de escape y los restantes se encontraban vacíos. La prueba consistió de tres etapas: habituación, adquisición y evaluación de memoria a corto y largo plazo [5]. Durante la etapa de habituación y adquisición, los ratones son colocados por un espacio de 5 minutos en la plataforma con la finalidad de que se familiaricen con ella, la exploren y ubiquen la caja de escape, con la diferencia de que en la etapa de adquisición se les expone a estímulos aversivos, como lo son las luz artificial y el sonido. En las etapas de memoria a corto plazo y largo, los ratones son evaluados en el tiempo



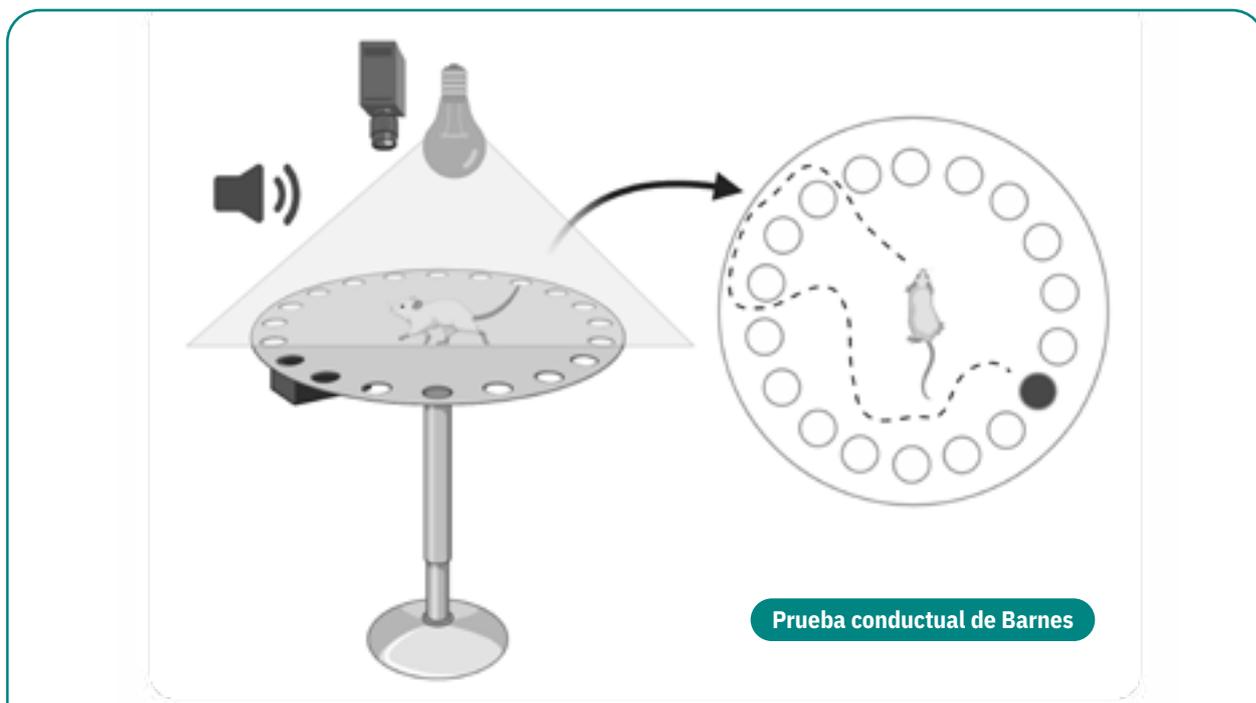


Figura 4. Prueba conductual de Barnes que evalúa la memoria visuoespacial de corto y largo plazo, mediante la exigencia cognitiva continua en reacción a elementos aversivos, como la luz artificial y sonorización.

que duran y los errores que cometen al encontrar la caja de escape; la diferencia entre ambos es que en corto plazo se evalúa la memoria en días continuos y en largo plazo posterior a un descanso de tres días.

Como resultado de nuestras evaluaciones de conducta a corto plazo observamos que el grupo control logró encontrar la caja de escape en menor tiempo y cometió menos errores que los grupos pristane y pristane+LPS a las 7 semanas post-LPS. De igual manera observamos que en la evaluación a largo plazo a los ratones del grupo control les tomó menos tiempo identificar la caja de escape y cometieron menos errores que los ratones de los grupos pristane y pristane+LPS a las 7 semanas post-LPS, mientras que a las 12 semanas post-LPS solo observamos diferencias entre los ratones del grupo control y los del grupo pristane+LPS. Con estos hallazgos podemos identificar que en los ratones del grupo control se llevaron a cabo los procesos de aprendizaje y memoria adecuados, mientras que en los grupos tratados con pristane se evidenciaron alteraciones que podrían estar asociadas con el daño a la estructura del hipocampo.

Adicionalmente, con el propósito de identificar y relacionar a las moléculas que están implicadas en los procesos adquisición hasta la consolidación del proceso de aprendizaje y memoria de corto a largo plazo con el daño al hipocampo, se consideró cuantificar la expresión molecular del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la subunidad *NR2A/B* en el hipocampo. En relación con la cuantificación molecular del ARNm de las subunidades *NR2A/B* a las 7 semanas post-LPS, se observó una disminución en la expresión de las dos moléculas entre el grupo tratado con pristane y pristane+LPS (55% y 78%, respectivamente) *versus* grupo control, mientras que para el grupo pristane+LPS se obtuvo una disminución significativa de ambas subunidades (97% y 57%, respectivamente) *versus* grupo control.

Estos resultados demuestran que la baja expresión de la subunidad *NR2A* en el grupo pristane+LPS generó un proceso de inflamación neuronal agudo en el hipocampo y se evidenció como deterioro cognitivo en las pruebas de conducta. Además, a las 12 semanas post-LPS se observó para la subunidad *NR2A* una dismi-



nución significativa en el grupo pristane y pristane+LPS (93% y 80% respectivamente), no así para la subunidad *NR2B* la cual manifestó un aumento en su expresión respecto al grupo control, que en el grupo pristane fue del 15% y en el grupo pristane+LPS fue 1.2 veces mayor. Estos resultados sugieren una recuperación compensatoria neuronal, que obedece a la expresión deferencial de las subunidades *NR2A/B* relacionadas con el desarrollo de la memoria.

Conclusiones

Con estos hallazgos podemos concluir que el lupus inducido en ratones por pristane puede ser considerado como un modelo animal en el cual puedan estudiarse algunas de las características clínicas observadas en pacientes con LESNP, como lo son la pérdida de memoria de corto y largo plazo.

Estos hallazgos representan el primer acercamiento sobre el efecto de una mezcla de los principales compuestos bioactivos del jengibre, los gingeroles y los shogaoles, en las células que almacenan grasa. Sin embargo, debe recordarse que este estudio se realizó directamente en células obtenidas de ratones bajo un ambiente.

Referencias

1. Yu H, Nagafuchi Y, Fujio K. Clinical and Immunological Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus. *Biomolecules*. 2021;11(7).
2. Fujieda Y. Diversity of neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus. *Immunol Med*. 2020;43(4):135-41.
3. Pannu N, Bhatnagar A. Oxidative stress and immune complexes: Pathogenic mechanisms in pristane induced murine model of lupus. *Immunobiology*. 2020;225(1):151871.
4. Luciano-Jaramillo J, Sandoval-García F, Vázquez-Del Mercado M, Gutiérrez-Mercado YK, Navarro-Hernández RE, Martínez-García EA, et al. Downregulation of hippocampal NR2A/2B subunits related to cognitive impairment in a pristane-induced lupus BALB/c mice. *PLoS One*. 2019;14(9):e0217190.
5. Gawel K, Gibula E, Marszalek-Grabska M, Filarowska J, Kotlinska JH. Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents-methodological consideration. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2019;392(1):1-18.

Flavio Sandoval García Doctor en Ciencias Biomédicas con orientación en Neurociencias. Departamento de Neurociencias, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Instituto de Investigación en Reumatología y del Sistema Músculo Esquelético (IIRSME), Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

Daniel González Inostroz Doctor en Biología Molecular en Medicina, Departamento de Biología Molecular y Genómica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

Beatriz Teresita Martín Márquez Doctora en Ciencias Biomédicas con orientación en Inmunología. Departamento de Biología Molecular y Genómica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Instituto de Investigación en Reumatología y del Sistema Músculo Esquelético (IIRSME), Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

Contacto: beatriz.martin@academicos.udg.mx