ACTUALIZACIÓN SOBRE NEURODEGENERACIÓN

Laboratorio de Fisiología de la Conducta
Febrero-Marzo 2005

SERIES

1. INTRODUCCIÓN

2. PATOGENIA MOLECULAR

   2da. parte continuación...

3. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

4. FUTURO EN PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICA

BIBLIOGRAFÍA:

* **Series Neurodegeneration**
  J. Clinical Investigation 111, Jan-Mar 2003
* **Special Section: Brain Disease**
  Science 302, 31 Oct 2003
* **Neurodegeneration**
  Nature Medicine 10, Jul 2004
  Nature Reviews Neuroscience 6, Jan 2005
* Genomic Medicine. Mechanisms of Disease
  NEJM 348, 3 April 2003
* *Encyclopedia of Life Sciences 2000*

II

MECANISMOS PATOGÉNICOS MOLECULARES

2da. parte continuación

Neurodegeneración

neuroprotección

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

ESTRÉS OXIDATIVO

microglia

Inflamación

?

degradación de proteínas

GLUTAMATO

necrosis

metales

Excitotocicidad

INMUNIDAD

apoptosis

1. MUERTE NEURONAL

2. ESTRÉS OXIDATIVO Y NITRATIVO

3. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

4. AGREGACIÓN DE PROTEINAS

5. DISFUNCIÓN DEL SISTEMA UBIQUITIN-PROTEOSOMA

6. OTROS

OTROS MECANISMOS PATOGÉNICOS

1. Excitotoxicidad

2 .Inflamación

3. Alteración homeostasis de metales

EXCITOTOXICIDAD
Y
NEURODEGENERACIÓN

NEUROTRANSMISIÓN EXCITADORA

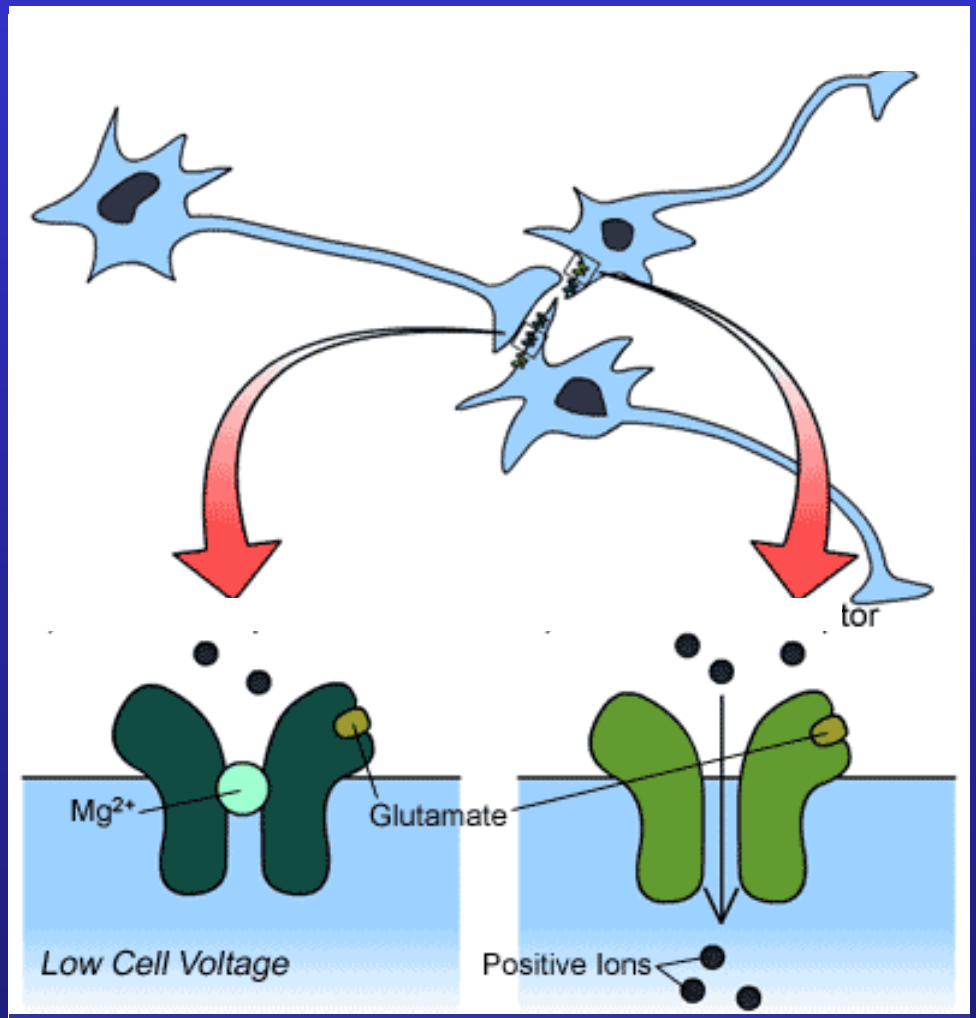
Proceso normal mediado por un neurotransmisor que hace que la célula se despolarice y pueda generar potenciales de acción

GLUTAMATO

Principal NT **excitador** en el cerebro, responsable de muchas funciones como conocimiento, memoria, movimiento, sensación.

Las neuronas liberan Glu para excitar a las neuronas vecinas al enlazarlo a los **receptores de glutamato** en la membrana pos-sináptica.

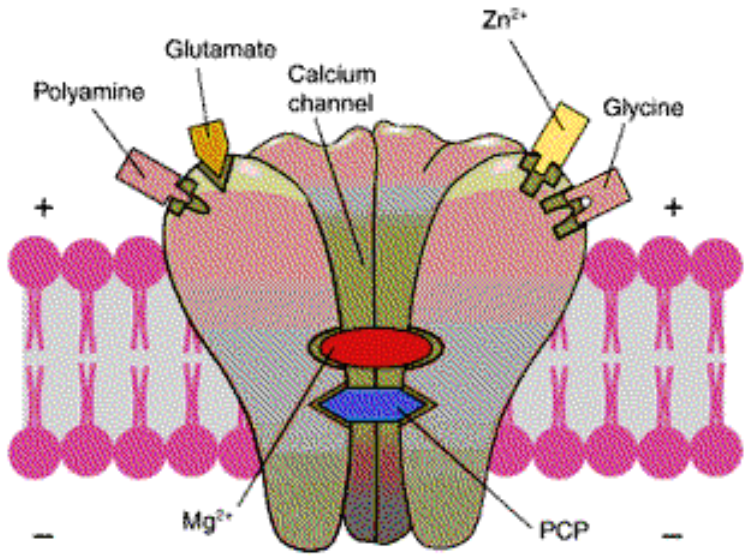
Receptores ionotrópicos de Glu



R. NMDA

R. AMPA

RECEPTOR NMDA

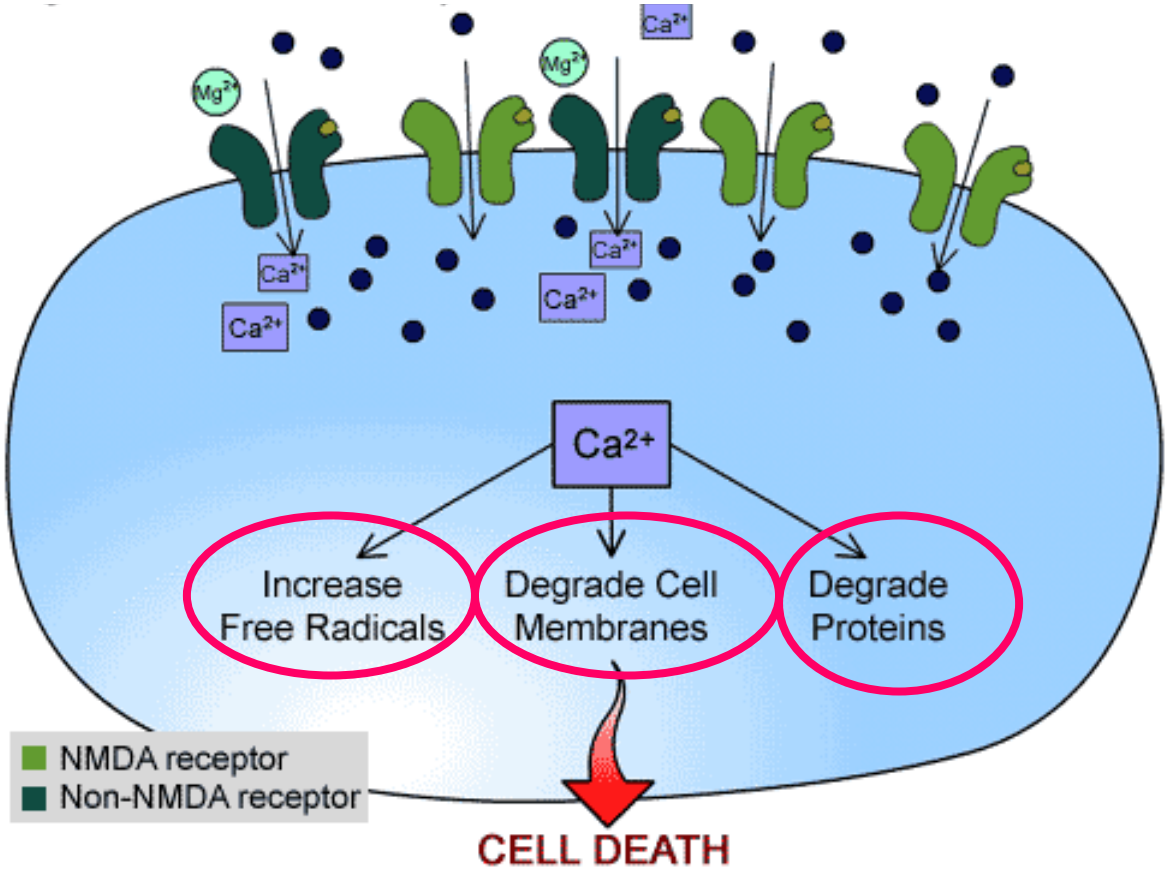


EXCITOTOXICIDAD

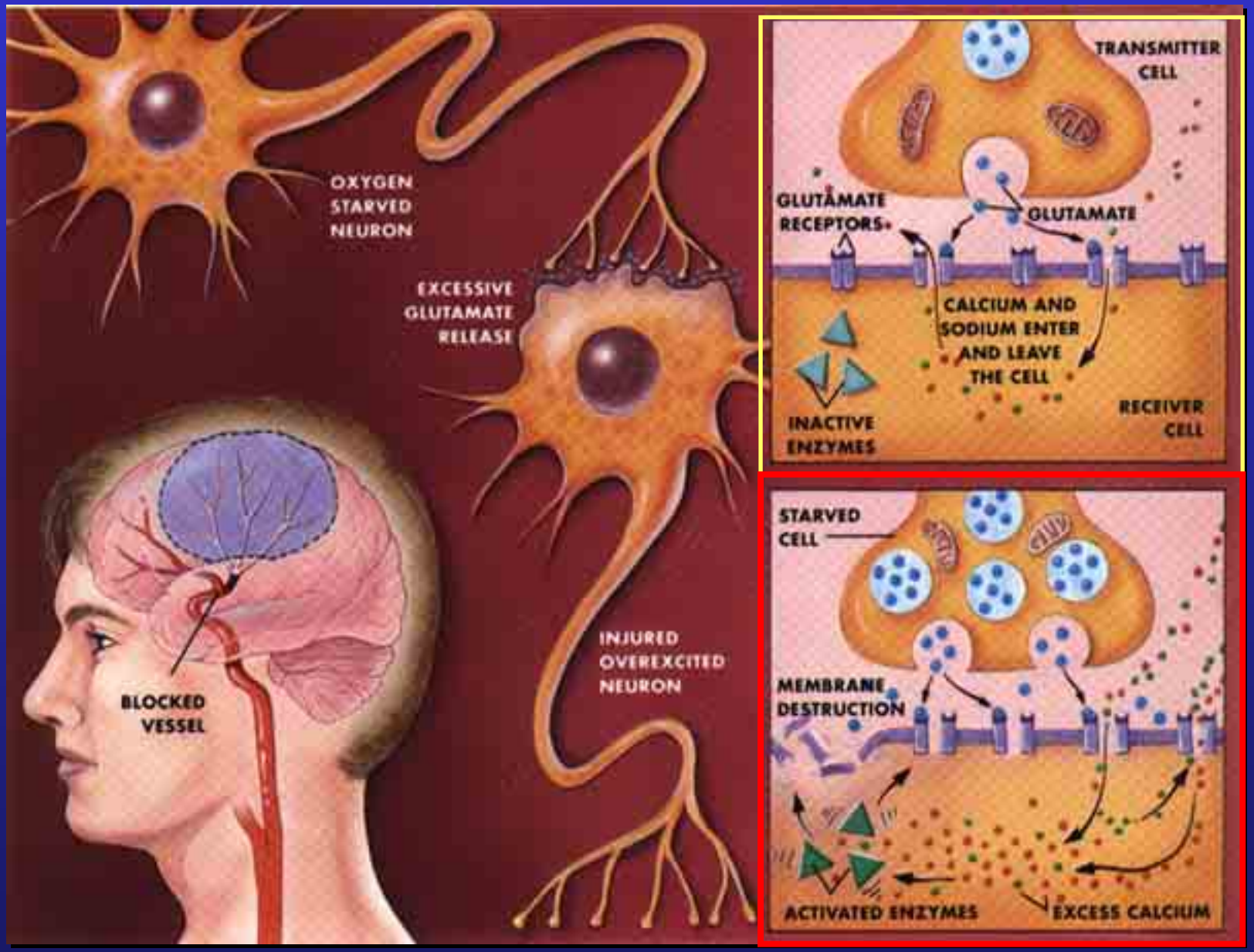
Cuando hay exceso de Glu, las neuronas se sobreexcitan y ocurre una cascada de **daño y muerte** neuronal en el SNC.

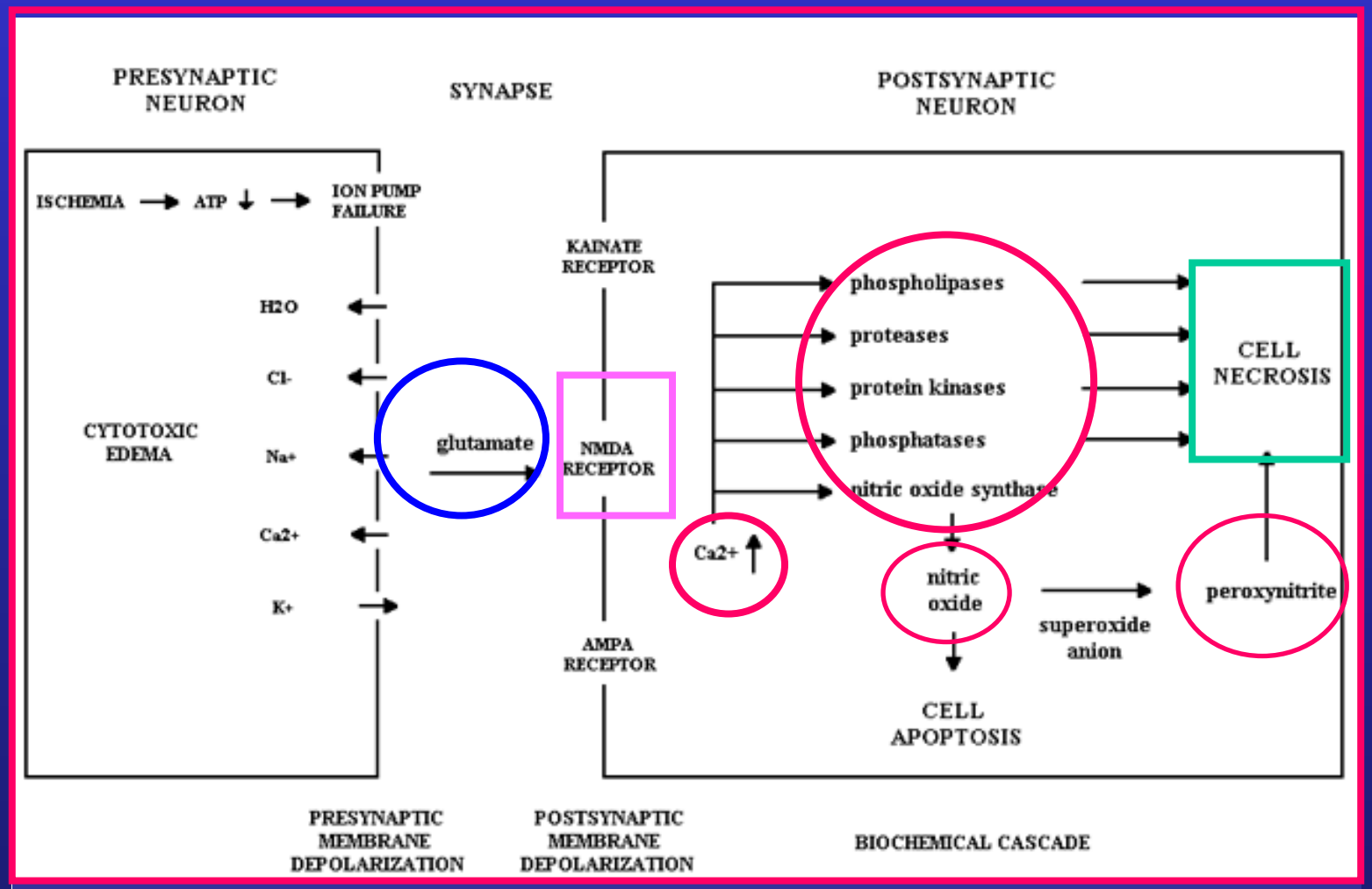
Las neuronas dañadas liberan cantidad **excesiva de Glu** lo que causa que **niveles tóxicos de calcio** entren a las células vecinas a través de los **canales de calcio** (receptores NMDA).

El aumento intracelular de calcio dispara una serie de procesos que llevan a la destrucción de la célula

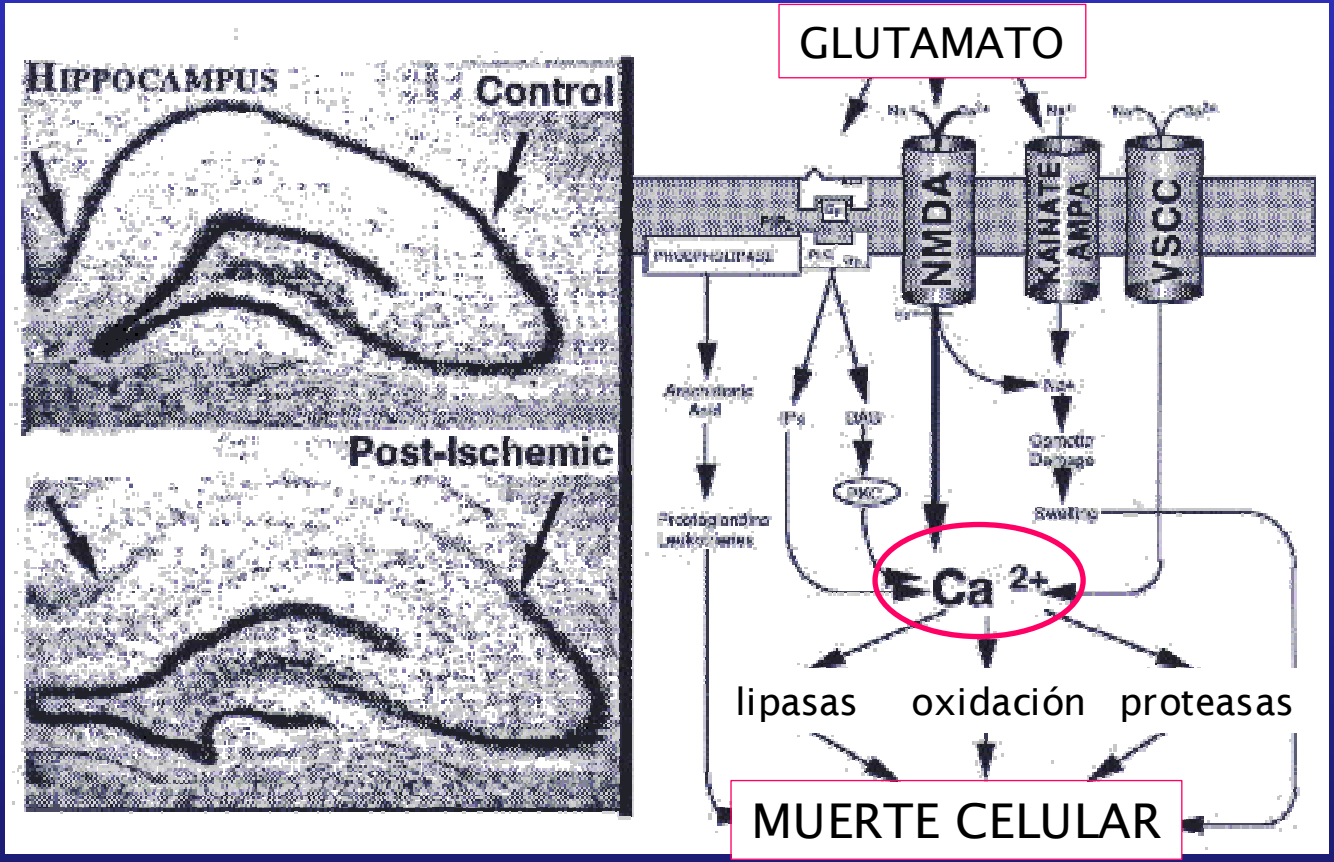


SOBREACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE GLUTAMATO

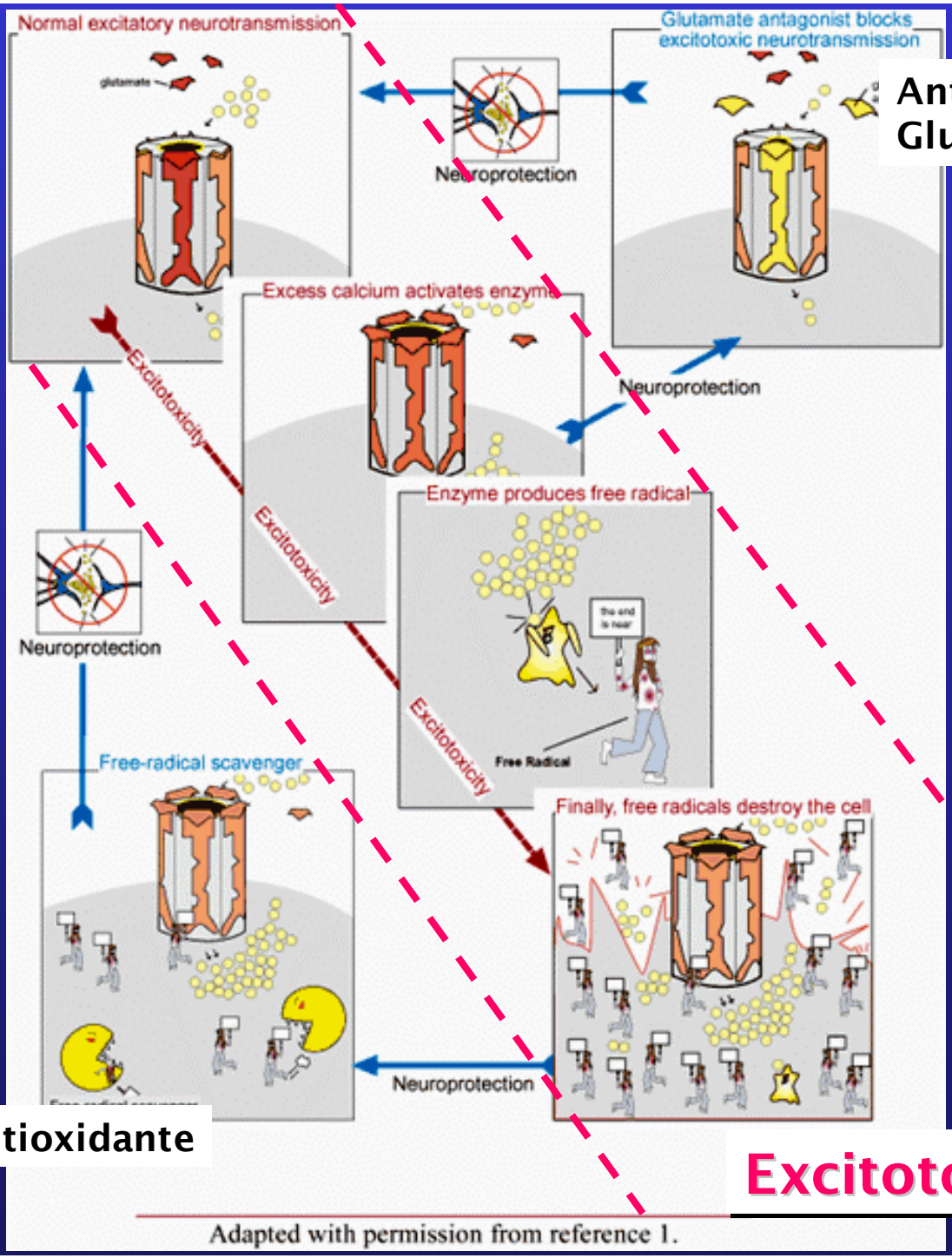

OXYGEN STARVED NEURON
EXCESSIVE GLUTAMATE RELEASE
BLOCKED VESSEL
INJURED OVEREXCITED NEURON
TRANSMITTER CELL
GLUTAMATE RECEPTORS
GLUTAMATE
CALCIUM AND SODIUM ENTER AND LEAVE THE CELL
INACTIVE ENZYMES
RECEIVER CELL
STARVED CELL
MEMBRANE DESTRUCTION
ACTIVATED ENZYMES
EXCESS CALCIUM


PRESYNAPTIC NEURON
SYNAPSE
POSTSYNAPTIC NEURON
ISCHEMIA
ATP
ION PUMP FAILURE
H2O
Cl-
Na+
Ca2+
K+
CYTOTOXIC EDEMA
glutamate
KAINATE RECEPTOR
NMDA RECEPTOR
AMPA RECEPTOR
Ca2+
phospholipases
proteases
protein kinases
phosphatases
nitric oxide synthase
nitric oxide
superoxide anion
peroxynitrite
CELL NECROSIS
CELL APOPTOSIS
PRESYNAPTIC MEMBRANE DEPOLARIZATION
POSTSYNAPTIC MEMBRANE DEPOLARIZATION
BIOCHEMICAL CASCADE

EXCITOTOXICIDAD



Hipocampo rico en R.NMDA es más vulnerable



Adapted with permission from reference 1.

Antagonista Glu

antioxidante

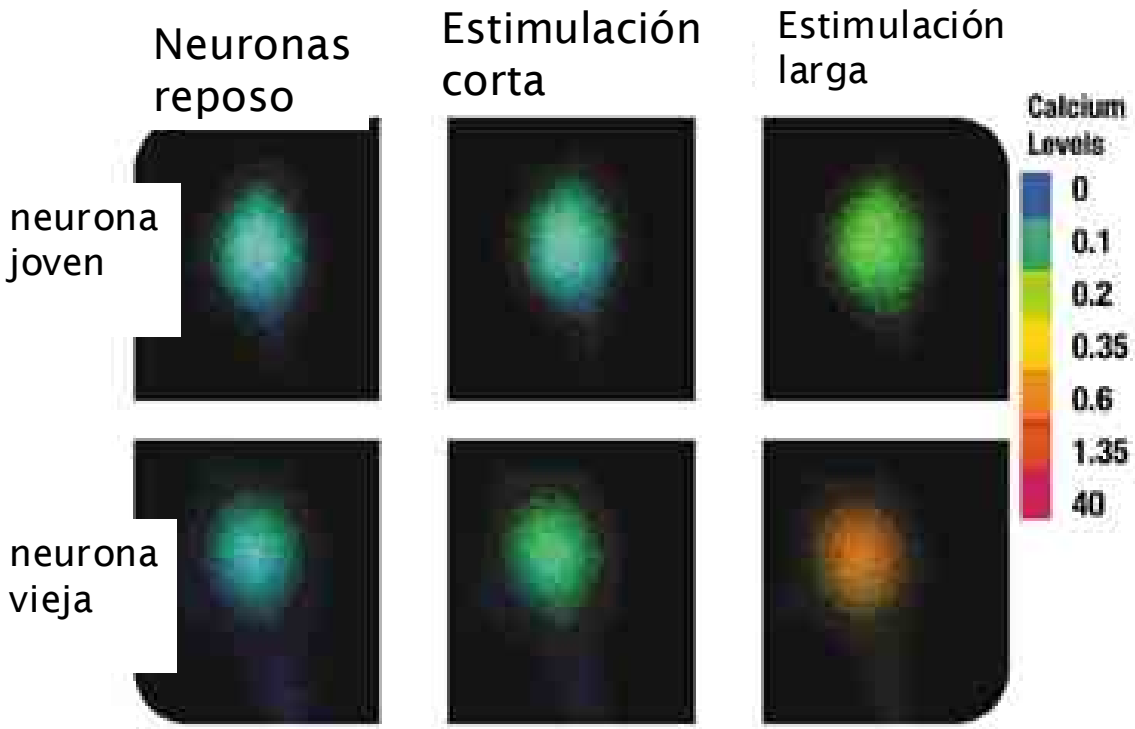
Excitotoxicidad

Calcio NORMAL

Calcio ELEVADO

↓

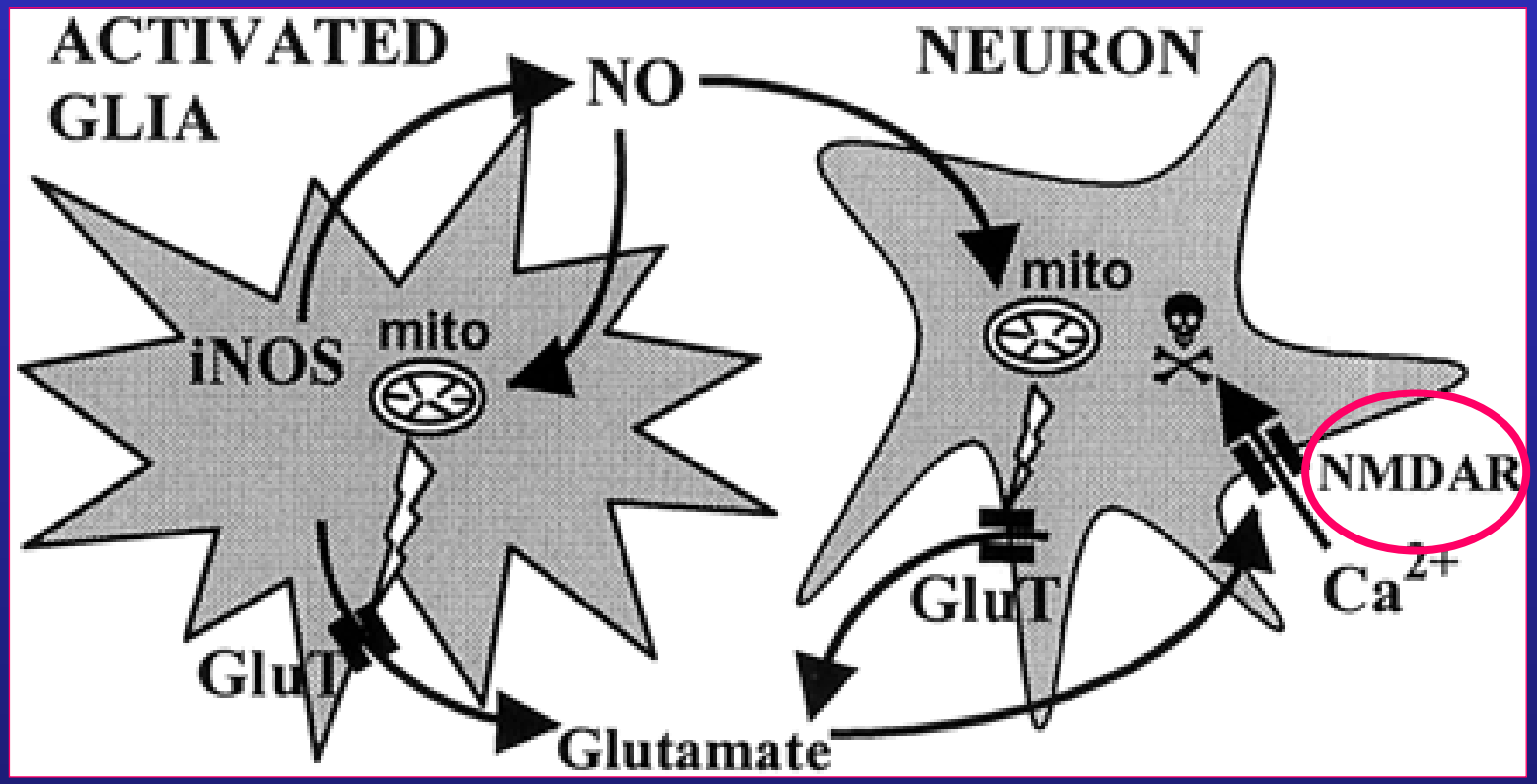
Susceptibilidad a disfunción y muerte



Neuronas viejas no pueden mantener niveles normales de calcio.

Los altos niveles de calcio las hacen susceptible a daño y muerte

INTER-RELACIÓN entre GLIA Y NEURONAS



EXCITOTOXICIDAD AGUDA

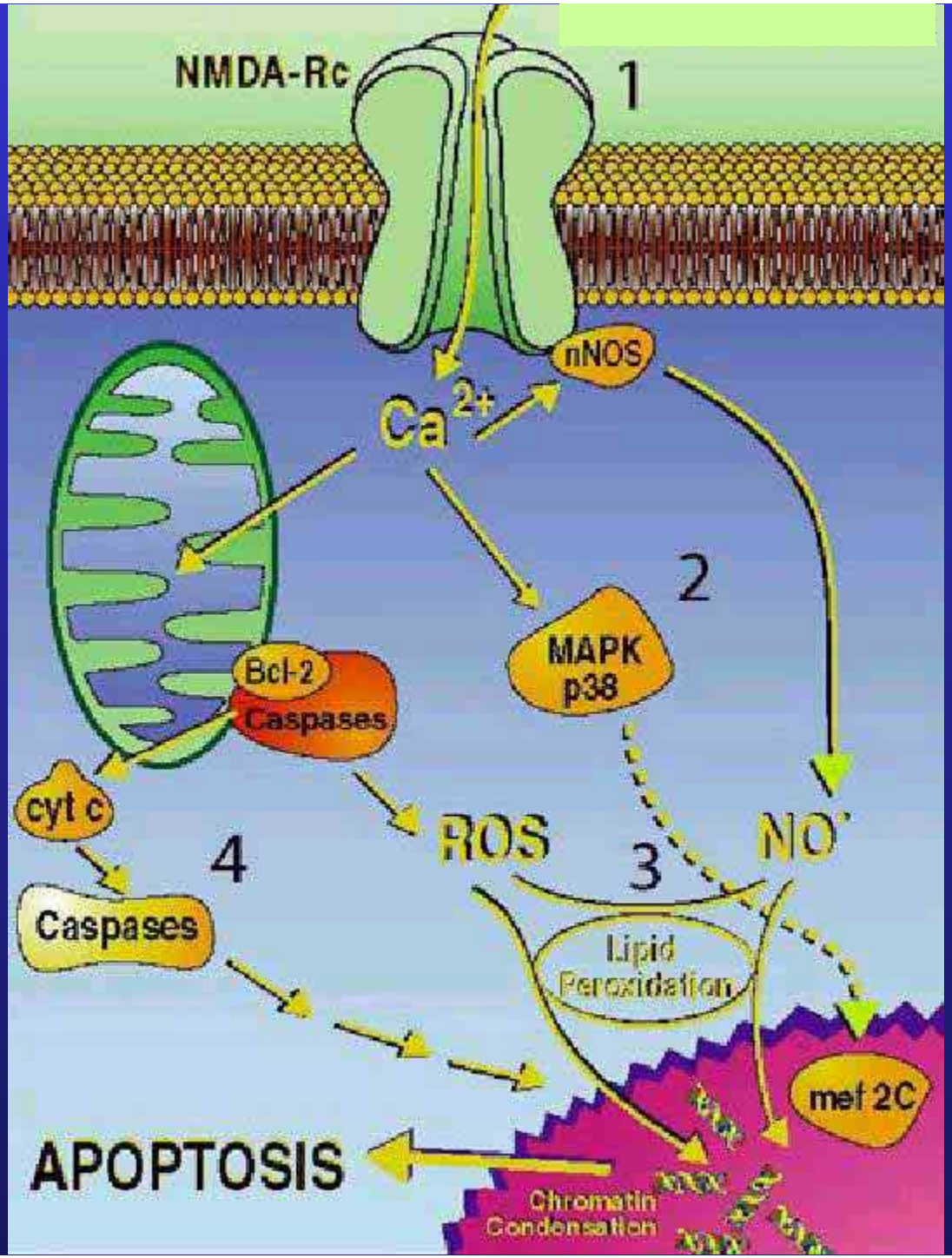
ACV
TRAUMA
CRISIS EPILÉTICAS

NECROSIS

EXCITOTOXICIDAD CRÓNICA

ENF. NEURODEGENERATIVAS

APOPTOSIS


NMDA-Rc
1
nNOS
Ca2+
2
MAPK
p38
Bcl-2
Caspases
cyt c
4
ROS
3
NO
Caspases
Lipid
Peroxidation
mef 2C
APOPTOSIS
Chromatin
Condensation

EXCITOTOXICIDAD

ESTRÉS OXIDATIVO

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

↓

MUERTE NEURONAL

INFLAMACIÓN
Y
NEURODEGENERACIÓN

INFLAMACIÓN

Respuesta al daño local caracterizada por dilatación capilar, infiltración de leucocitos, con edema, calor, rubor y dolor y con frecuencia pérdida de función que sirve como mecanismo que inicia la eliminación de agentes nocivos y tejido dañado

En

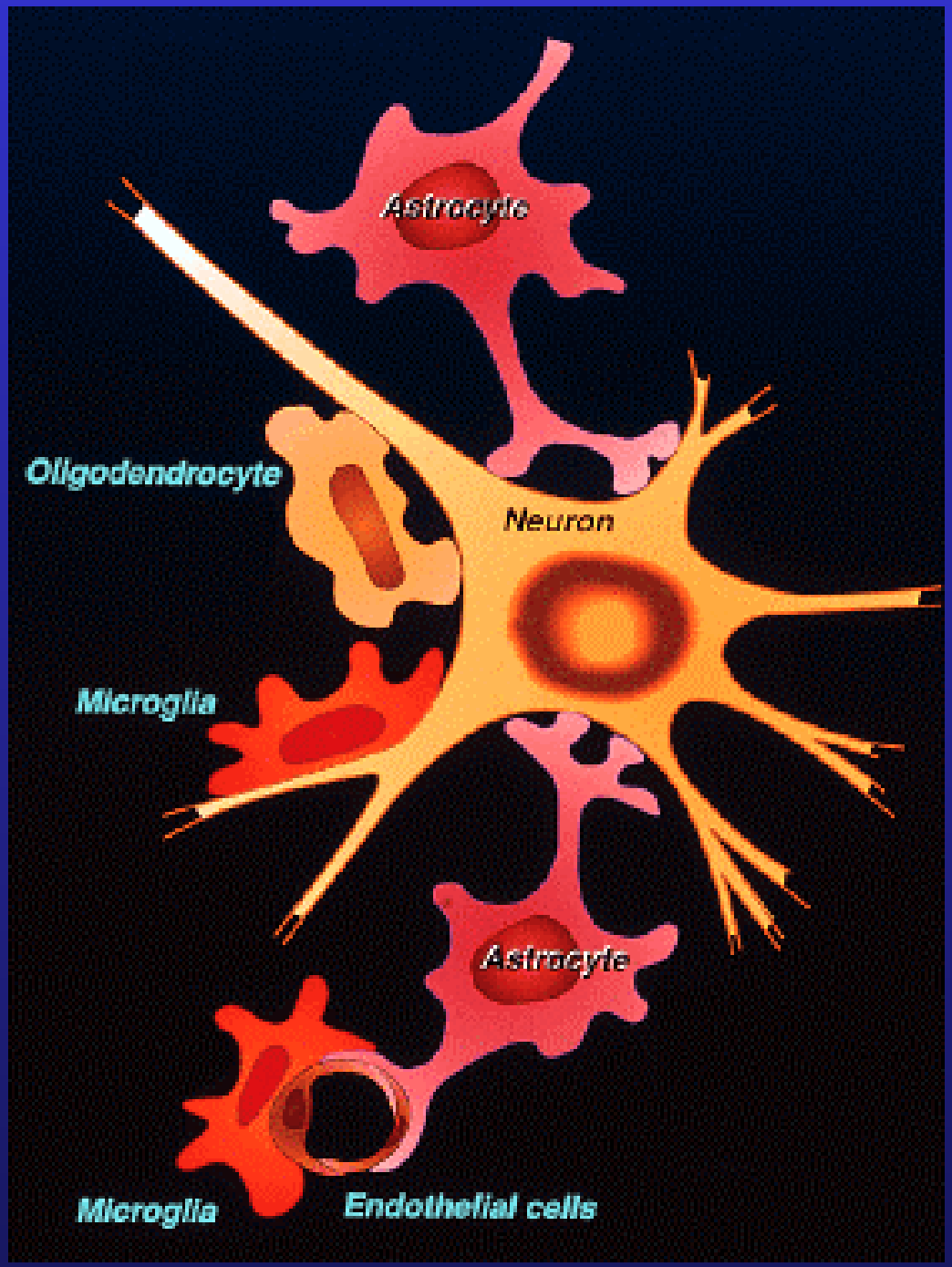
Neurodegeneración

(necrosis y apoptosis)

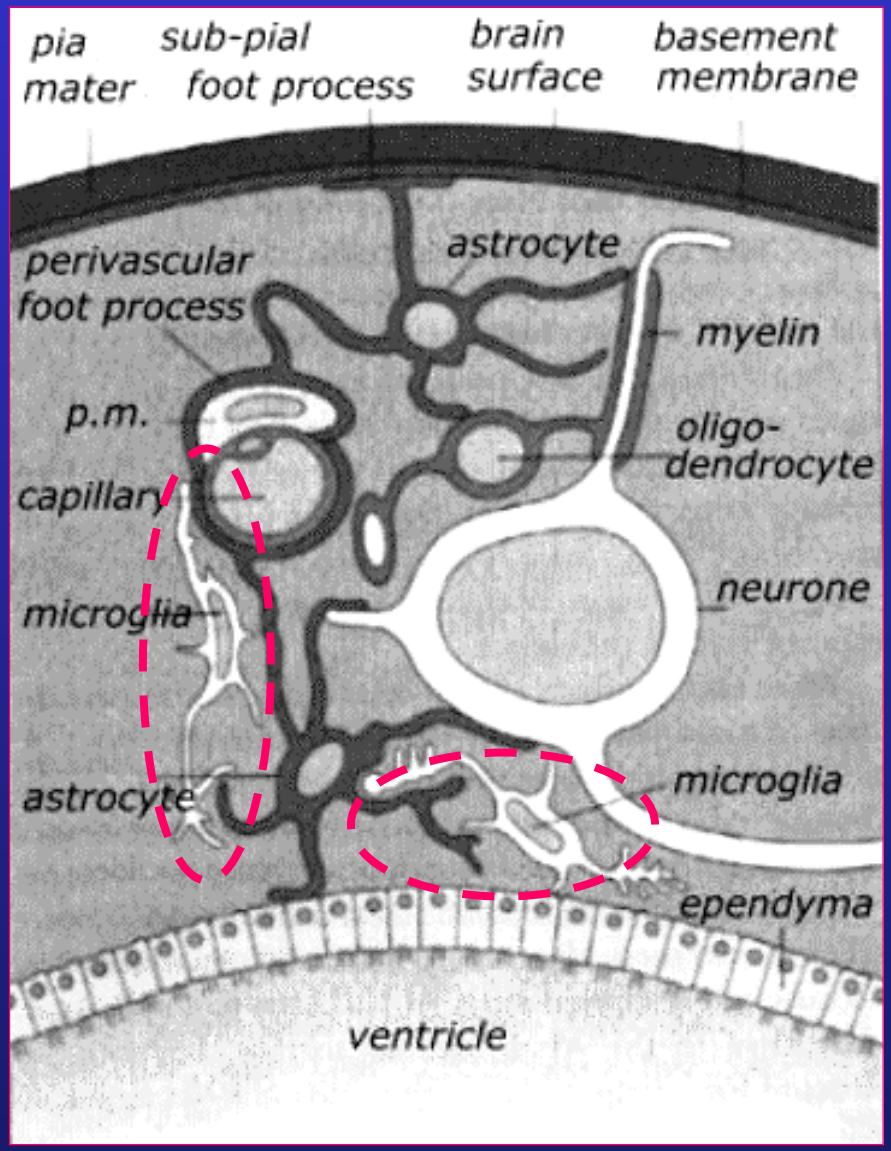
↓

INFLAMACIÓN

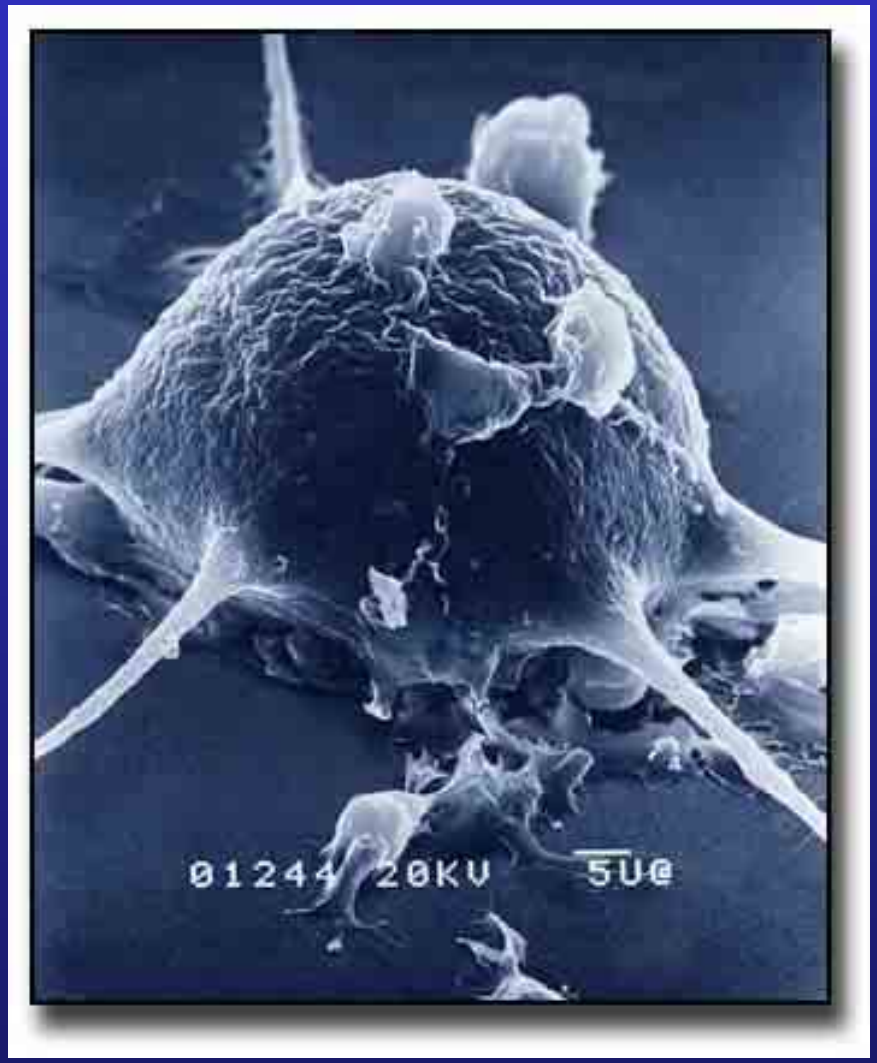
Tipos de células en el cerebro



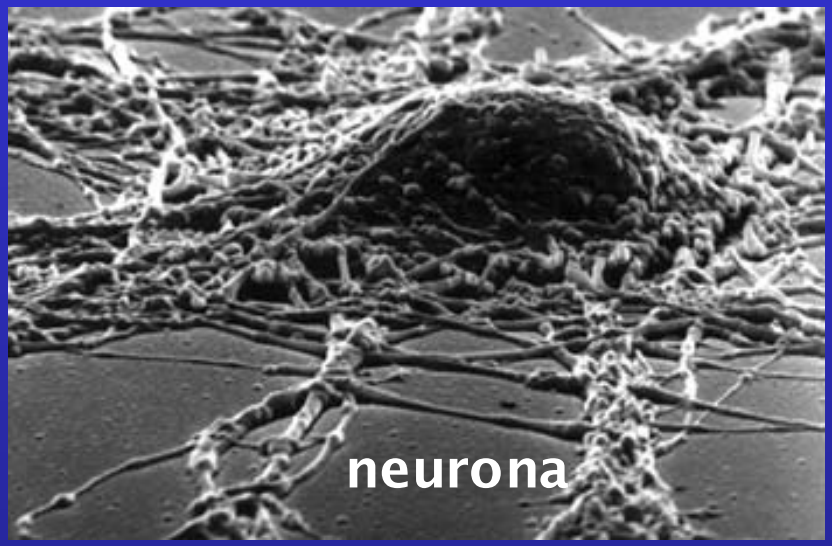
NEURONAS Y GLIA

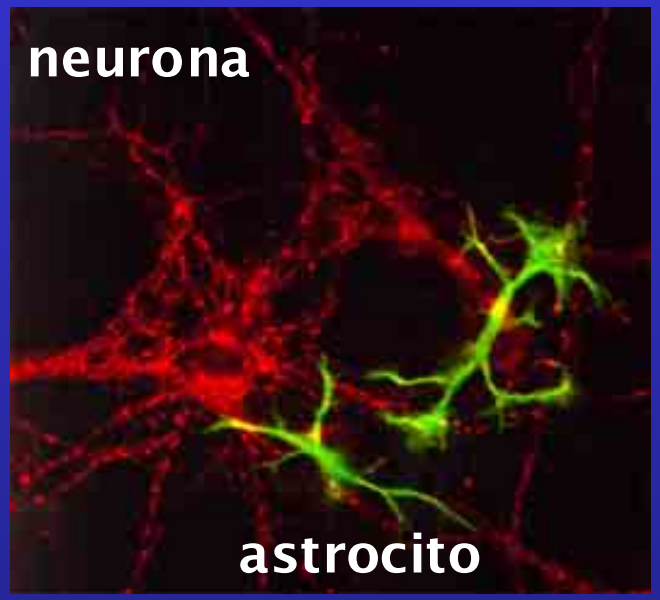


Neurona con células gliales

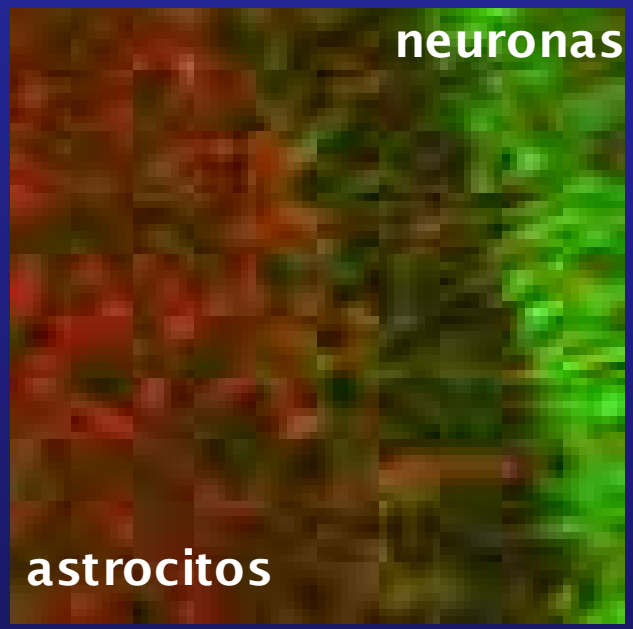


Scanning electro microscope


neurona


neurona
astrocito

macrófagos


neuronas
astrocitos

MICROGLIA

Macrófagos residentes en el SNC, de origen mesotelial que migran antes del nacimiento y son parte del sistema de defensa inmune

Pio del Río Hortega (1920) describió estas células como macrófagos, pero sólo en los años 80 se comprobó su función

MICROGLIA EN LESIÓN DEL SNC

1. Se ACTIVA rápidamente como Fagocito

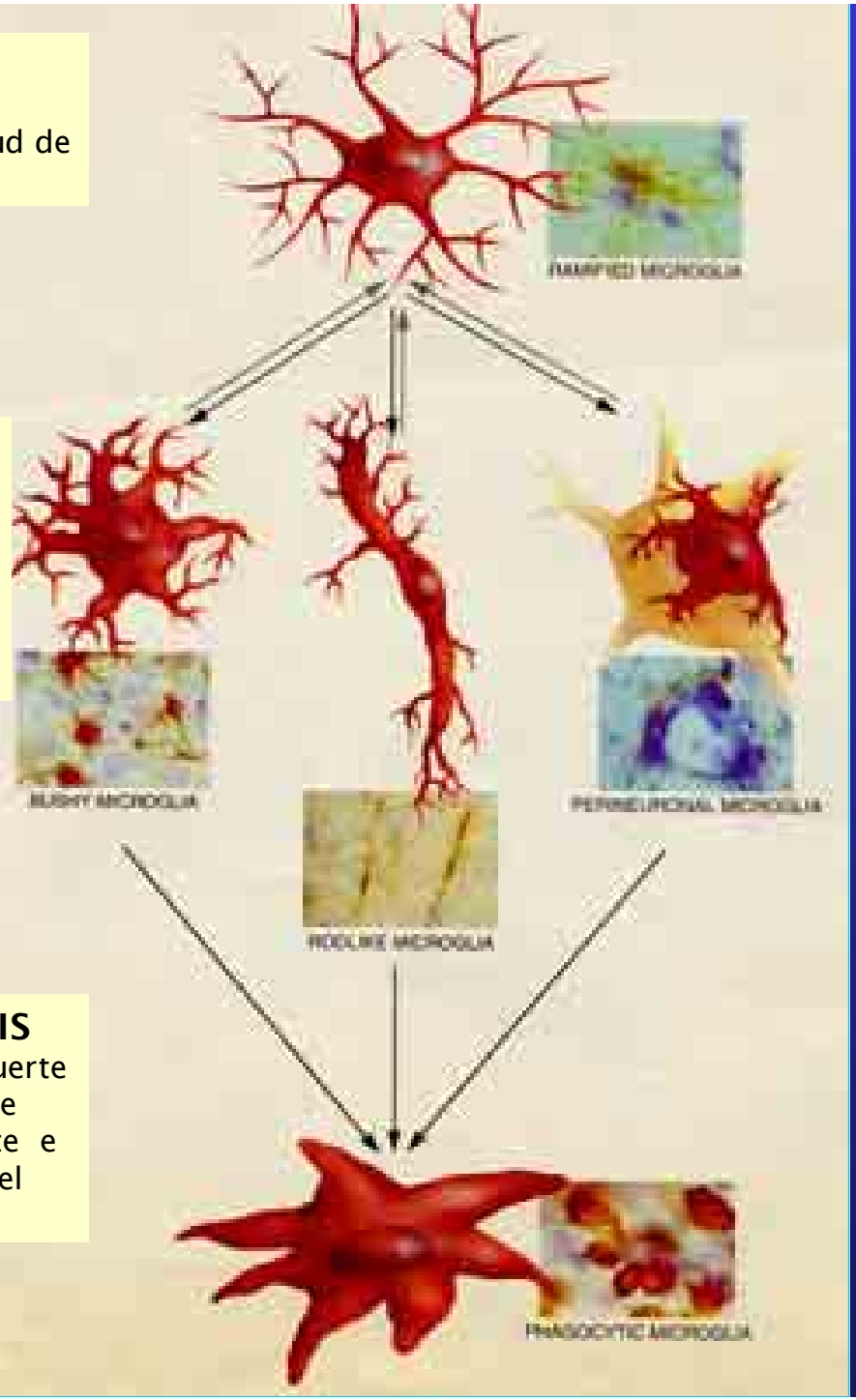
2. Produce CITOKINAS y otros

3. Se vuelve una célula presentadora de antígenos (**APC**), regula el complejo mayor de Histocompatibilidad II (MHC II) (receptores de superficie)

1. REPOSO
Monitorea
el estado de salud de
células cercanas

2. ACTIVACIÓN
Cambia de forma
cuando detectan
perturbación en el
microambiente
como daño
neuronal

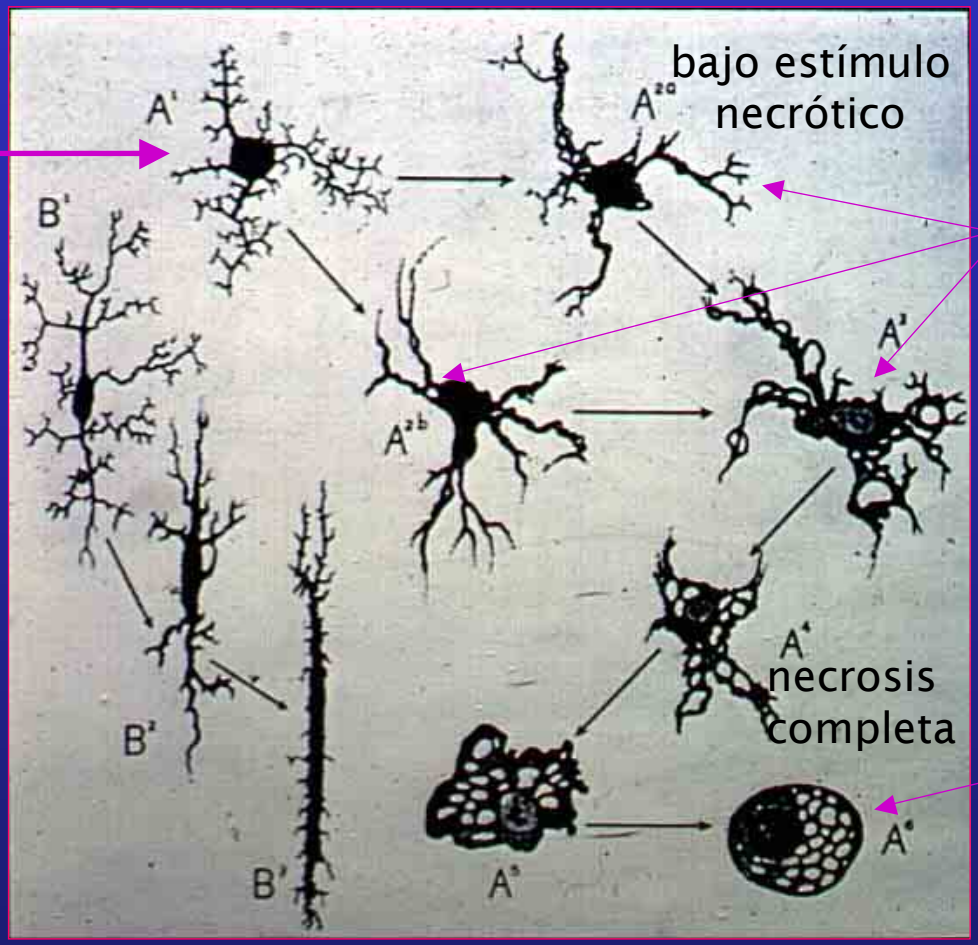
3. FAGOCÍTOSIS
Reacciona a la muerte
celular. Cambia de
forma nuevamente e
intenta degradar el
material muerto



INFLAMACIÓN

reposo

activación crónica



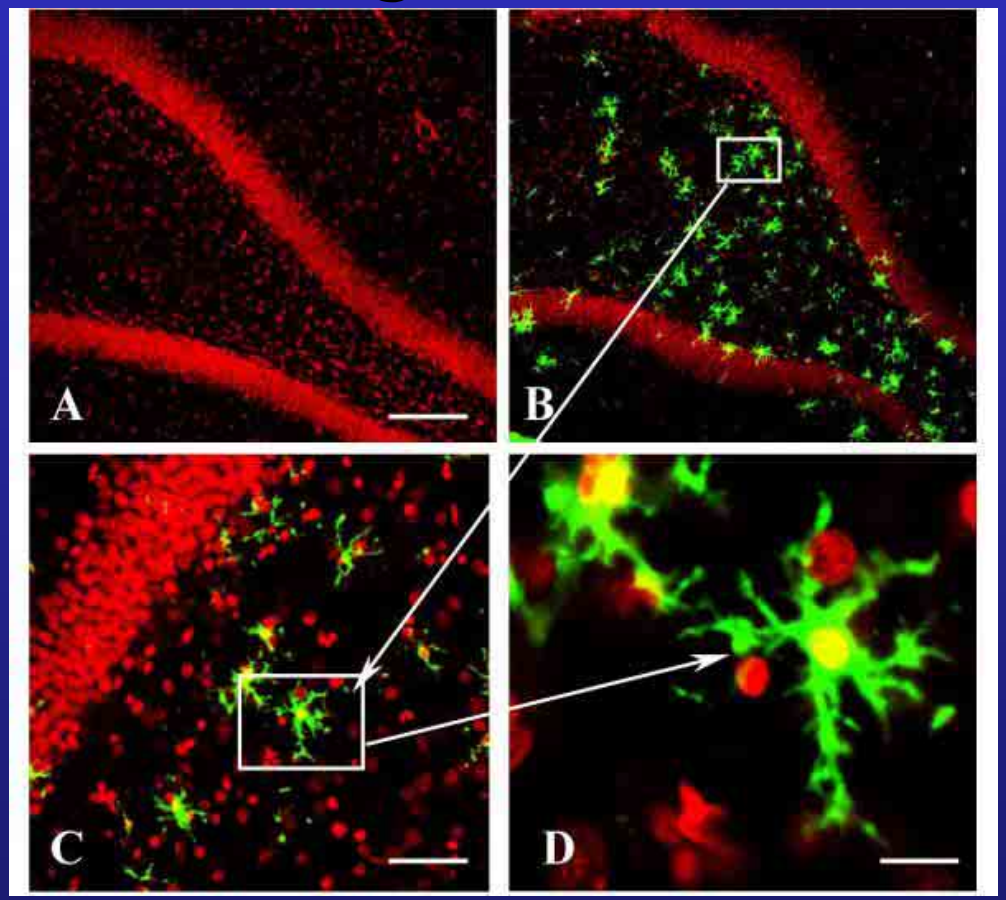
formas intermedias

macrófago

Activación de MICROGLIA

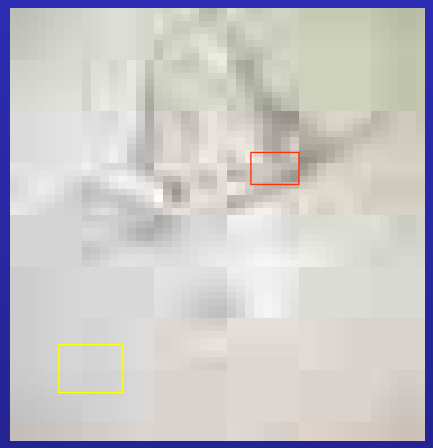
MICROGLIA ACTIVIDAD

Microglia activada



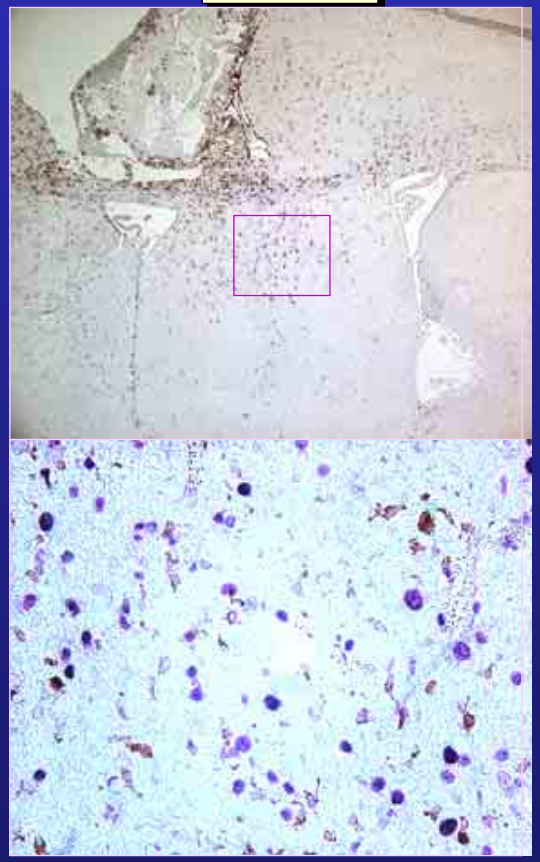
Hipocampo *gyro dentado*

BrdU - Microglia Iba1

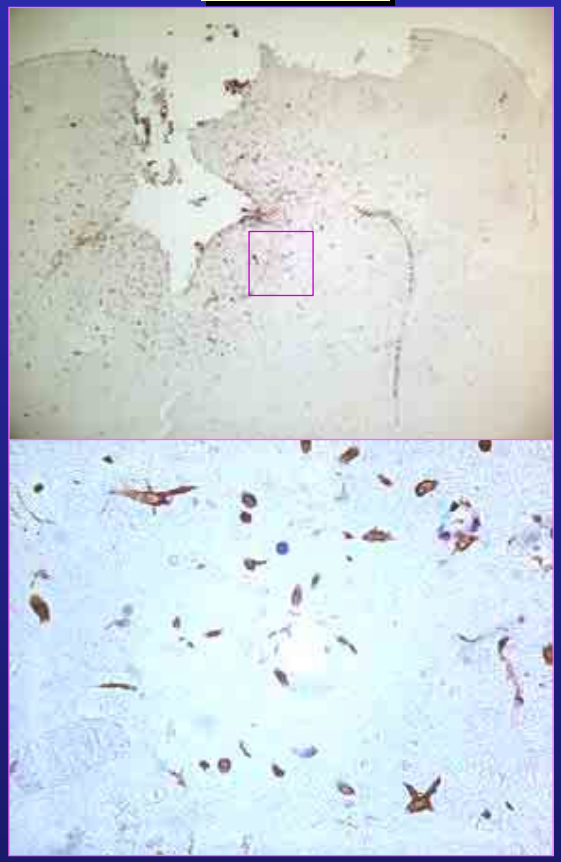


BrdU – Microglia Iba1

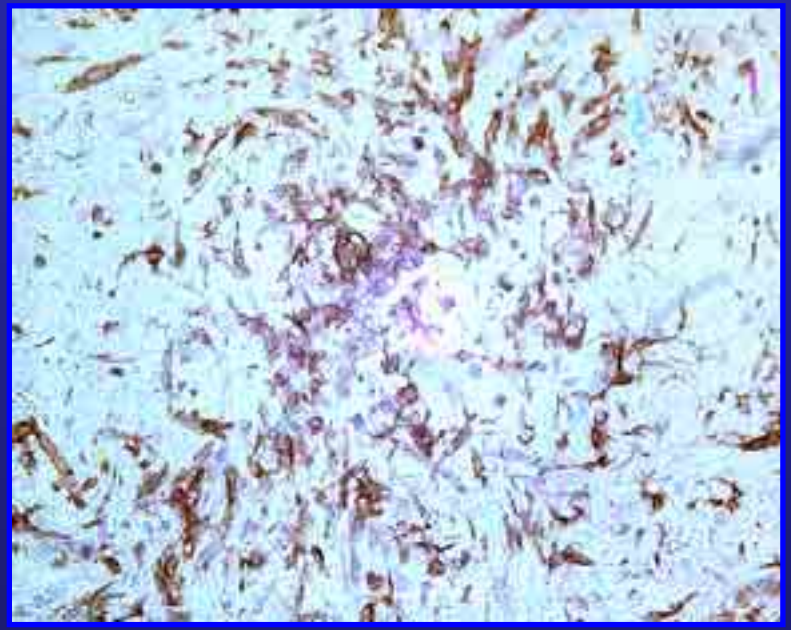
7 d



21 d



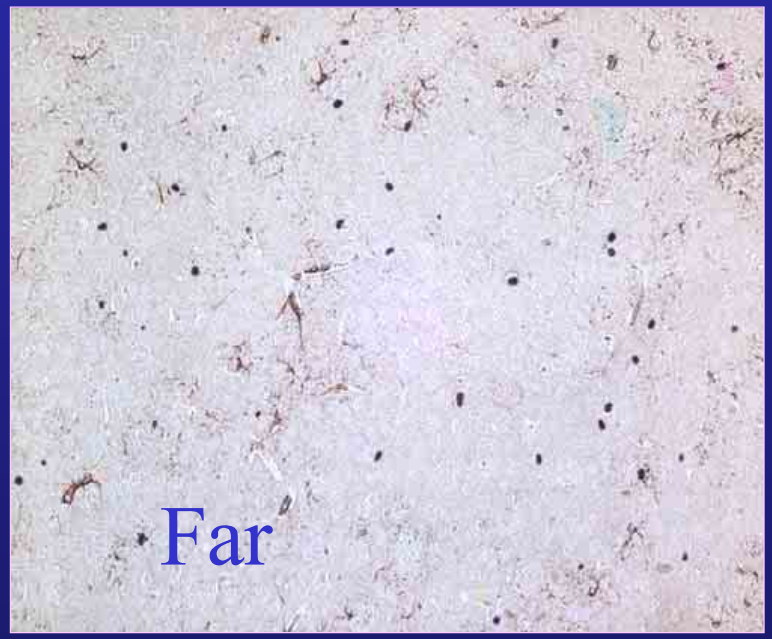
BrdU-Iba1Caudate nucleous
MDM injection- BrdU delivery



- BrdU and different type cell markers

Astroglia (GFAP)

There was also activation of astroglia but less co-localization with BrdU



PRODUCTOS DE LA MICROGLIA
Neurotóxicos y protectores

1. ProteÍna precursora de amiloide APP

2. Citokinas

3. Factores de Crecimiento GDNF

4. Proteasas

5. ROS

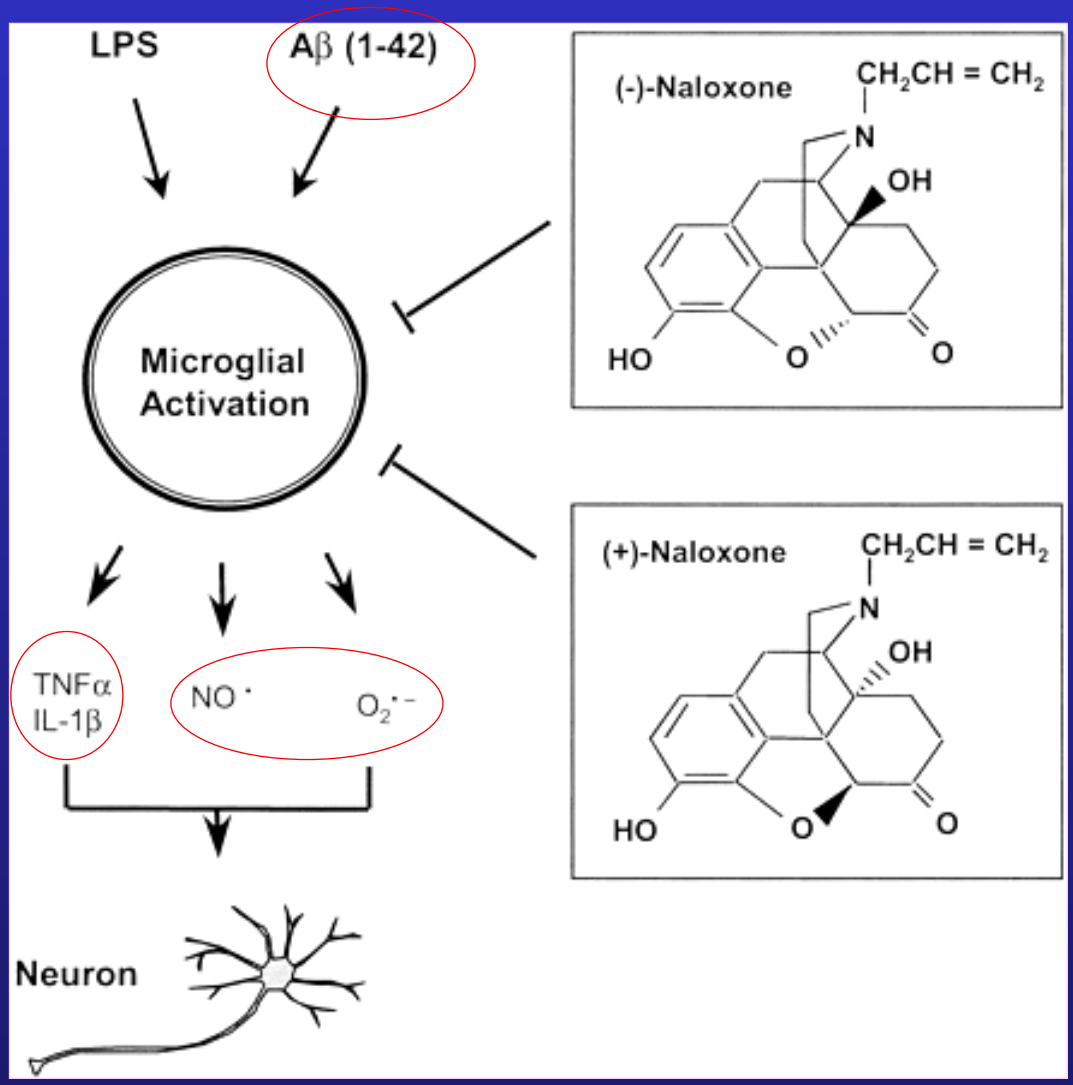
6. Inhibidores de apoptosis: ácido úrico

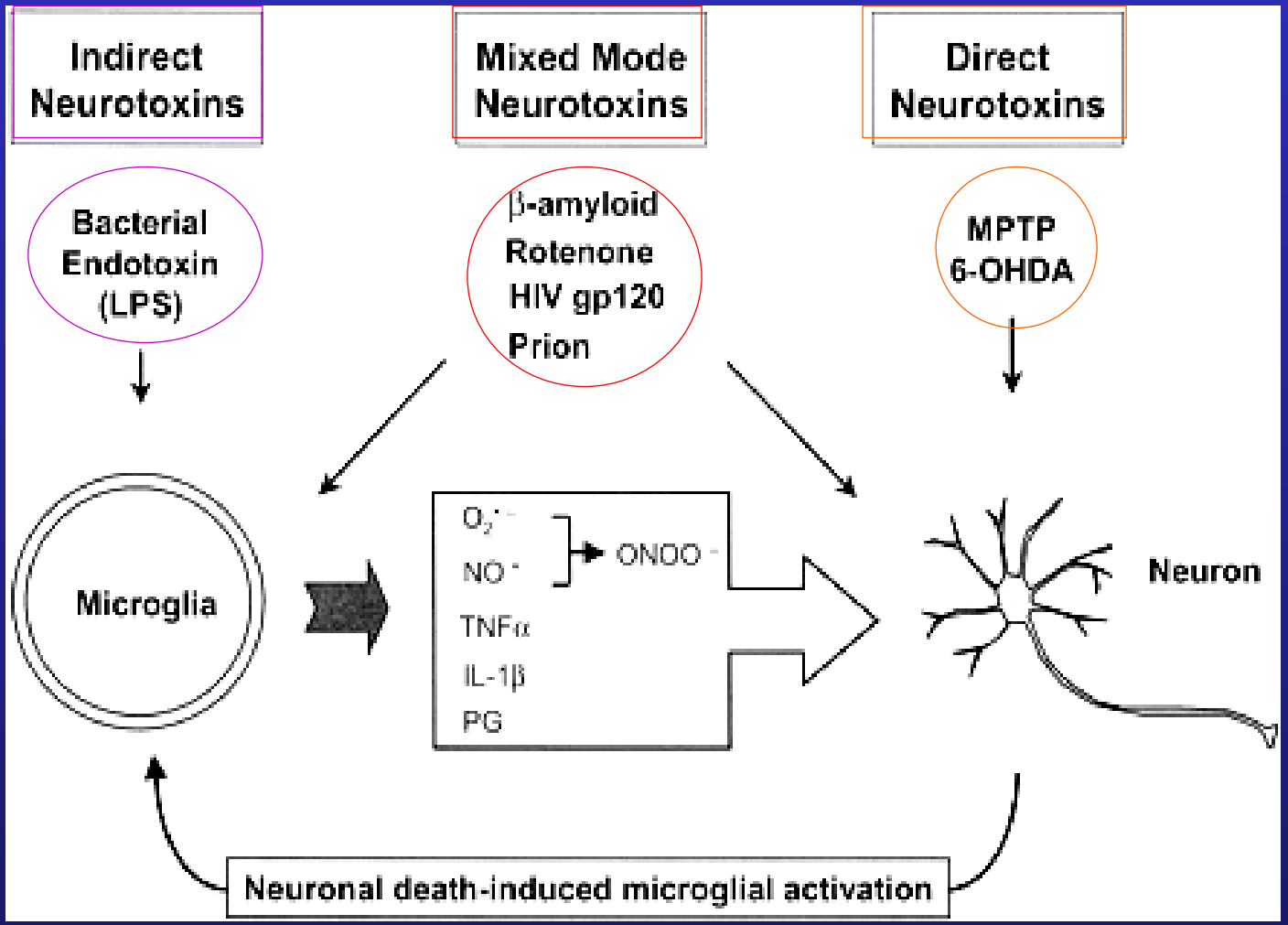
CITOKINAS

Proteínas inmunoreguladoras (Il, TNF, interferon) que son secretadas por células especializadas del sistema inmune como los macrófagos

QUIMOKINAS

Proteínas que pueden activar, atraer o reclutar leucocitos


LPS
Aβ (1-42)
Microglial Activation
TNFα
IL-1β
NO ·
O2·-
Neuron
(-)-Naloxone
CH2CH = CH2
N
OH
HO
O
O
(+)-Naloxone
CH2CH = CH2
N
OH
HO
O
O


Indirect Neurotoxins
Mixed Mode Neurotoxins
Direct Neurotoxins
Bacterial Endotoxin (LPS)
β-amyloid
Rotenone
HIV gp120
Prion
MPTP
6-OHDA
Microglia
$O_2^{\cdot -}$
$NO^{\cdot}$
$ONOO^-$
TNFα
IL-1β
PG
Neuron
Neuronal death-induced microglial activation

Proinflammatory and neurotoxic factors

TH1 cytokines
TNF
IL-1
osteopontin
leukotrienes
MMP
plasminogen activators
nitric oxide
reactive oxygen species
glutamate
antibody + complement
cell-mediated cytotoxicity
neurotrophins via $p75^{NTR}$?

Antiinflammatory and neuroprotective factors

TH2 cytokines
TGF
TNF ?
soluble TNF receptor
soluble IL-1 receptor
IL-1 receptor antagonist
some prostaglandins
lipoxins
TIMP
antithrombin
BDNF
NGF
NT3
NT4/5
GDNF
LIF
neurotrophic factors

DESTRUCCIÓN

PROTECCIÓN

FACTORES PROINFLAMATORIOS

TNF A
IL 1
ROS
GLU

FACTORES NEUROPROTECTORES

BDNF
GDNF
NT3

La **microglia activada**

↓

Factores NEUROTÓXICOS y PROINFLAMATORIOS

?

inducen o exacervan

NEURODEGENERACIÓN

DEFÍCIL DECIDIR
SI

BLOQUEAR O
ESTIMULAR ACCIÓN
DE LA

MICROGLIA

MICROGLIA COMO CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENOS (APC)

La microglia al destruir microorganismos que fagocitan exhiben esos antígenos en moléculas de superficie, el Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase II (MHC II) a las células T.
Esto forma parte de la **Respuesta Inmune Adaptativa**

INFLAMACIÓN
Y
ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

ACTIVACIÓN DE LA MICROGLIA:

¿Papel al comienzo de la enfermedad???

¿Respuesta a la muerte neuronal???

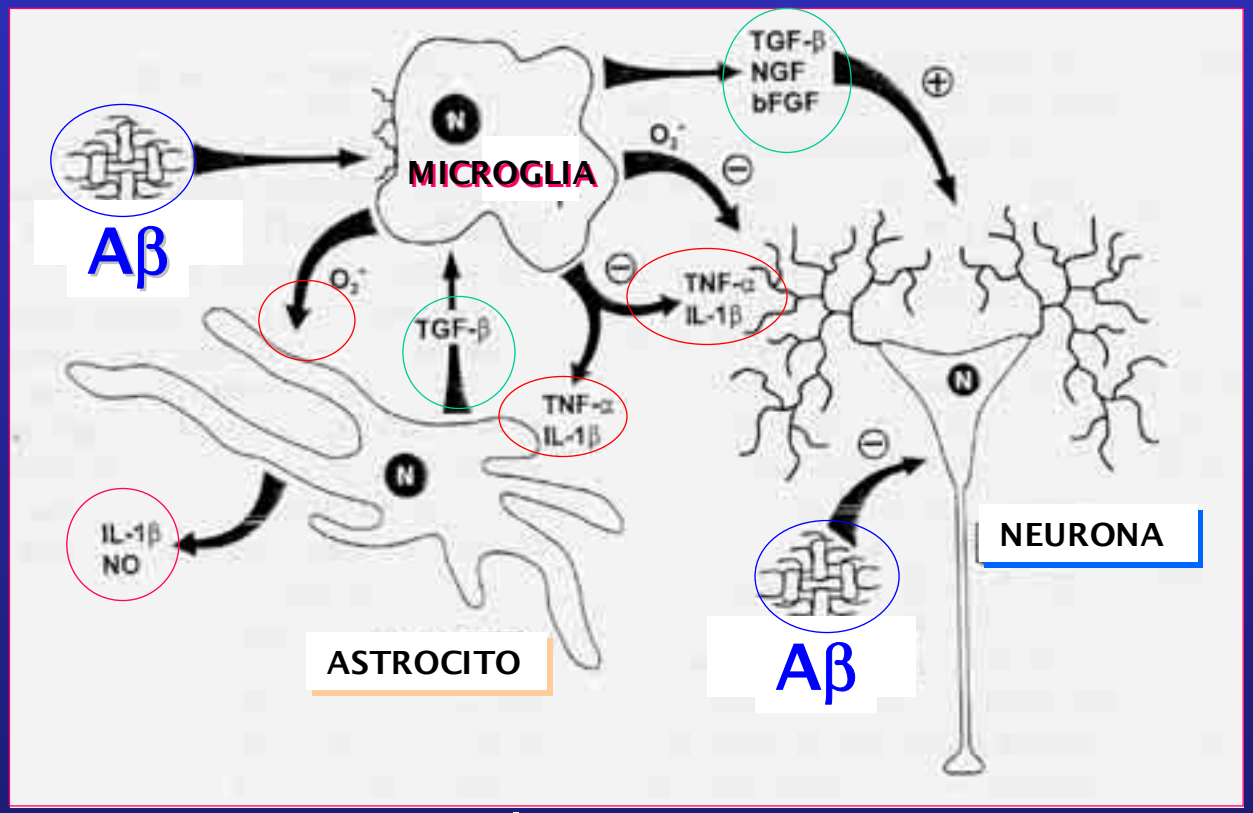
Alzheimer:
Aβ activa microglia y aumenta CK y ROS

Down:
Microglia aumenta Aβ, CK y ROS

Parkinson:
LPS aumenta microglia y aumenta ND de N. DA

HIV demencia:
Aumenta microglia infectada por virus

INFLAMACIÓN Y ALZHEIMER



Aβ activa microglia: ROS y CK
Microglia activa astrocitos. Productos de microglia y Aβ actúan sobre neurona

Respuesta Inmune INNATA:

No específica, presente al nacimiento y no depende de exposición previa al antígeno
Comprende barreras físicas y químicas
Fagocitos macrófagos, **microglia**

Respuesta Inmune ADAPTATIVA

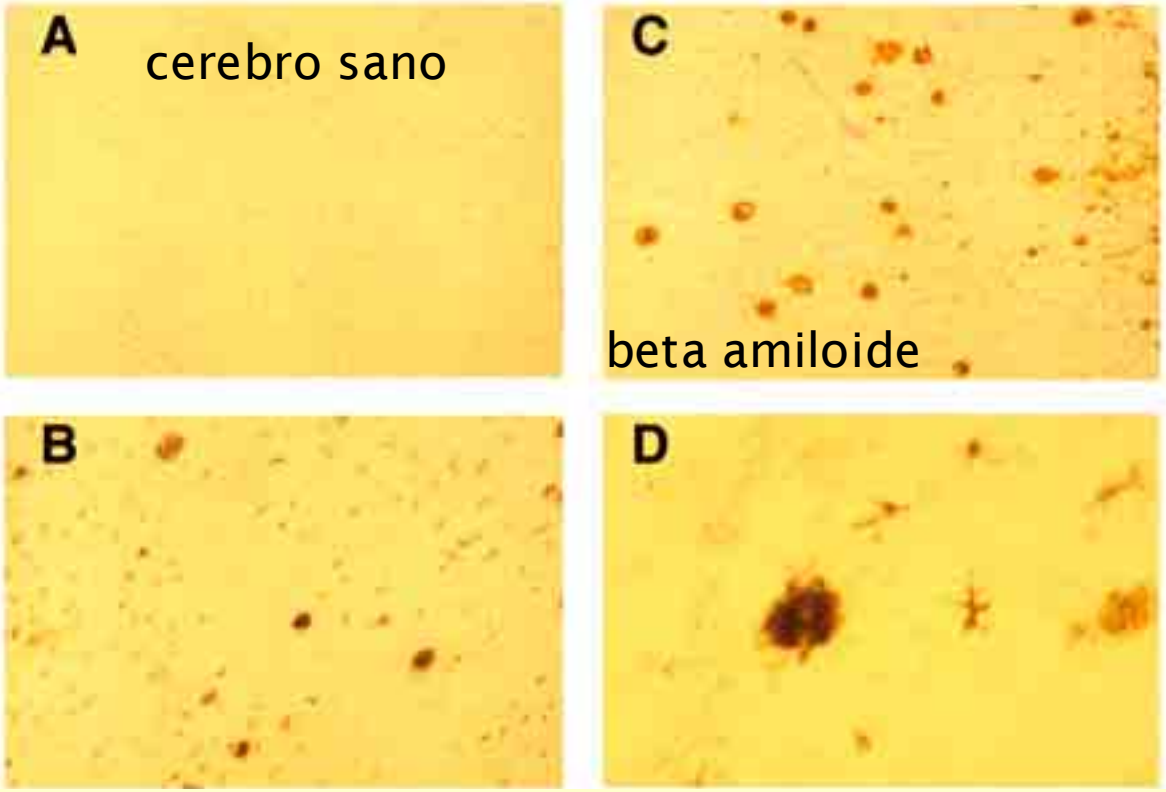
Específica, adquirida a través de respuestas de linfocitos a antígenos específicos resultando en memoria inmune
Es un sistema celular y humoral
TH1 proinflamatorio activa macrófagos
TH2 regulador activa linfocitos B para producir anticuerpos

Las **placas Aβ** están rodeadas de microglia y astrocitos activados

Hay CK proinflamatorias, complemento y NO

La respuesta inmune se vuelve crónica y neurotóxica

MICROGLIA EN ALZHEIMER



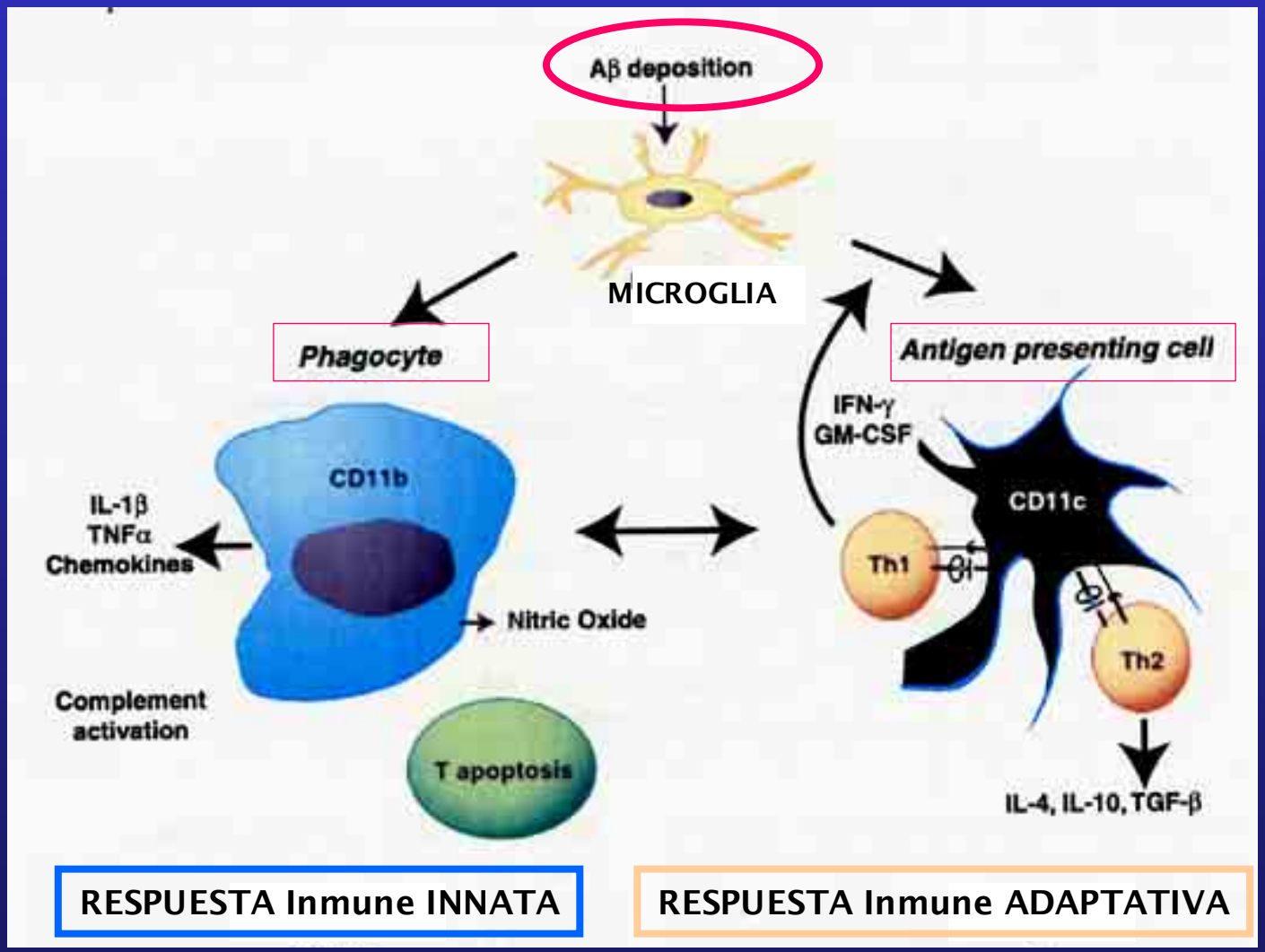
microglia y depósitos Aβ

Aβ induce,

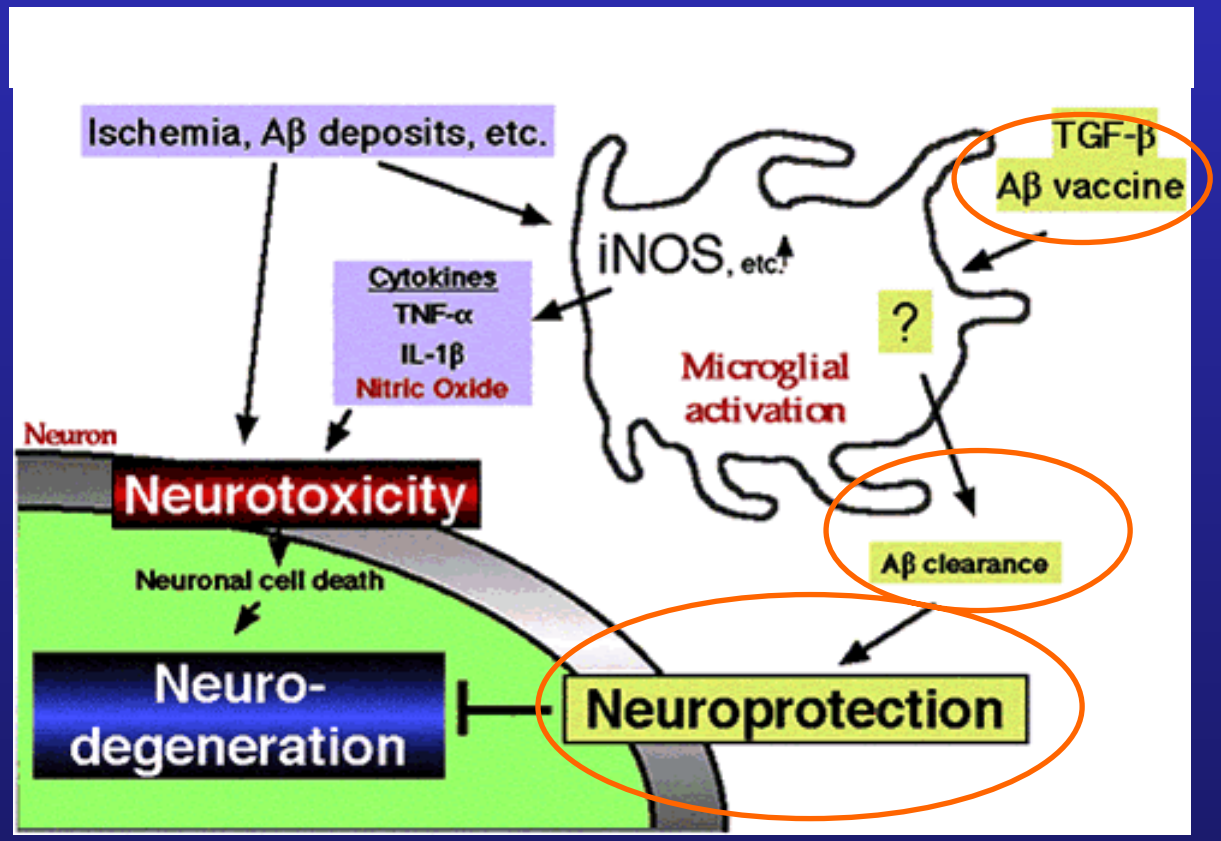
1. **Respuesta inmune innata** en SNC
   Activa microglia con la producción de CK y ROS y NO

2. **Respuesta inmune adaptativa** en la periferia:
   Activación de macrófagos: APC
   Activación de linfocitos B
   APC que migra a nodos linfáticos y allí inducen linfocitos B para producir anticuerpos para eliminar Aβ

INFLAMACIÓN EN ALZHEIMER



INMUNOTERAPIA EN ALZHEIMER



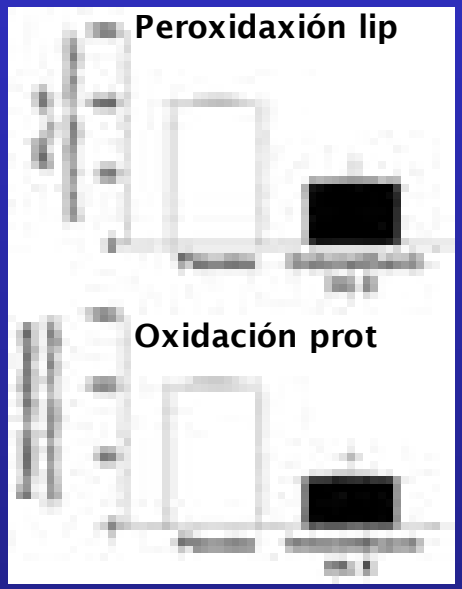
Inmunoterapia en Alzheimer
Pros y contras

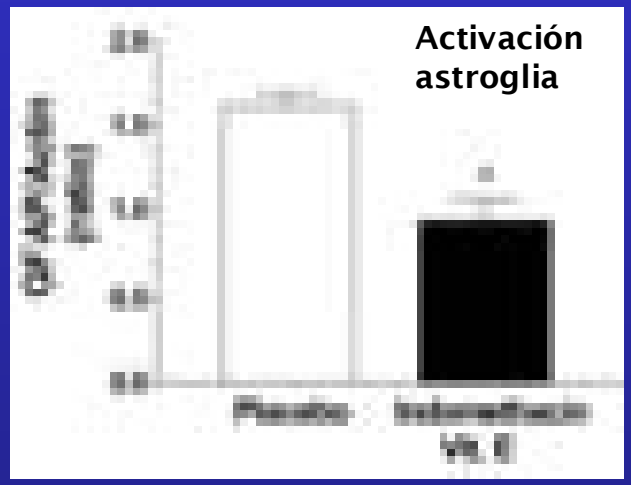
* Anticuerpos monoclonales contra Aβ mejoran rápido función cognitiva por interferir con formas solubles sinaptotóxicas (oligómeros)

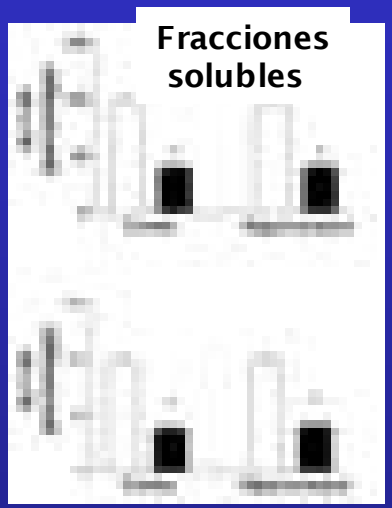
* Fallas en las pruebas clínicas por muerte de pacientes con encefalitis

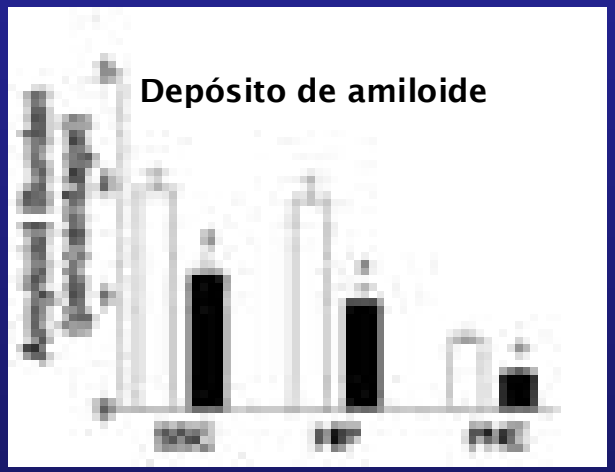
"Activar glia es como jugar con fósforos"

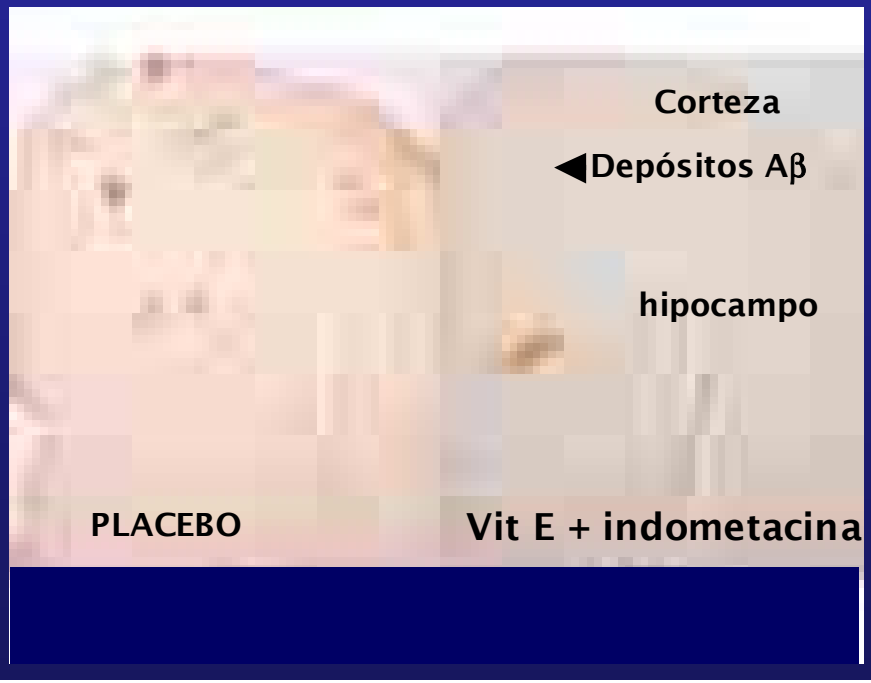
Estrés Oxidativo e Inflamación en ALZHEIMER











Yao Y. et al
Journal of Neuroinflammation 2004, **1:**21

Reducción de CK proinflamatorias en ratones modelos de AD tratados de los 8-15 meses de edad con Indometacina y Vit E

	Placebo (n = 10)	Indometacina & Vit E (n = 10)	P
PGE_2 (pg/mg tejido)	92 ± 8	39 ± 5*	<0.01
TxB_2 (pg/mg tissue)	148 ± 10	15 ± 4*	<0.001
IL-1β (pg/mg proteína)	75 ± 12	33 ± 8*	<0.01

Promedios ± S.E.M.

Yao Y. et al
Journal of Neuroinflammation 2004, **1:**21

En ALZHEIMER:
ESTRÉS OXIDATIVO
e
INFLAMACIÓN

Dos blancos terapéuticos
diferentes

Antinflamatorios y Antioxidantes
aumentan
efecto
anti-amiloidogénico

Yao Y. et al
Journal of Neuroinflammation 2004, **1:**21

Noticias...

J. Neuroscience Febrero 2005

Receptores canabinoides y microglia en Alzheimer

* Cerebros de Alzheimer tienen menos receptores canabinoides

* Modelos Aβ tratados con canabinoides mejoran aprendizaje y contrarrestan la actividad de microglia

Para otros,

ALZHEIMER no es por aumento de actividad de la microglia,

sino por defecto en su función,
pierde habilidad en proteger al cerebro!!

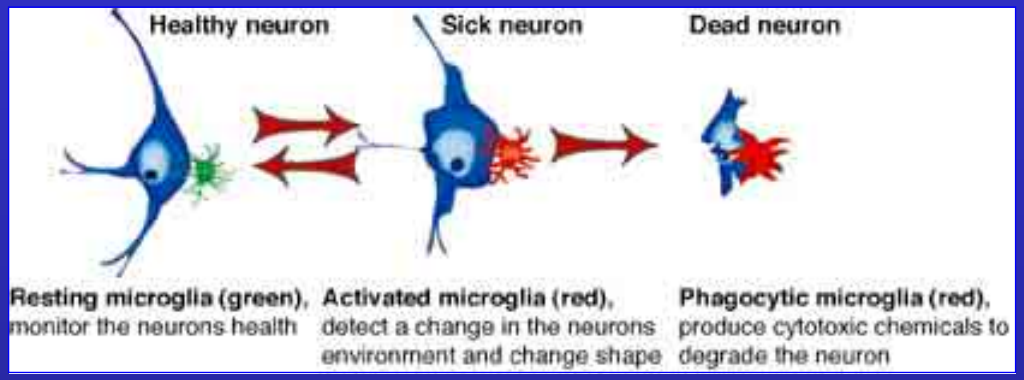
Microglía
En cerebro
JOVEN 38 años

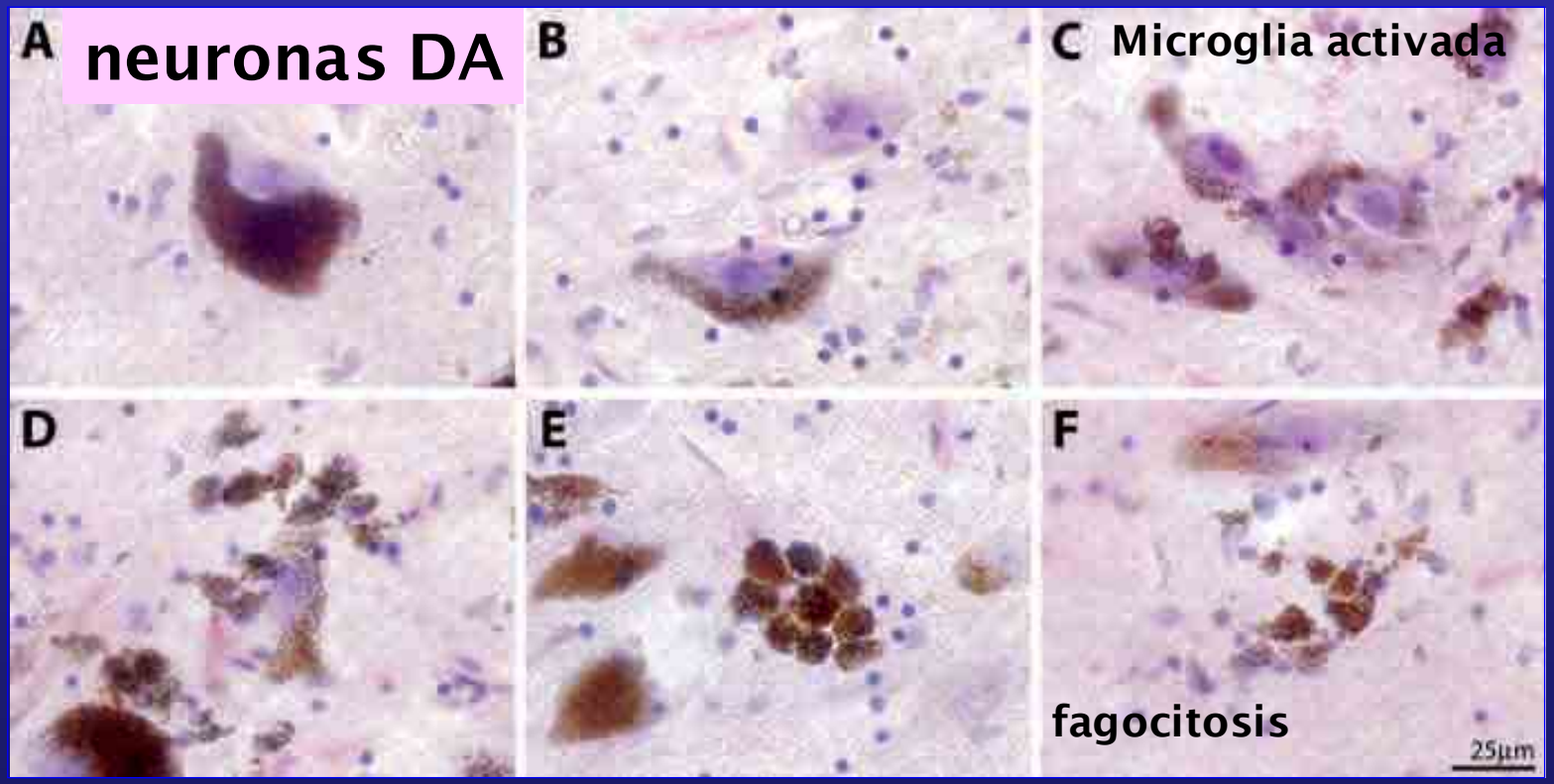
Microglía
En cerebro
VIEJO 68 años

En lugar de combatir la microglia hay que mantenerla sana !!

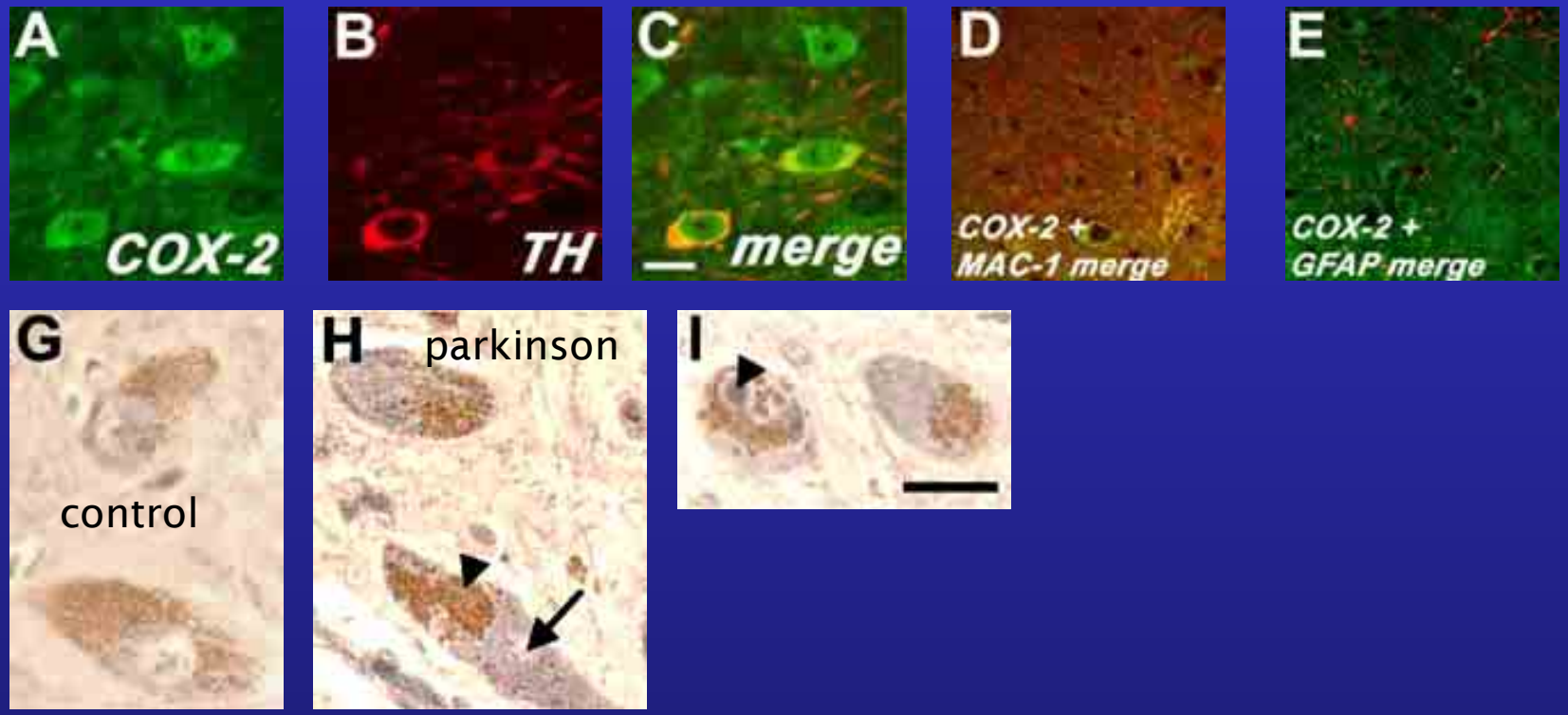
La microgliosis pudiera ser un esfuerzo para reparar el daño

Inflamación en PARKINSON





Inflamación en PARKINSON



COX-2 es expresada en neuronas TH (A-C) pero no en MAC-1 (D) o GFAP (E).
COX-2 (azul) en neuronas DA en PD (H-I) en un cuerpo de Lewy

Teismann et al. 2003

Caspasas 1 y 11 relacionadas con inflamación y apoptosis

Pueden ser factor común de inflamación y enfermedades neurodegenerativas!!

Ratones K-O sin caspasa 1 son más resistentes a MPTP!

Modelo MPTP

* Aumento de actividad microglia agudo, no crónico

* Induce muerte de N. DA agudo y crónico

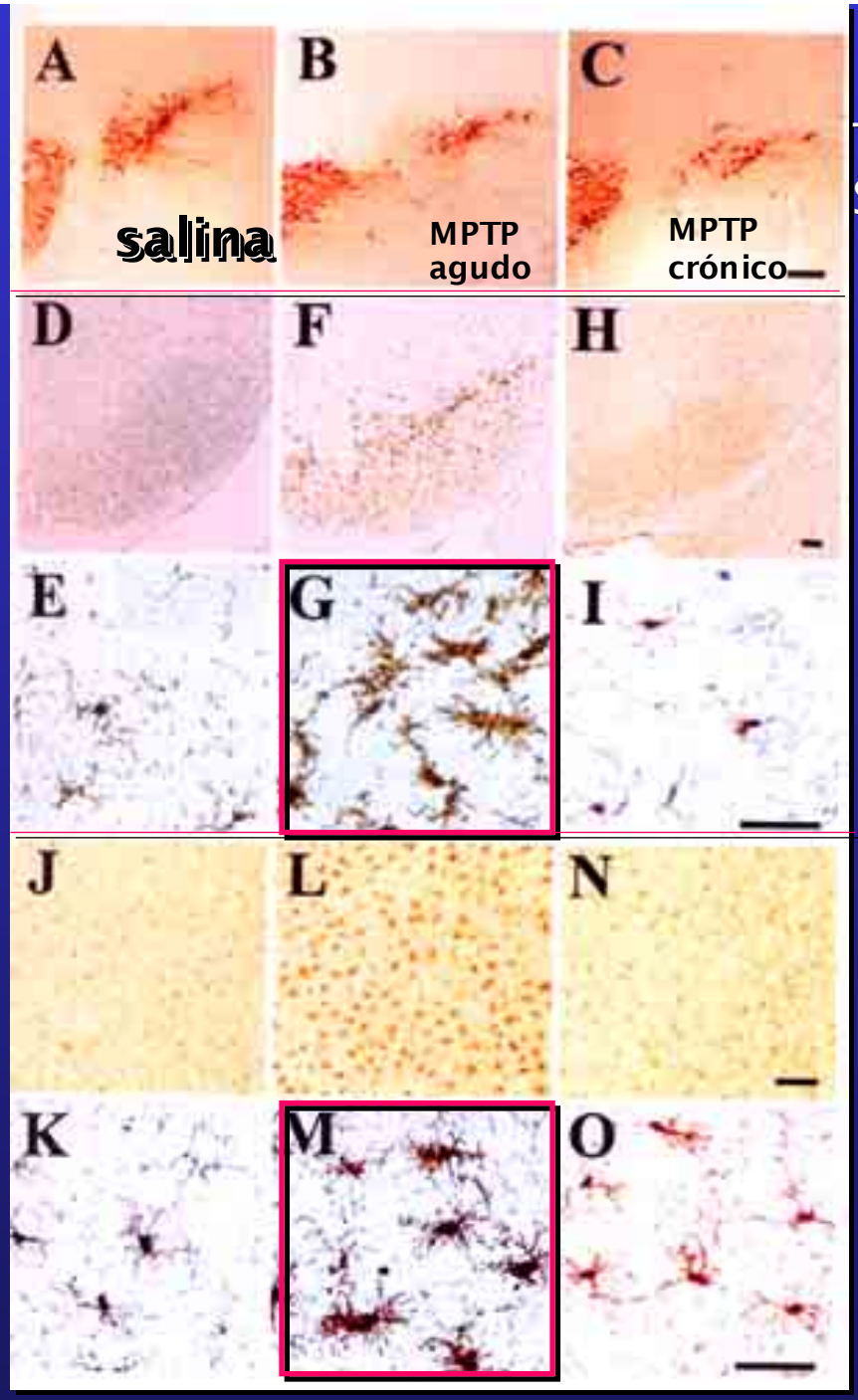
* Aumento de caspasa 11 en N. DA y microglia (casi toda aquí)

* Aumento de iNOS en microglia en tratamiento agudo

Modelo animal MPTP (Parkinson) ACTIVACIÓN MICROGLIA

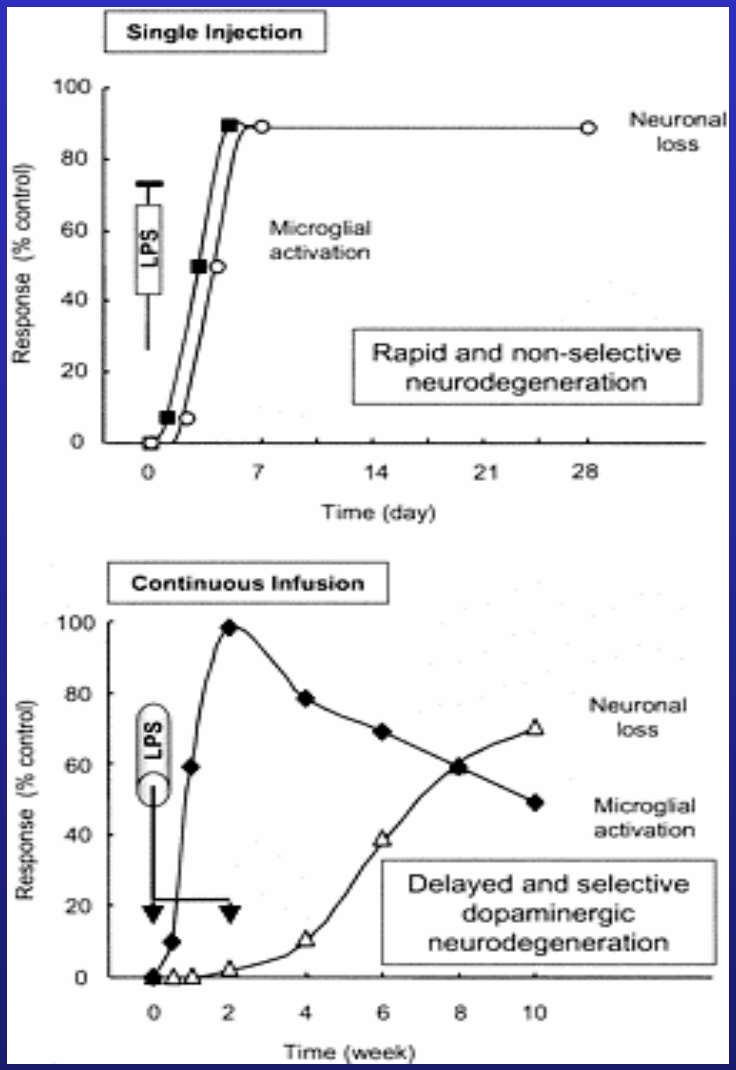
Sustancia negra

Estriado

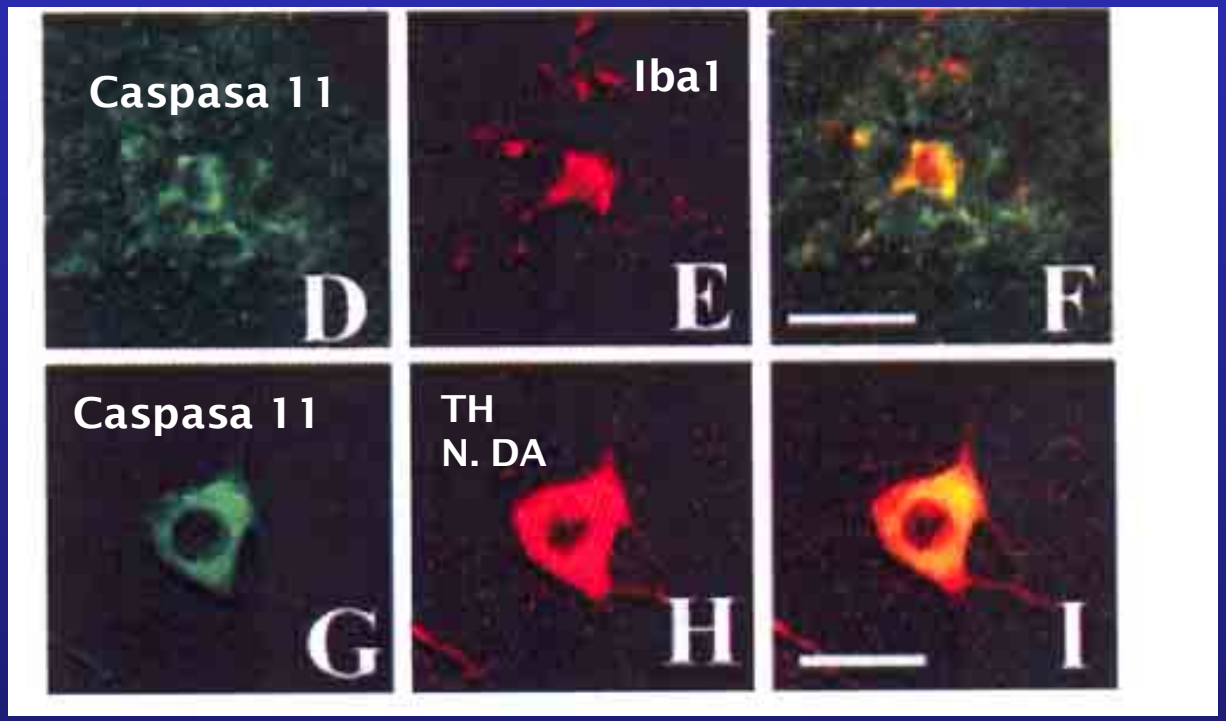


TH Sustancia negra

Iba1 microglia

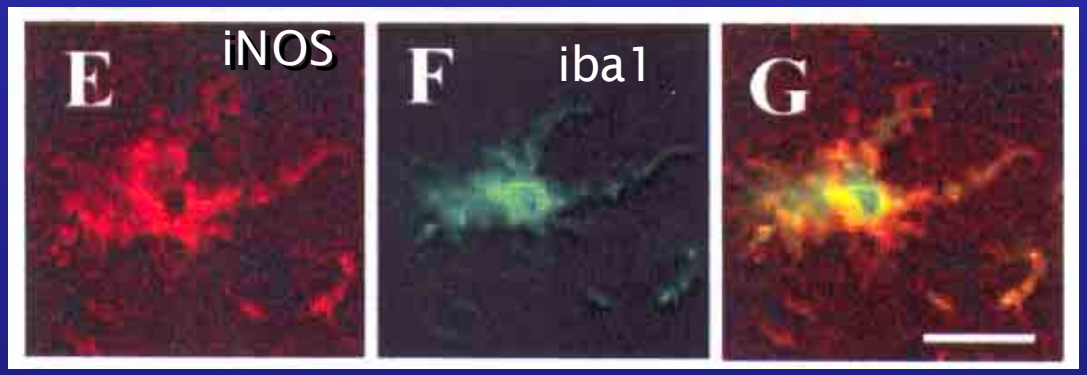

Single Injection
Response (% control)
100
80
60
40
20
0
LPS
Microglial activation
Neuronal loss
Rapid and non-selective neurodegeneration
0
7
14
21
28
Time (day)
Continuous Infusion
Response (% control)
100
80
60
40
20
0
LPS
Neuronal loss
Microglial activation
Delayed and selective dopaminergic neurodegeneration
0
2
4
6
8
10
Time (week)

Microglia y apoptosis en PARKINSON



Expresión de caspasa 11en neuronas y microglia después de MPTP en SN

Microglia y ROS en PARKINSON



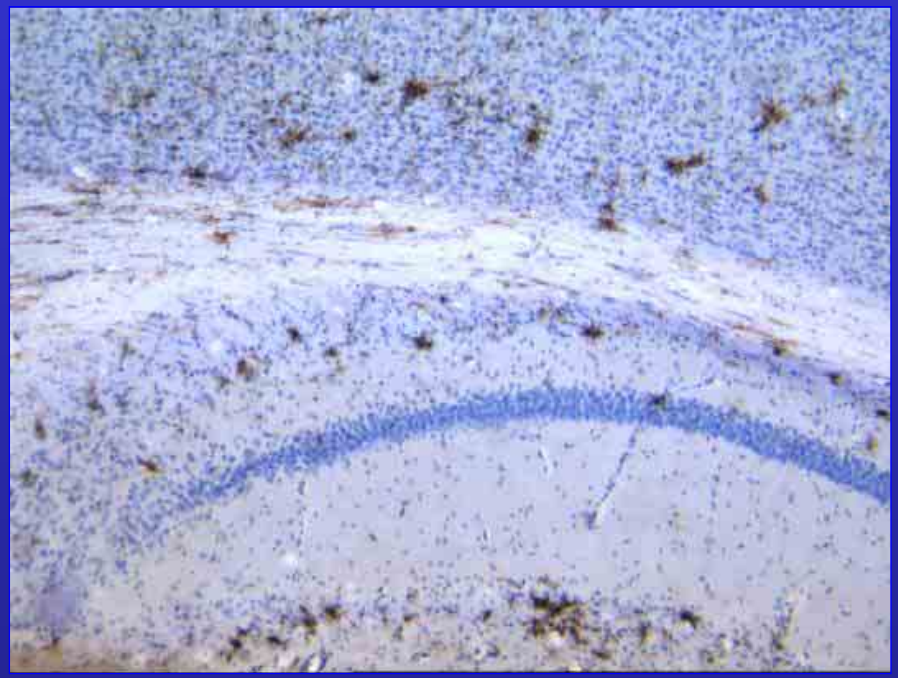
iNOS inducida por MPTP
en microglia de SNpc

Vías de muerte en N. DA

1. Inflamatoria por microglia vía caspasa 11 aguda

2. Apoptótica mitocondrial crónica

El tratamiento exitoso debe considerar ambas vías!!

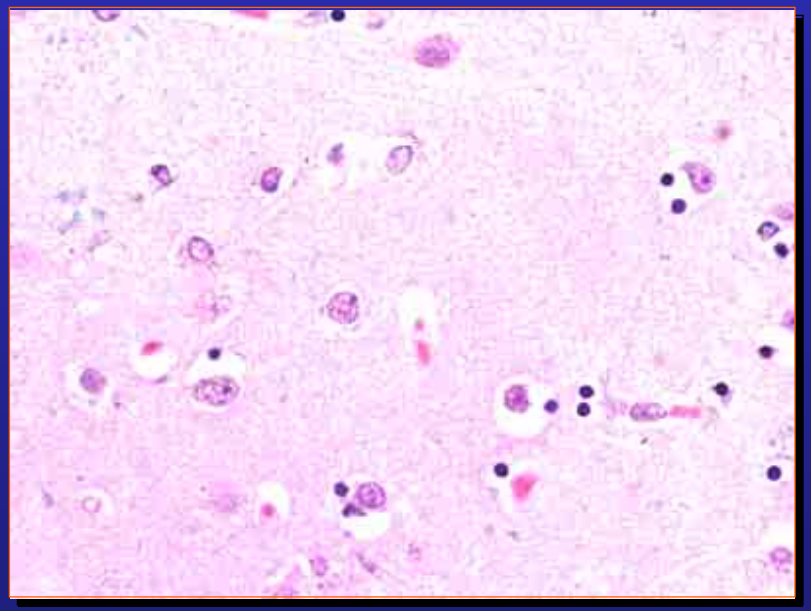


Microglia activada, cerebro de ratón

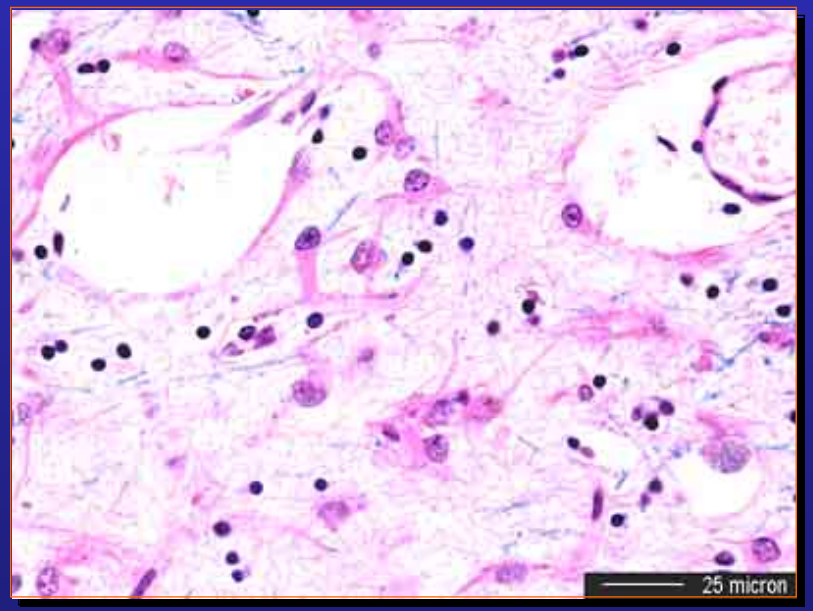
Microglia en ALS

B. Glia fagocítica
C. Glia cerca de motoneuronas
D. Glia rodenado esferoides neuroaxonales

Inflamación en HUNTINGTON

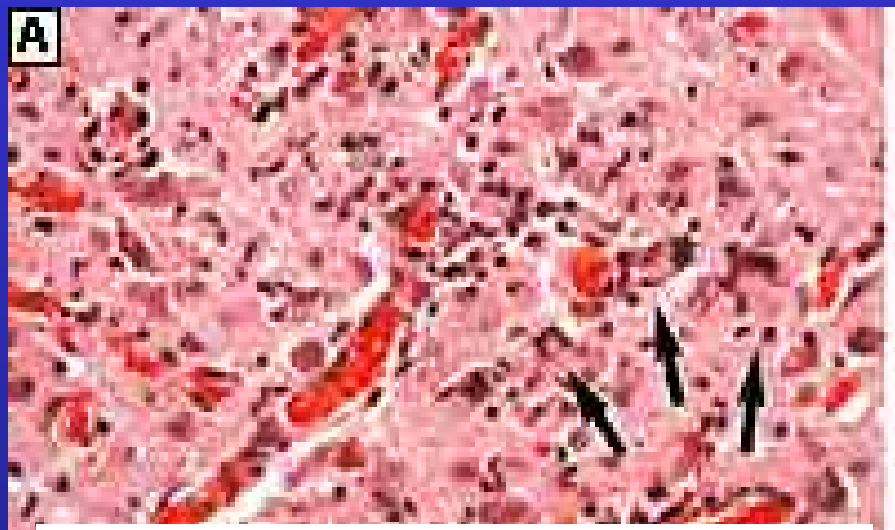


Estriado control

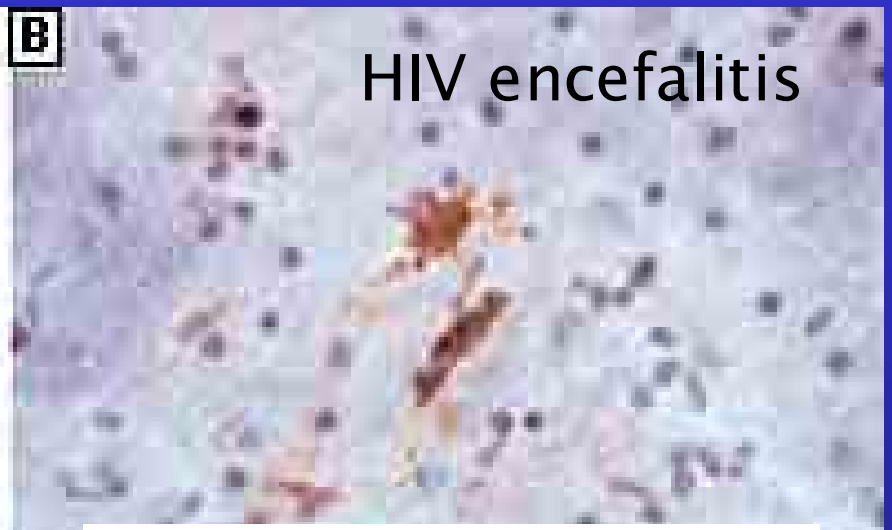


Astrogliosis

HIV encefalitis

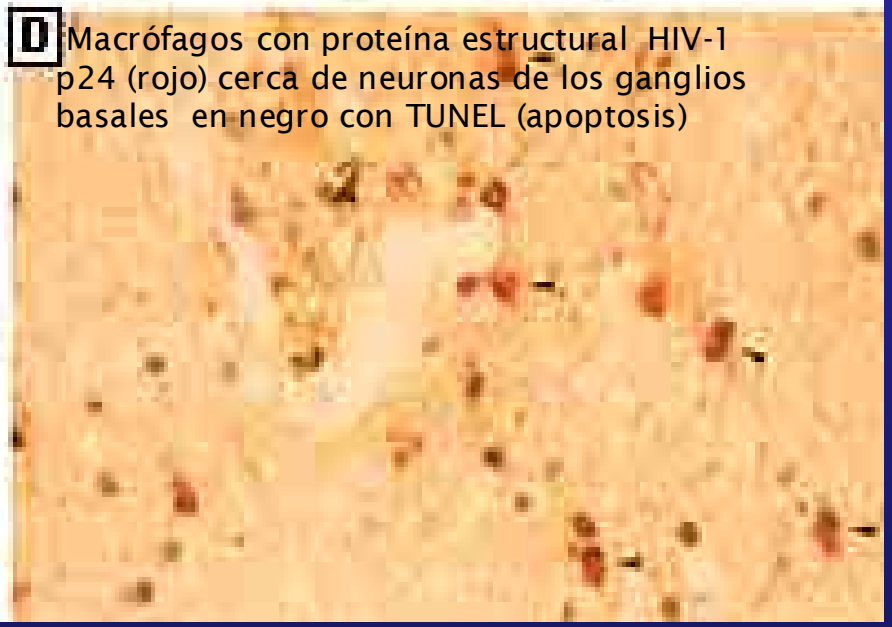


Células gigantes multinucleadas (flechas) (macrófagos infectados y **microglia** perivascular)



Microglia infectada y activada mostrada con anticuerpo a proteína HIV-1 p24

Astrocitos con HIV-1 regulatory protein Nef rodean la infección



Macrófagos con proteína estructural HIV-1 p24 (rojo) cerca de neuronas de los ganglios basales en negro con TUNEL (apoptosis)

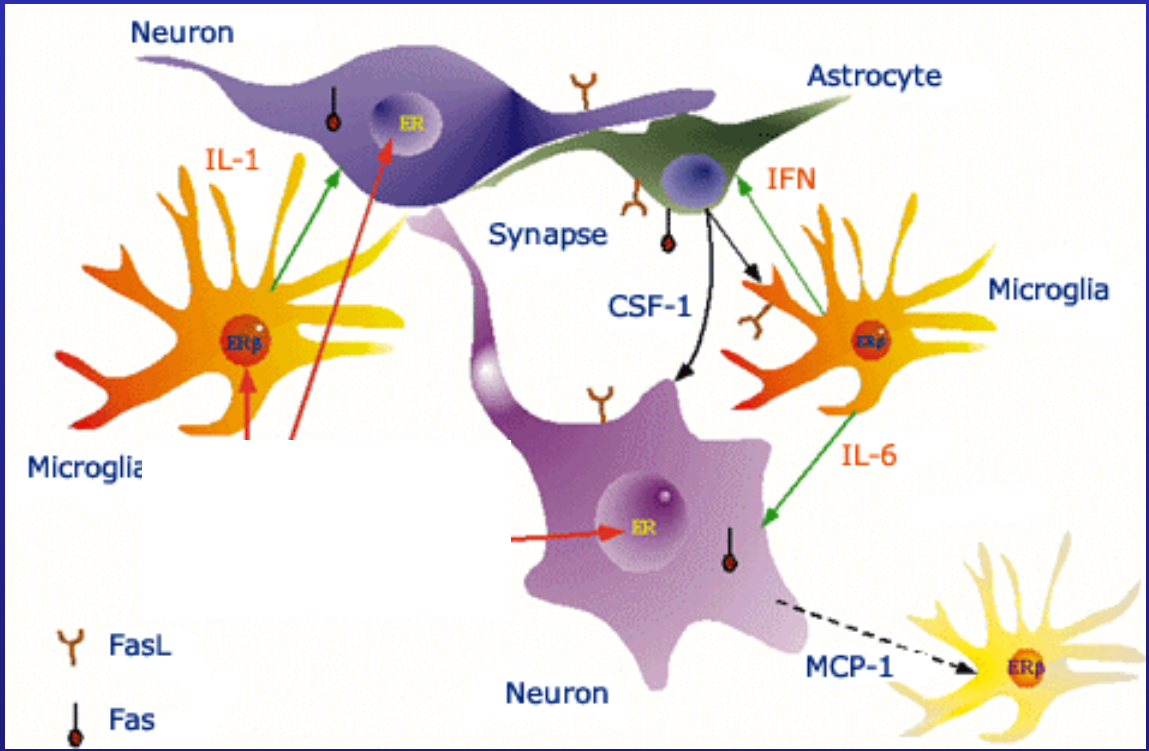
RELACIÓN GLIA-EXCITOTOXICIDAD

* La **glia activada** aumenta producción de **NO** por inducción de iNOS

* **NO** inhibe respiración celular
  aumenta ROS
  disminuye ATP
  aumenta liberación de **GLU**

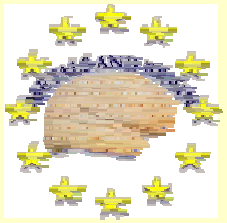
* Excitotoxicidad
  Entrada masiva de **calcio**

* **MUERTE NEURONAL**


Neuron
Astrocyte
ER
IL-1
IFN
Synapse
CSF-1
Microglia
ERβ
Microglia
IL-6
ER
FasL
Fas
Neuron
MCP-1
ERβ

METABOLISMO DE METALES
Y
NEURODEGENERACIÓN

From Neurochemistry



to Neurodegeneration

REPORT ON THE FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE ON "METALS AND THE BRAIN-FROM NEUROCHEMISTRY TO NEURODEGENERATION"

Department of Biology, University of Padova, Italy, 20-23 September 2000

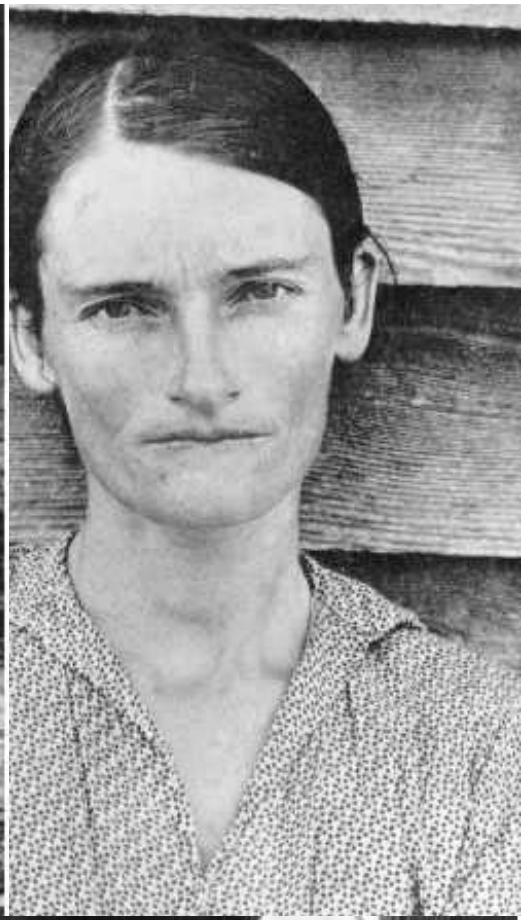
ALZHEIMER y Zinc

PARKINSON y Hierro

ALS y Cobre, Zinc, Manganeso

El **hierro** es el metal más abundante en el cerebro
Cuando está aumentado puede volverse tóxico y aumentar ROS (Reacción Fenton) en Parkinson

El **cobre** puede aumentar en Alzheimer y ALS

El **zinc** promueve muerte neuronal por aumentar ROS, disminuir Vm mt y ATP

El **selenio** reduce actividad microglial y daño tisular, es neuroprotector