

PER QUÈ ES MOREN LES NEURONES?

Escrit per:

Santiago Ambrosio Viale

Departament de Ciències Fisiològiques II,
Universitat de Barcelona

Sembla una pregunta trivial, a la qual estariem temptats de respondre: les neurones es moren perquè es moren, com tota entitat viva, perquè ha envellit, perquè se li ha acabat l'*élan vital* (ATP) o perquè ha sofert una agressió que no ha pogut superar, i preguntar-nos gaire perquè més sobre la mort ens podria dur a un camí metafísic sense sortida. Però no és ben bé així de senzill, o de complicat, segons es miri: encara que la mort en si és en general un fet no desitjat, resulta avui dia prou clar que moltes cèl·lules, entre elles les neurones, estan activament programades per fer-se l'harakiri.

Les neurones dels mamífers, per tant les humanes també, estan entre els tipus cel·lulars de vida mitjana més llarga. Encara que el descobriment recent de les cèl·lules mare neuronals (neural stem cells) ha destapat la possibilitat d'una neurogènesi en el cervell adult, és un dogma prou acceptat que la majoria de neurones del nostre sistema nerviós viuen tant com nosaltres. Però el sistema nerviós central, i per tant el cervell, durant el desenvolupament es va modelant mitjançant l'eliminació de neurones en excés, per assegurar

la precisió de les connexions presinàptiques i postsinàptiques. A més a més les neurones poden morir prematurament durant l'edat adulta quan es veuen subjectes a unes condicions neurotòxiques agudes o cròniques per factors genètics o accidentals.

Quan una neurona es mor perquè s'ha de morir ens referim sovint a aquest procés com a mort programada o apoptosi, terme que simbòlicament es refereix a la caiguda de fulles d'una planta o de pètals d'una flor. És prou diferent del procés més barroer relacionat amb l'enverinament o ofec cel·lular conegut com a necrosi. Durant el desenvolupament del cervell, aproximadament la meitat de les neurones que es formen no sobreviuen i moren de forma programada. Podríem dir que depenent de les àrees cerebrals aquest fet involucra entre el 30% i el 70% de les neurones que es van formant. En general es formen doncs en el sistema nerviós moltes més neurones de les que cal. Durant tot el procés de maduració del cervell hi ha una selecció i les neurones que no donen la talla s'han d'autoeliminar. Però hi ha encara un altre procés en el qual la neurona a la que se li posen difi-

cils les coses, és a dir que no li arriba prou oxigen o prou nutrients, passa a alimentar-se d'ella mateixa. És un procés que coneixem amb el nom prou significatiu d'autofàgia i que, per damunt d'un llinard, pot dur la neurona a la seva pròpia destrucció. No és un procés exclusiu de la neurona. L'hepatòcit ho està fent contínuament i totes les cèl·lules tenen una certa capacitat de destruir parcialment les seves estructures per construir-ne de noves. La neurona pot entrar en autofàgia per intentar sobreviure a una situació difícil, i poc o molt en tots els processos neurodegeneratius podem trobar neurones que s'estan cruspint a elles mateixes. Però la capacitat d'adaptació de la neurona a situacions metabòliques adverses és limitada: si no li tornen a arribar aviat l'oxigen i la glucosa que li manquen, o en el seu defecte lactat o cossos cetònics (i en aquest cas sense passar-se perquè tant un com l'altre volen dir acidificació i això a la neurona tampoc no li agrada gens) la neurona continua "autofagiant-se" i arriba un punt (difícil de determinar) que aquest procés no té marxa enrera. ¿Es desencadena llavors una apoptosi o

Imatge neurona de rata de www.uma.es modificada per J. Planagumà.

bé la neurona s'acaba col·lapsant i entra en necrosi? La veritat és que ben bé no ho sabem i possiblement poden passar les dues coses. Sigui com sigui, quan es parla de mort neuronal programada no sempre estem davant d'una apoptosi, que anomenarem mort programada de tipus I, sinó que de vegades estem davant d'una autofàgia que, si no aconsegueix que la neurona reaccioni, la duu a la mort; mort programada de tipus II en aquest cas. En el primer tipus la mort cel·lular té lloc sense cap activació perceptible de lisosomes, però les cèl·lules poden ser finalment destruïdes per fagocitosi i activació secundària de lisosomes pels macròfags. En el segon tipus de mort programada les cèl·lules s'eliminen després de l'activació dels seus propis enzims lisosomals. En el tercer tipus de mort no hi ha cap intervenció evident dels lisosomes i correspon a la mort de tipus III o necrosi.

APOPTOSI

L'apoptosi es va definir inicialment en base a una sèrie de característiques ultraestructurals segons la següent seqüència: condensació nuclear i citoplasmàtica, fragmentació cel·lular i fagocitosi. Els canvis nuclears representen l'evidència més inequívoca d'apoptosi. La cromatina es condensa formant unes masses electrodenses adornades amb material granular. Aquesta condensació inicial evoluciona cap a una veritable picnosi o degeneració nuclear. A la vegada, en el citoplasma també té lloc una condensació i la membrana cel·lular es replega fins a donar a la cèl·lula una forma estrellada. A mesura que progressa la condensació del citoplasma poden aparèixer alguns vacúols, però els orgànuls intracel·lulars no en resulten afectats, encara que es queden anormalment apilonats com a conseqüència de la pèrdua de citosol. La cèl·lula i el nucli van adquirint un aspecte cada vegada més irregular: primer el nucli es fracciona tot i mantenint l'embolcall nuclear i al final la cèl·lula acaba fraccionant-se, donant lloc als anomenats cossos apoptòtics, que seran fagocitats per les cèl·lules veïnes o pels macròfags i de-gradats per heterofagosomes. L'apoptosi té un paper important en fer desaparèixer un bon nombre de neurones durant el desenvolupament del sistema nerviós central. Aquest fet es pot constatar especialment en el cerebel i més concretament en les neurones granulars, unes neurones que curiosament entren en apoptosi quan s'hiperpolarit-

zen (al menys *in vitro*), fet que fa pensar que la funció està condicionada al fet que estiguin despolaritzades. Com a resposta a agressions del tipus isquèmia, hipòxia, excitotoxines, unes neurones desenvolupen apoptosi amb més facilitat que altres, per exemple les neurones piramidals de l'hipocamp i del còrtex. En processos neurodegeneratius se suposa, més que s'hagi demostrat de manera convincent, que hi ha subjacent una apoptosi expressada inadecuadament.

En els mecanismes moleculars que dirigeixen l'apoptosi de les neurones, igual que en les altres cèl·lules, té un paper clau l'activació d'unes cys-proteases que reconeixen aspartats en els seus substrats i per això s'anomenen caspases. Les caspases són responsables de la degradació de material citosòlic i de l'activació de les nucleases que durà a la fragmentació nuclear. Altres caspases tindran la finalitat d'activar-se entre elles. Així podem distingir unes caspases que es posen en marxa a partir de senyals extracel·lulars de mort (FasL, TNF α , Trail) a través dels seus receptors respectius (Fas, TNFR, DR), com la caspasa-8 i la caspasa-10, i altres caspases que es posen en marxa a partir de dany mitocondrial i de sortida al citosol de material propi del mitocondri (citocrom C, factors AIF o smac/diablo), com la caspasa 9. Són les caspases iniciadores, que poden activar altres caspases efectores (caspasa-3, caspasa-6, caspasa-7) hidrolitzant-les i permetent la seva entrada al nucli, on poden activar les nucleases que degraden el DNA segons uns patrons molt regulars. Qualsevol causa que afecti doncs el bon funcionament del mitocondri de la neurona pot acabar en apoptosi. Les neurones són particularment sensibles a situacions d'isquèmia, hipòxia i hipoglucèmia, que deixen el mitocondri en situació crítica o en veritable fallida. Quan en la cadena respiratòria mitocondrial no hi ha un equilibri entre l'aportament d'electrons i el consum d'oxigen, la reducció de l'oxigen esdevé incompleta i es produeixen radicals lliures fàcilment. El mitocondri té una sèrie de mecanismes que li permeten controlar que no passi material mitocondrial cap al citosol (família de proteïnes antiapoptòtiques, com bcl-2, bcl-x). Quan el mitocondri està malmès o augmenta la concentració de radicals lliures guanyen els mecanismes pro-apoptòtics (bax, bak) que deixen sortir aquest material i posar en marxa la caspasa-9. Una neurona rep contínuament senyals tròfics (NGF, BDNF, GDNF, CNTF o altres) que

mitjançant els seus receptors (TrkA, TrkB, c-Ret, CNTFR) estimulen els factors anti-apoptòtics i inhibeixen els proapoptòtics. D'aquesta manera, quan manquen aquests senyals (privació tròfica) la neurona pot entrar en apoptosi.

Tot això respon a un mecanisme molt controlat i costós de mort dirigida, és un suïcidi necessari, ja sigui per permetre la supervivència de les neurones adequades, ja sigui per evitar rèmores de neurones que no funcionen bé. En el cas que aquest procés de mort natural es bloquegi en el desenvolupament, en resulta un cervell hipertrofiat, amb els ventricles col·lapsats i una pressió intracraneal que impedeix la supervivència més enllà de pocs dies després del naixement. Però l'apoptosi no explica sempre la desaparició de neurones.

NECROSI

Normalment s'indica com a necrosi la desaparició d'una cèl·lula o grup de cèl·lules com a resultat d'una agressió, una malaltia o un estat patològic. Tradicionalment la necrosi s'associa a factors que duen a una mort no fisiològica. Es poden distingir dos estadis: la mort de la cèl·lula, que es pot definir com l'alteració irreversible dels mecanismes cel·lulars que permeten que la cèl·lula mantingui la seva homeostasi, i la subsegüent degeneració de la cèl·lula morta. La necrosi acostuma a implicar nombroses cèl·lules properes i acostuma a estar associada a un procés inflamatori. La cromatina es condensa formant uns grumolls poc definits al llarg de la membrana nuclear. En el citoplasma poden aparèixer mitocondris anormalment inflats i trenaments membranals visibles. En estadis més avançats s'observa una desintegració dels orgànuls cel·lulars i de les membranes.

La dicotomia entre apoptosi i necrosi, que molt sovint s'ha utilitzat per referir-se a processos totalment diferents de mort, està en realitat bastant qüestionada. El forat que quedaria entre l'apoptosi clàssica i la necrosi pot ser omplert per tota una sèrie de processos intermedis en què els reïnflaments membranals i el grau de condensació de la cromatina poden ser més o menys evidents.

AUTOFÀGIA

Si apoptosi i necrosi estan en els extrems d'una gamma de processos que duen a la mort cel·lular, encara hem de tenir en comp-

te un altre mecanisme. L'autofàgia es refereix a una forma de mort cel·lular en la qual el citoplasma es destrueix activament pels enzims lisosomals, força abans de que els canvis nuclears resultin aparents. La característica més evident és l'aparició de grans vacúols autofàgics d'origen lisosomal en el citoplasma, amb inclusions intravacuolars i múltiples capes de membranes fosfolipídiques. Només quan les tres quartes parts del citoplasma han resultat destruïdes es poden començar a veure modificacions en la cromatina i es pot detectar una fragmentació del DNA en oligòmers no regulars. Els trossos de cèl·lula que han quedat són fagocitats, com en el cas de l'apoptosi. Que l'autofàgia sigui però prioritàriament un mecanisme de mort cel·lular és qüestionable, especialment en les neurones. Quan una neurona es troba en una situació de manca de nutrients o d'oxigen, el primer recurs al que probablement recorre és a utilitzar el seu propi material com a font de nutrients. Si la situació fisiològica es compensa i l'autofàgia no ha anat gaire enllà, la neurona pot sobreviure. Si la situació no es compensa l'autofàgia acaba matant la cèl·lula. Així doncs, probablement en la neurona l'autofàgia s'ha de considerar abans que res com un mecanisme de supervivència que es pot convertir en un mecanisme de mort si no es posa remei a la situació. S'ha hipotetitzat que l'autofàgia pugui ser un pas previ per a l'apoptosi però també que l'autofàgia sigui un procés per frenar l'apoptosi, ja que en alguns casos quan s'impedeix l'autofàgia s'indueix apoptosi. Sens dubte els dos processos han d'estar relacionats mecanísticament. Un dels factors que intervenen en els dos processos és, sense anar més enllà, bcl-2. Sabem des de fa temps que és un factor antiapoptòtic que protegeix el mitocondri. Sabem des de fa menys temps que un complex intracel·lular, format per una fosfatidilinositol-3-cinasa (la PI3K-típus III) associada al reticle endoplasmàtic i a la proteïna beclina, és necessari per activar l'autofàgia en resposta a necessitats metabòliques. Aquest complex està regulat negativament per bcl-2, que tindria aquest doble paper d'antiapoptosi i anti-autofàgia. Bcl-2 s'ha de separar del complex PI3K-III/beclina per a que s'indueixi l'autofàgia. D'altra banda l'autofàgia està frenada mentre la síntesi de proteïnes és correcta, procés regulat per la via de la quinasa mTOR, a partir de la PI3K-típus I. En el moment que

aquest procés s'atura, per manca de síntesi proteica, per manca d'aminoàcids o per rapamicina, es desencadena l'autofàgia. D'aquesta manera activitats PI3K poden intervenir en la regulació de l'autofàgia en sentits contraris: la I impedit-la i la III activant-la. L'activació de l'autofàgia vol dir que es posa en marxa una cascada de proteïnes que coneixem com a proteïnes Atg (de proteïnes autofàgiques, és clar), capaces d'unir-se a fosfolípids i donar lloc a una ve-

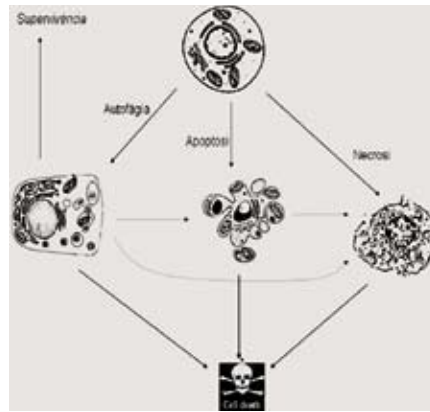


Figura 1. Vies que conduïxen a la mort cel·lular

sícula autofàgica que es forma de novo al voltant d'una porció de citoplasma o d'un orgànul (autofagosoma) per acabar fonent-se amb un lisosoma (autofagolisosoma) que digerirà tot el material englobat.

¿Són apoptosi, autofàgia i necrosi fenòmens i mecanismes totalment independents? De ben segur que no. Lligams entre els tres ja s'han descrit i molt possiblement participen tots tres en un procés neurodegeneratiu, però tan sols tenint un ventall de totes les possibles maneres que duen una neurona a morir-se podem intentar acostar-nos a respondre què està passant i potser un dia acabar d'entendre-ho.



Santiago Ambrosio Viale (Barcelona 1956) és llicenciat en Ciències Químiques per a la Universitat Autònoma de Barcelona (1979) en la llavors recent iniciada especialitat de Bioquímica. Va obtenir el grau de doctor el 1989 amb una tesi realitzada a la Facultat de Medicina de la UB i a l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri de Milano, on va realitzar una estada de prop de dos anys. Des del 1992 és professor titular de Bioquímica del Departament de Ciències Fisiològiques II, al Campus de Bellvitge de la Universitat de Barcelona. Actualment forma part del

grup de recerca consolidat Apoptosi i Càncer de la UB i de la Red Temàtica sobre Apoptosi del Instituto de Salud Carlos III (RETICS) de la Fundació de recerca IDIBELL. Les seves àrees d'interès se centren especialment en el funcionament del sistema dopaminèrgic i en els processos neurodegeneratius relacionats amb aquest sistema. Com a derivació d'aquest tema, un segon aspecte sobre el qual desenvolupa la seva recerca és el funcionament i caracterització dels neuroblastomes, ja sigui com a precursors de neurones catecolaminèrgiques o com a cèl·lules responsables dels tumors sòlids més freqüents en els nens.

REFERÈNCIES

Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. R.M. Friedlander. *New Engl. J. Med.* 348, 1367-1375 (2003).

Diversity on the mechanisms of neuronal cell death. J. Yuan, M. Lipinski, A. Degterev. *Neuron* 40, 401-413 (2003).

Autophagy: molecular mechanisms, physiological functions and relevance in human pathology. G. Mariño, C. López-Otín. *CMLS Cellular and Molecular Life Science* 61, 1439-1454 (2004).

Autophagy in neurodegenerative disease: friend, foe or turncoat? R.A. Nixon. *Trends in Neuroscience* 29, 528-535 (2006).

Lysosomes and autophagy in cell death control. G. Kroemer and M. Jäättelä. *Nature Reviews Cancer* 5, 886-896 (2005).

Autophagy: in sickness and in health. A.M. Cuervo. *Trends in Cell Biology* 14, 70-77 (2004).

Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. M.T. Lin, M.F. Beal. *Nature* 443, 787-795 (2006).