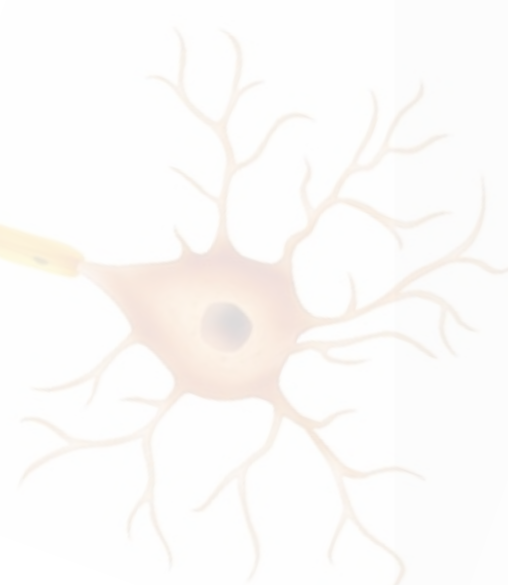


SÍNDROME DE DISFUNCIÓ COGNITIVA EN EL GOS

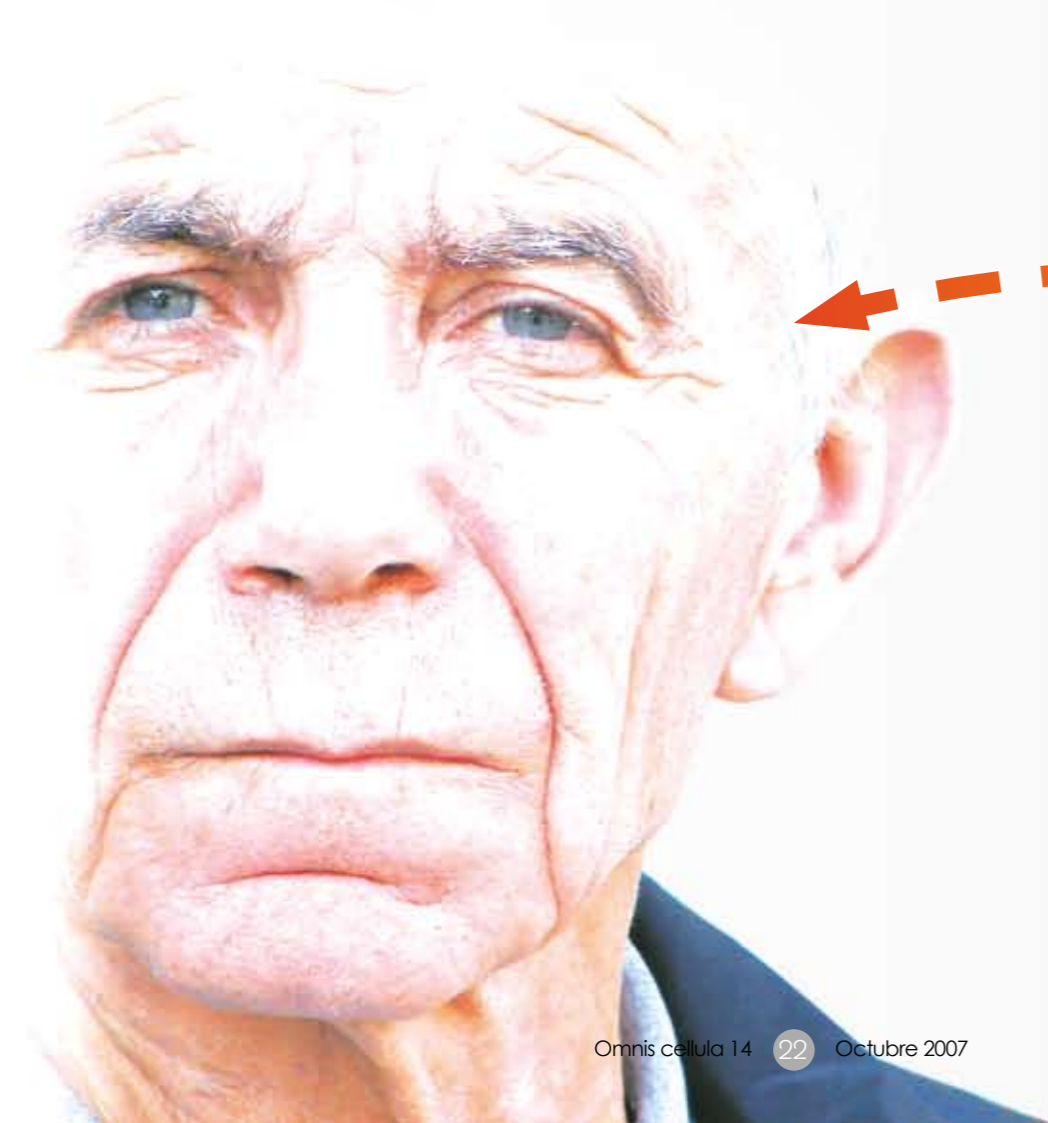
Un model animal alternatiu d'envelliment i demència humana



Escrit per

Marco Pugliese

Grup de Neuroquímica de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona – IDIBAPS



En l'estudi de l'envelliment cerebral humà, els canvis fisiològics que comporta l'edat no estan clarament definits respecte aquells associats amb la condició patològica. En aquest article es presenta el gos com un model animal alternatiu per a l'estudi de l'envelliment i la demència humans. El treball rea-

litzat pel nostre grup d'investigació ha demostrat com el gos ancià de propietaris particulars és un model animal adequat per a la investigació de l'envelliment i la demència en humans, un cop analitzades les seves característiques de comportament, de neuroimatge, neuroquímiques i neuropatològiques.

El major desafiament en l'estudi de l'envelliment cerebral humà és aconseguir definir els límits entre els canvis fisiològics que esdevenen amb l'edat i aquells associats amb la condició patològica, amb la finalitat de desenvolupar un tractament eficaç i prevenir o retardar l'avançament de la malaltia. Tenint en compte que aquests límits no estan clarament definits, els canvis cognitius esperats durant l'envelliment normal no difereixen de les primeres manifestacions clíniques de condicions patològiques relacionades amb l'edat. Per exemple, els problemes de memòria que representen el major signe clínic de la malaltia d'Alzheimer (EA) en les seves primeres fases, també representen un dels més comuns símptomes cognitius d'ancians no dementes. En estudis de ressonància magnètica nuclear (RMN), individus ancians amb signes clínics de dèficit cognitiu lleu presentaven atròfia del lòbul temporal medial, que portava a un diagnòstic d'EA anys més tard. Per altra banda, s'ha trobat atròfia cerebral en individus sense cap signe clínic de dèficit en les proves cognitives. Per estudiar aquests canvis, en la investigació biomèdica s'han utilitzat nombrosos i diferents models animals. Els primats no-humans serien els subjectes més indicats, degut a la possibilitat de reproduir amb major correspondència

els canvis cognitius i identificar les àrees cerebrals afectades, juntament amb una major probabilitat de caracteritzar processos presents de forma similar a l'humà, com pot ser l'envelliment. Problemes ètics, tècnics, de manipulació i cost aconsellen, en la majoria d'estudis, la utilització de rosegadors, principalment la rata o el ratolí.

Des de fa uns anys, gràcies al treball de diversos autors, s'està utilitzant el gos com a model animal per a l'estudi de l'envelliment i la demència humans. La majoria dels estudis dirigits en aquesta espècie animal s'han realitzat utilitzant gossos de raça *beagle* estabulats al llarg de tota la seva vida. El treball realitzat pel nostre grup d'investigació ha demostrat com el gos ancià de propietaris particulars és un model animal adequat per a la investigació de l'envelliment i la demència en humans, una vegada analitzades les seves característiques de comportament, de neuroimatge, neuroquímiques i neuropatològiques.

Alteracions cognitives relacionades amb l'envelliment del gos

Com en els humans, la capacitat cognitiva disminueix en els gossos amb l'edat. Diferents estudis orientats a definir un límit objectiu entre animal jove i vell consideren vells els

animals de més de 8 anys d'edat basant-se en la reducció de la funció cerebrovascular o en la fallada de les defenses antioxidants. Els gossos presenten estadis demencials secundaris a trastorns, alguns reversibles, derivats de malalties metabòliques o neurològiques. Quan la disfunció cognitiva no es deu a cap d'aquestes causes, el diagnòstic clínic de pèrdua cognitiva associat a l'edat exigeix la presència d'un o més dels següents canvis de comportament: disminució de la reacció als estímuls, confusió i/o desorientació, incontinència urinària, disminució de la interacció amb els amos, augment de la irritabilitat, lentitud per obeir ordres, alteracions en el cicle son-vigília, disminució de la capacitat de resposta a la percepció sensorial i problemes amb les conductes anteriorment apreses. Tots aquests símptomes es reuneixen en una entitat patològica coneguda com Síndrome de Disfunció Cognitiva en el gos ancià (SDC), que correspon a l'ampli espectre de problemes de conducta observats en persones que presenten demència tipus Alzheimer, classificats en l'estadi 4-6 de l'escala de deteriorament global. Des del punt de vista clínic, els problemes cognitius es detecten en els gossos, mitjançant la utilització de tests cognitius basats en entrevistes amb els propietaris que permeten la classificació dels trastorns cognitius en lleus o

greus. Aspectes morfològics cerebrals del Síndrome de Disfunció Cognitiva en el gos i comparació amb la malaltia d'Alzheimer.

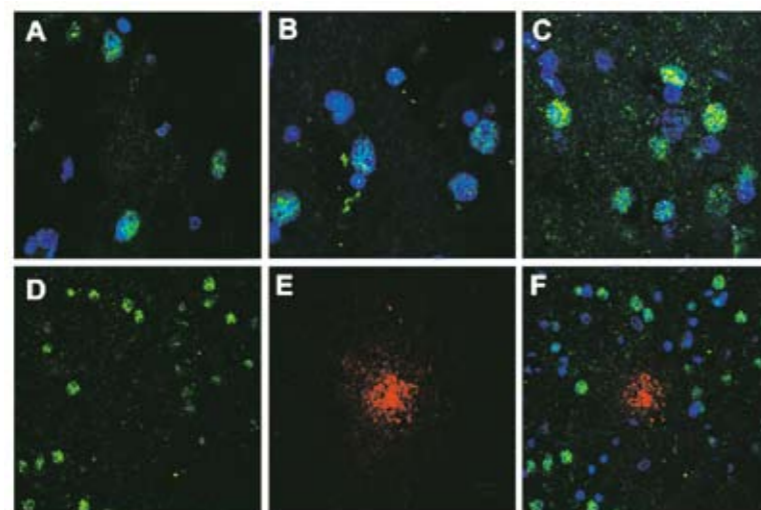
Examen macroscòpic

De forma anàloga al que s'ha observat en cervells de pacients humans d'edat avançada, els cervells dels gossos ancians mostren una sèrie de canvis neuroanatòmics relacionats amb l'envelliment cerebral. A nivell macroscòpic, canvis freqüents afecten l'escorça cerebral, les meninges, així com també els plexes coroïdals i del sistema vascular.

Examen microscòpic

En el gos, la deposició de la proteïna β -amiloide ($A\beta$) en l'escorça cerebral desenvolupa un paper central en la disfunció cognitiva relacionada amb l'edat. Les plaques amiloides en el gos es classifiquen com difoses, i estan formades per una xarxa de fibrilles de filaments d'amiloide que no posseeixen l'estructura plegada β , sense neurites degenerades ni zona central de l'amiloide condensat, d'aspecte similar a les que es troben en el cervell humà. Com en l'home, en les plaques difoses del gos, el fragment predominant del pèptid $A\beta$ que es diposita, és l' $A\beta_{1-42}$, més llarg i tòxic, mentre el fragment $A\beta_{1-40}$, més curt i soluble, ho fa essencialment en els vasos san-

Imatge de microscopi confocal del progressiu augment en l'escorça prefrontal de la fosforilació de la proteïna tau (Thr181) en gossos d'1 any (A), 8 anys (B), i (C) de 20 anys d'edat (en verd).

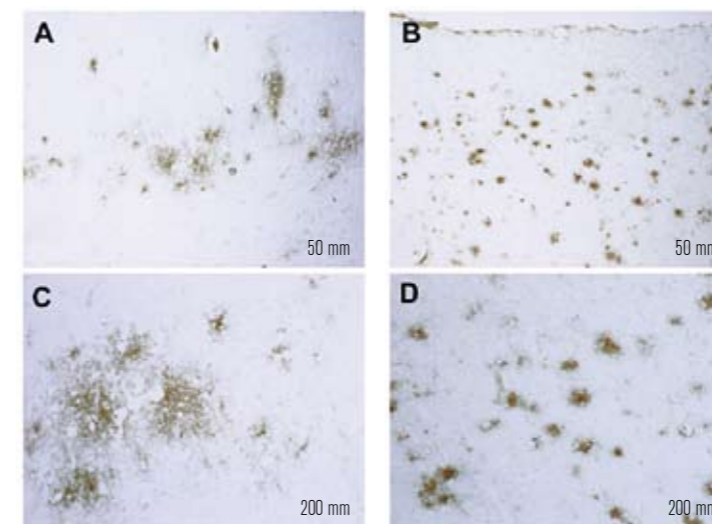


Escales: A - 20 mm | B, C, D, E, F - 16 mm

D-F) En els gossos ancians, la fosforilació de la proteïna tau (en verd), i la deposició de la proteïna $A\beta$ (en vermell), no mostren una relació específica (barreja). Les seccions s'han tenyit en blau amb un marcador nuclear (TO-PRO-3).

ESTADI II

ESTADI IV



Imatge representativa de la immunoreactivitat de la proteïna $A\beta$ en l'escorça prefrontal del gos.

A,C) En l'estadi II de deposició amiloide, la precipitació es localitza en les capes més profundes de l'escorça (V-VI) amb un aspecte difós.

B,D) En l'estadi IV, els dipòsits són més compactes i s'estenen en totes les capes corticals.

guinis, només o conjuntament amb l'A β 1-42. En els gossos es pot individualitzar zones cerebrals que acumulen més precoçment amiloide que altres. Així, l'A β apareix primer i de forma més coherent en l'escorça prefrontal a l'edat de 8-9 anys, després en l'escorça parietal als 11 anys, seguida per l'escorça entorínica a l'edat de 12-13 anys, i finalment apareix a l'escorça occipital als 14 anys d'edat, just quan la precipitació amiloide és màxima en totes les zones examinades.

Per altra banda, humans i canins difereixen en el desenvolupament de xarxes neurofibril·lars. Els feixos neurofibril·lars (ON_s), típics de l'EA, formats per un cúmul de fibril·les en el citoplasma de les neurones i deguts en major part a la hiperfosforilació de la proteïna *tau*, no es detecten en el cervell caní. En el cas dels gossos, s'ha demostrat la fosforilació de la proteïna *tau* en neurones de l'escorça prefrontal; aquest procés s'ha relacionat amb l'edat i a més també pot tenir implicacions en el dèficit cognitiu d'aquests animals. Com s'ha descrit àmpliament en l'home, les lesions oxidatives en proteïnes, lípids i àcids nucleics poden jugar un paper important en l'envelliment cerebral normal, així com en el desenvolupament de diferents malalties neurode-

generatives. Diversos estudis han demostrat que el cervell dels gossos ancians exhibeix alts nivells d'estrès oxidatiu i que les lesions oxidatives presents són similars a les observades en el cervell humà. Finalment, diferents graus de pèrdua neuronal s'associen en el gos amb l'edat. Les pèrdues de poblacions específiques com les neurones que expressen determinades proteïnes fixadores de calci s'han observat en les capes superficials i profundes de l'escorça frontal i s'han relacionat també amb la deposició amiloide.

Biomarcadors de l'envelliment normal i patològic en gossos

Líquid cefaloraquídi

En el moment actual la informació disponible sobre la detecció de la proteïna A β i la proteïna *tau* en el líquid cefaloraquídi (LCR), permet que aquests marcadors siguin d'ajuda diagnòstica en el cas de l'EA. La majoria dels estudis mostren un augment significatiu de la proteïna *tau* en el LCR de malalts d'Alzheimer, amb valors de sensibilitat i d'especificitat elevats.

En els gossos, la detecció de paràmetres energètics en el LCR representa un estudi innovador. Un augment de l'activitat energètica

nerviosa es tradueix en un augment de les necessitats metabòliques neuronals mitjançant l'oxidació de la glucosa i del lactat de forma selectiva en el cervell. Com s'ha pogut observar en malalts d'Alzheimer, on la presència d'alteracions funcionals pot promoure alteracions cognitives, també en gossos ancians amb alteracions cognitives greus, una augmentada variabilitat de la glucosa, juntament amb la presència d'elevades concentracions de potassi, de piruvat i de lactat en el LCR, reflecteix la presència d'un alterat metabolisme oxidatiu de la glucosa cerebral.

Ressonància Magnètica Nuclear (RMN)

La RMN permet posar de manifest les diferents alteracions presents en l'EA, com la dilatació de les astes temporals, de la cissura perhipocàmpica, l'augment volumètric dels ventricles i de les fissures corticals. L'estudi volumètric de l'hipocamp és un mètode útil per detectar l'EA en fase inicial, però té una sensibilitat escassa, ja que el mateix grau de reducció hipocàmpal es troba també en altres malalties degeneratives. La sostracció automàtica d'imatges de ressonància és una bona alternativa, i permet l'examen simultani de totes les àrees cerebrals. A nivell clínic, la utilització d'escala visual d'avaluació representen

un mètode ràpid i eficaç per valorar els canvis morfològics cerebrals durant l'envelliment i diferenciar-los dels patològics. Aquest mètode permet un notable estalvi de temps, respecte a mètodes volumètrics, i demostra una notable fiabilitat a nivell diagnòstic.

En aquest sentit, la utilització d'una escala d'avaluació visual ha permès establir que l'atròfia cerebral en els gossos de diverses races, incloent dilatació ventricular, profunditat de les fissures i l'atròfia hipocàmpal, és un procés lineal que comença al voltant dels 8 anys d'edat, un procés similar al que passa durant l'envelliment humà.

Conclusió

El gos no establert, tot i la seva heterogeneïtat quant a la raça, sexe i condicions de vida, és un model vàlid per investigar l'envelliment i la demència humans. Aquest model permet evitar també l'establiment durant anys de gossos i el seu sacrifici programat. La correlació establerta entre els marcadors anatomopatològics, energètics i d'imatge cerebral amb l'estadi cognitiu dels gossos permet un seguiment adequat de l'evolució clínica i la possibilitat d'estudiar la resposta terapèutica d'aquests animals a tractaments específics.

Referències

- Cummings B.J., *et al.* (1996) Beta-amyloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 66(1):11-23.
- Cummings B.J., *et al.* (1996) The canine as an animal model of human aging and dementia. *Neurobiol. Aging*, 17(2):259-68.
- Head E., *et al.* (2002) Oxidative damage increases with age in a canine model of human brain aging. *J. Neurochem.*, 82(2):375-81.
- Head E., Torp R. (2002) Insights into Abeta and presenilin from a canine model of human brain aging. *Neurobiol. Dis.*, 9(1):1-10.
- Pugliese M., *et al.* (2007) Canine cognitive dysfunction and the cerebellum: acetylcholinesterase reduction, neuronal and glial changes. *Brain Res.*
- Pugliese M., *et al.* (2006) Diffuse beta-amyloid plaques and hyperphosphorylated tau are unrelated processes in aged dogs with behavioral deficits. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 112(2):175-83.

Pugliese M., *et al.* (2006) Canine cognitive deficit correlates with diffuse plaque maturation and S100beta (-) astrocytosis but not with insulin cerebrospinal fluid level. *Acta Neuropathol. (Berl)*, 111(6):519-528.

Pugliese M., *et al.* (2005) Severe cognitive impairment correlates with higher cerebrospinal fluid levels of lactate and pyruvate in a canine model of senile dementia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 29(4):603-10.

Pugliese M., *et al.* (2004) Gamma-aminobutyric acidergic interneuron vulnerability to aging in canine prefrontal cortex. *J. Neurosci. Res.*, 15;77(6):913-20.

Satou T., *et al.* (1997) The progression of beta-amyloid deposition in the frontal cortex of the aged canine. *Brain Res.*, 7;774(1-2):35-43.

Siwak-Tapp C.T., *et al.* (2006) Region specific neuron loss in the aged canine hippocampus is reduced by enrichment. *Neurobiol. Aging*.

Marco Pugliese

És llicenciat en veterinària per la Universitat de Perugia (Itàlia) l'any 1994. El 1996 obté una beca europea Leonardo i realitza una residència en neurologia a l'hospital Ars Veterinària de Barcelona. En el 2000 obté una beca d'Investigació i Docència a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona i s'incorpora al grup de Neuroquímica dirigit per la Dra. Nicole Mahy. Doctor per la Universitat de Barcelona l'any 2005. Ha presentat ponències sobre els processos d'envelliment cerebral en el gos i la seva correlació amb la neurodegeneració humana. És autor de diverses publicacions científiques en revistes internacionals de neurociències.