

Control de la inflamació al cervell neonatal i receptors immunomoduladors

El sistema nerviós central s'ha considerat durant moltes dècades immunològicament privilegiat, «aïllat» dels processos inflamatoris que tenen lloc a la perifèria de l'organisme. Durant els últims anys, l'evidència experimental ha demostrat que hi ha una comunicació entre el cervell i la perifèria, tant en condicions fisiològiques com patològiques. A la vegada, diversos mecanismes, tant proinflamatoris com antiinflamatoris, són regulats activament per controlar les respostes del cervell davant un canvi en la seva homeòstasi. Aquests mecanismes es regulen de manera diferent en les diferents etapes de la vida, des del desenvolupament fins a la vellesa

Escrit per

Mariela Chertoff, Kalpana Shrivastava

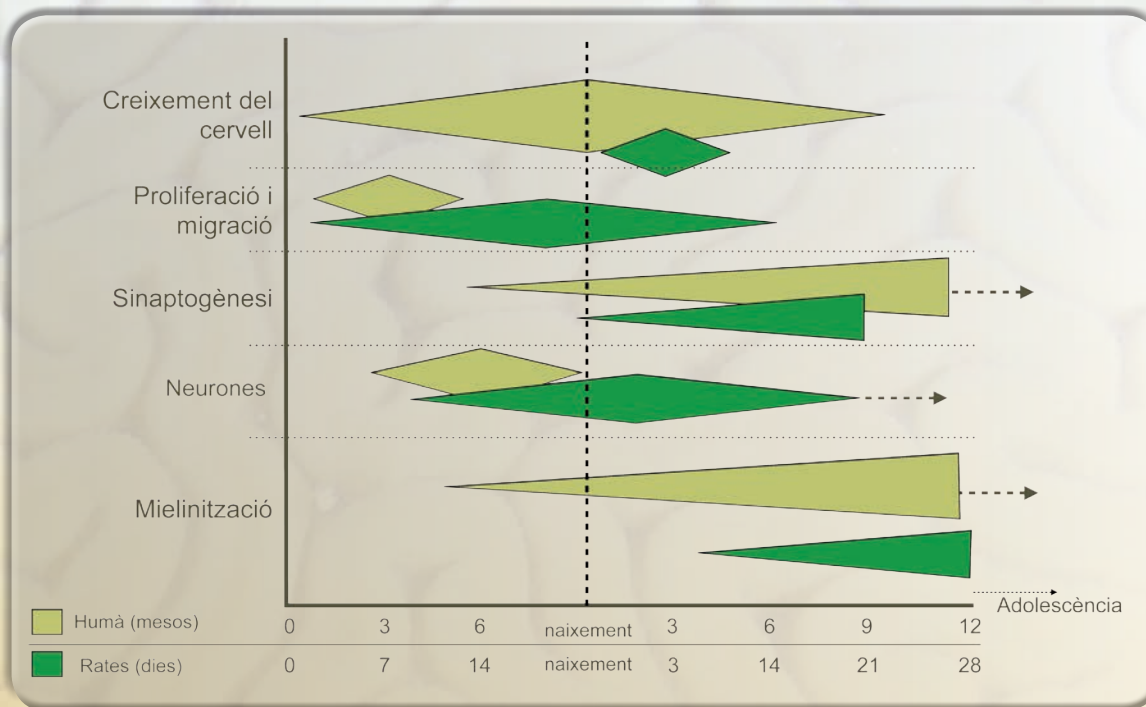
Histologia mèdica, Facultat de Medicina Institut de Neurociències

Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona

La inflamació és un conjunt d'interaccions complexes entre factors solubles, matriu extracel·lular i cèl·lules, la qual és induïda en qualsevol teixit com a resposta a un dany o una infecció. La inflamació en òrgans perifèrics, en general, porta a la reparació del teixit i a la formació d'una cicatriu mitjançant la regulació de la resposta dels diferents tipus cel·lulars involucrats i la modulació de l'expressió dels factors solubles. En el sistema nerviós central, les lesions agudes indueixen neurodegeneració i dany tissular, el

qual, al mateix temps, desperta una resposta inflamatòria caracteritzada per la participació de diversos tipus cel·lulars: les cèl·lules endotelials, els oligodendròcits, els astròcits, la microglia, les cèl·lules sanguínies (a causa del dany vascular), i també neurones. La complexitat i la resolució d'aquest procés és altament dependent del tipus de cèl·lula danyada i de la gravetat del dany produït.

Les cèl·lules de la *microglia* deriven de la medul·la òssia que actua com els macròfags del



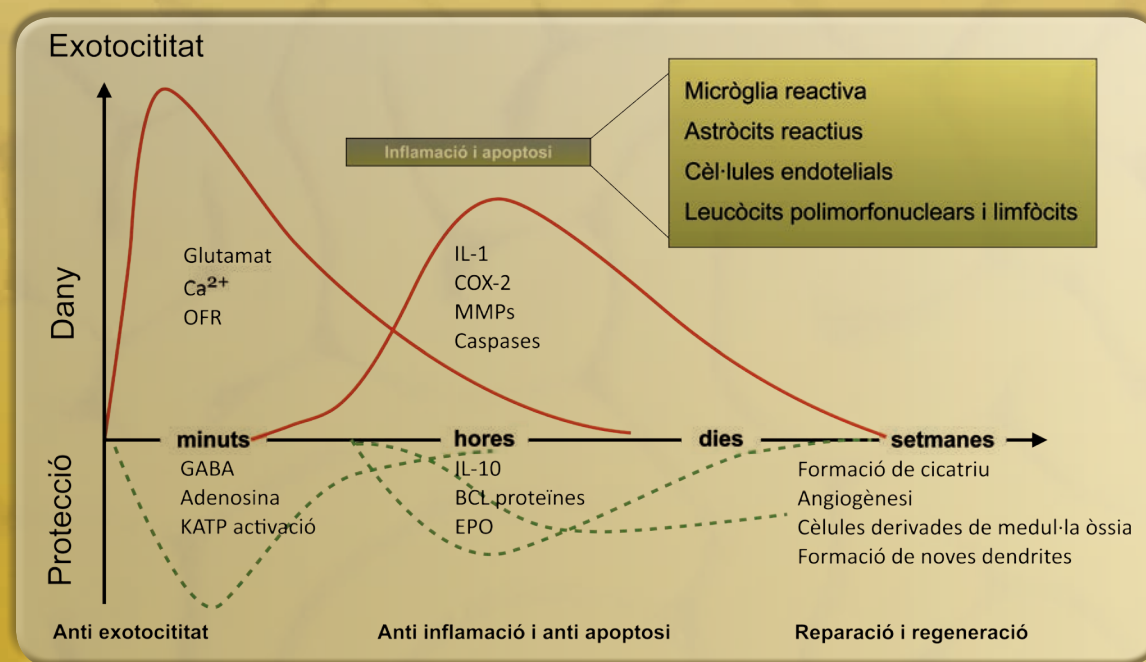
▲ **Figura 1.** Paràmetres del desenvolupament cerebral com solcs en rates i humans. Adaptat de Yager *et al.* (2009).

sistema nerviós, que entren al sistema nerviós central durant el desenvolupament embrionari i actuen com a primera línia de defensa, reconeixent patògens, segrestant, processant i presentant antígens, i activant i produint substàncies proinflamàtores i antiinflamàtores com a resposta a estímuls. Aquestes cèl·lules també participen en la comunicació neuronal, el manteniment de l'homeòstasi i la fagocitosi de detrits cel·lulars derivats de cèl·lules mortes en el cervell sa. Els astròcits són els components principals en la formació de la barrera hematoencefàlica; porten nutrients a les neurones i capten els neurotransmissors alliberats en les sinapsis. A més, s'activen ràpidament com a resposta a

canvis en l'entorn cel·lular, i produeixen l'alliberament de factors de creixement i molècules protectores, com també poden activar vies de senyalització proinflamàtores i provocar dany tissular.

En els últims anys s'ha fet palès que els astròcits i la micròglia no són només espectadors del funcionament neuronal, sinó que són components importants per mantenir l'homeòstasi cerebral i per regular els processos bàsics en la funció neuronal i l'activitat sinàptica. Així mateix, participen en el control dels processos inflamatoris, no solament mitjançant la regulació de l'expressió de molècules proinfla-

▼ **Figura 2.** Evolució de la lesió hipòxica isquèmica. Adaptat de Ferriero *et al.* (2004).



GUIA	RESPOSTA ESPECÍFICA
Seguir el programa de ressuscitació neonatal	Establir ventilació, oxigenació i circulació adequades
Oxigen	En nounats nascuts a terme, és millor començar la ressuscitació amb aire en comptes d'oxigen pur Si no s'obté una correcta taxa cardíaca o l'oxigenació no és acceptable, es considera augmentar el percentatge d'oxigen
Ventilació	Evitar la hipocàpnia Corregir l'hipoglucèmia
Glucosa	Corregir la hipoglucèmia
Acidosi metabòlica	Corregir l'acidosi metabòlica
Temperatura	Evitar la hipertèrmia
Iniciar procediment d'hipotèrmia	En cas de presència d'algun d'aquests paràmetres: <ul style="list-style-type: none"> • Acidèmia greu: pH menor que 7 i/o dèficit bàsic superior a 16 (en sang) • Test d'Apgar menor a 5 en deu minuts • Necessitat de ressuscitació i/o suport respiratori després dels deu minuts de vida

▲ **Figura 3.** Paràmetres a controlar a la unitat de cures intensives en nounats amb DHI. Adaptat de Wachtel *et al.* (2011).

matòries, sinó també activant mecanismes antiinflamatoris. És important destacar que, tant la micròglia com els astròcits, poden ser beneficiosos o perjudicials per a la progressió d'un procés patològic; el resultat serà determinat per l'equilibri en la balança de tots els senyals neurodegeneratius i neuroprotectors.

El cervell immadur té característiques fisiològiques i morfològiques diferents de les de l'adult, pel fet que encara es troba en desenvolupament després del naixement. Durant els primers dies de vida encara no s'ha completat la diferenciació glial i neuronal, l'arborització dendrítica és pobra, el creixement axonal i la mielinització encara s'estan produint, com també s'estan establint contactes sinàptics. Aquests esdeveniments són acompanyats per la formació de la barrera hematoencefàlica, la producció de factors de creixement, de molècules d'adhesió i d'inhibidors de creixement axonal, específics d'aquesta etapa de desenvolupament.

Hi ha evidències experimentals que mostren una més gran i més ràpida reactivitat microglial i una infiltració de leucòcits en cervells immadurs, després d'un estímul inflamatori sistèmic, en comparació al cervell adult. La micròglia immadura no solament és més sensible a la privació d'oxigen i glucosa, sinó que a més produeix nivells més alts de citocines proinflamatòries en comparació amb les micròglies d'adults. En concordança amb aquesta observació, els monòcits circulants mostren una capacitat més elevada de produir citocines proinflamatòries quan s'aïllen en nadons res-

pecte a les que s'aïllen en adults, probablement com a resultat de la disminució de l'habilitat de respondre a molècules antiinflamatòries. Com a resultat, les cèl·lules sanguínies neonatals activades mostren una inhabilitat evident d'augmentar l'expressió i respondre a molècules antiinflamatòries per controlar i acabar la inflamació. Aquestes característiques especials del cervell perinatal poden explicar, almenys en part, la manera particular de resposta davant de processos patològics, i fan que augmentin la sensibilitat del cervell davant el dany excitotòxic i la inflamació.

Per evitar que es produeixi un procés inflamatori d'una manera desequilibrada al sistema nerviós central, el cervell posa en marxa estrictes mecanismes de control de la resposta inflamatòria. No obstant això, l'estat antiinflamatori del cervell no s'ha de considerar passiu, com a resultat de l'absència d'expressió de factors proinflamatoris, sinó un procés actiu que requereix la participació de diverses molècules responsables de la supressió de possibles estímuls proinflamatoris.

Al laboratori que dirigia Laia Acarin, a la Unitat d'Histologia Mèdica de la Facultat de Medicina i l'Institut de Neurociències de la Universitat Autònoma de Barcelona, s'estudia la resposta glial i la modulació dels mecanismes antiinflamatoris endògens que s'estan produint després d'una lesió al sistema nerviós central. S'utilitza com a model experimental el dany hipòxic isquèmic (DHI) en ratolins de set dies d'edat.

El DHI és la causa més comuna d'encefalopaties i convulsions en nadons nascuts a terme, i afecta del 3 % al 5 % de naixements. Malgrat els grans avenços que s'han produït en el camp de la neonatologia, que ha fet disminuir enormement la taxa de mortalitat, el 25 % dels nadons que pateixen DHI tindran problemes en el desenvolupament neurològic que, segons el grau d'hipòxia que hagin patit, poden variar des de dèficits motors i limitacions cognitives a paràlisi cerebral. En els casos de dany hipòxic més greu, poden arribar a la mort.

El DHI al cervell neonatal és complex i, moltes vegades, d'etiologia desconeguda. El desenvolupament del DHI es produeix per la contribució de múltiples mecanismes, que poden provocar en dues fases principals de mort cel·lular ben definides. La primera d'aquestes fases està relacionada amb la falta d'oxigen, la consegüent fallida energètica a causa del consum de l'ATP disponible, principal combustible cel·lular. En aquesta etapa, la mort cel·lular és ràpida i descontrolada, i es produeix inflamació a causa de la destrucció de la membrana cel·lular i l'alliberament complet dels components intracel·lulars. Durant la segona fase, que es produeix després d'hores i durant els primers dies posteriors al naixement, els principals mecanismes patològics involucrats són la mort cel·lular per excitotoxicitat i apoptosi i l'activació de cascades de senyalització i de molècules proinflamatòries.

El procediment seguit en nadons nascuts a terme que han patit DHI és la ressuscitació, el suport vital i el tractament de les convulsions, i també el control dels paràmetres sanguinis,






com el pH i la glucosa, entre d'altres. Els últims anys, s'ha incorporat la hipotèrmia (refredament a 33 °C del cap o tot el cos durant un període de setanta-dues hores), que ha de ser aplicada dins de les sis hores posteriors al naixement. Els primers resultats clínics indiquen que és eficient en nadons amb lesions lleus o moderades. No obstant això, en nadons amb lesions greus, les evidències encara no són clares per afirmar-ne l'eficàcia.

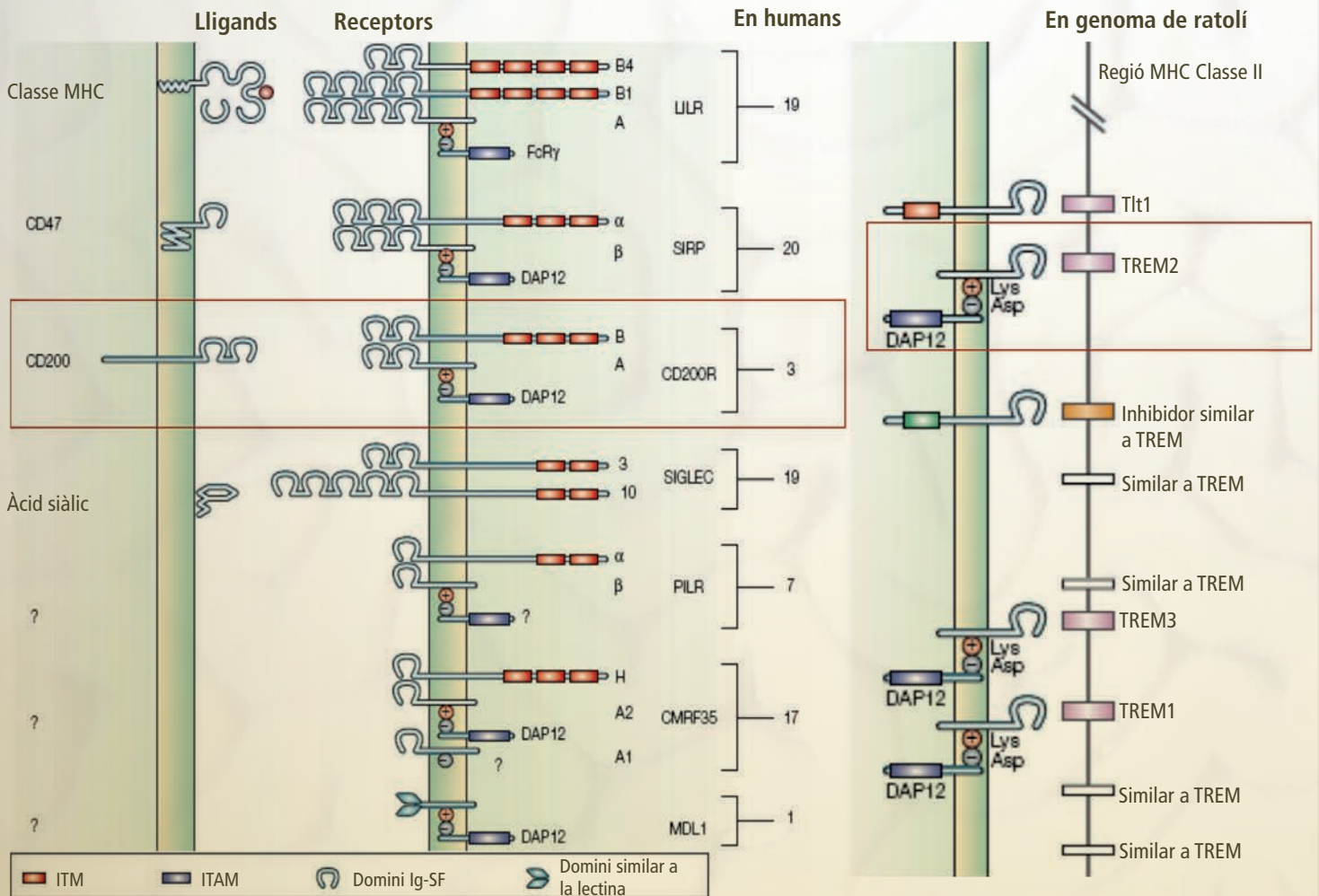
L'objectiu de les línies de recerca dutes a terme al laboratori és augmentar el coneixement dels mecanismes endògens antiinflamatoris al cervell neonatal, perquè en un futur es puguin utilitzar com a molècules diana que puguin ser emprades com a teràpia neuroprotectora i així disminuir la incidència de les discapacitats motores i cognitives que pateixen els nounats amb DHI.

La regulació de les cèl·lules amb funció immunitària mediada per receptors reguladors/moduladors ha estat estudiada principalment en el sistema immunitari. Durant els últims anys se n'ha començat a estudiar la funció en el sistema nerviós, enfocat en el patró d'expressió d'aquests receptors i l'efecte de la deleció d'aquests en la resposta al dany tant al cervell com a la medul·la espinal.

El balanç entre esdeveniments destructius i protectors de la resposta innata ha de ser finament regulat per limitar la toxicitat inicial i promoure la reparació del dany produït i tornar a condicions homeostàtiques. Durant aquests últims anys, alguns receptors del sistema immunitari han estat destacats com a possibles

.....
 ▼ **Figura 4.** Canvis morfològics en la microglia durant el desenvolupament. Adaptat de Dalmau *et al.* (1998).

TIPUS DE CÈL·LULA	FORMA	PROCESSOS	PRESENCIA	MORFOLOGIA
Micròglia ameboide tipus 2	Rodona	Cap	Dies 0 a 9 Poques al cap de 12 dies	
Micròglia ameboide tipus 3	Pleomòrfica	Filopòdic o pseudopòdic	Dies 0 a 9 Algunes al cap de 15 dies	
Micròglia ramificada	Lleument elongada	Procés desenvolupat amb engruiximent als extrems	Dies 0 a 12 Unes quantes al cap de 15 dies Rares al cap de 18 dies	
Micròglia en repòs	Lleument arrodonida	Processos completament desenvolupats	Unes quantes al cap de 12 dies Dies 15 a 18	
Micròglia de tipus reactiu	Gran i arrodonida	Processos gruixuts, retrets	Principalment, del dia 9 al 18	



▲ **Figura 5.** Receptors inhibidors de les cèl·lules mieloides. Adaptat de Colonna (2003).

molècules diana per al control de l'activació microglial, entre els quals hi ha el sistema CD200/CD200R i el receptor TREM2.

El sistema CD200/CD200R

El CD200 és una glicoproteïna de membrana que s'expressa constitutivament en diversos tipus cel·lulars, incloent-hi neurones, cèl·lules endotelials i limfoides. La interacció de CD200 amb el seu receptor (CD200R), el qual s'expressa en neutròfils, macròfags i microglia, manté l'estat de repòs de la microglia en condicions fisiològiques en induir senyals inhibitoris. En els ratolins que no expressen el CD200, s'ha observat que la microglia es troba en un estat activat, fet que suggereix que el sistema CD200/CD200R està involucrat a mantenir l'estat de repòs de la microglia. En condicions patològiques, l'absència de CD200 comporta l'exacerbació de la resposta inflamatòria i un increment en l'activació de la microglia. Per contra, l'ús d'un agonista del receptor en un model animal d'esclero-

si múltiple redueix la gravetat de la malaltia, de la desmielinització i del dany axonal.

El receptor TREM2

El receptor TREM2 s'expressa en cèl·lules dendrítiques, macròfags derivats de medul·la òssia i en macròfags activats amb un fenotip antiinflamatori. Encara que el lligand de TREM2 és encara desconegut, l'estimulació de TREM2 induïx la maduració i l'augment de molècules que són coestimuladores de la presentació antigènica en cèl·lules dendrítiques. Així mateix, la seva expressió disminueix en presència de LPS (un potent estimul proinflamatori) i és induïda per senyals antiinflamatoris. En humans, l'absència d'expressió de TREM2 produeix una malaltia autosòmica recessiva, anomenada *Nasu-Hakola*, que es caracteritza per una progressiva demència presenil i la formació de quists ossis multifocals, que porta a la mort prematura dels individus que la pateixen.

Dins del sistema nerviós central (SNC) s'expressa en subpoblacions de micròglia i en algunes neurones. Notablement, la seva expressió no és homogènia i les cèl·lules TREM2 positives i negatives estan barrejades en totes les regions analitzades. La micròglia està implicada en la migració, l'augment dels fagocitosi i la reducció de l'expressió de citocines proinflamàtòries, fet que en suggereix la funció antiinflamatòria i afavoreix l'eliminació de detritus cel·lulars en situacions patològiques, com ha estat demostrat en models d'esclerosi múltiple.

Al laboratori de Laia Acarin estudien com es modifica el patró temporal

d'expressió d'aquestes molècules durant el desenvolupament i després de la inducció del DHI. També analitzem la resposta tissular al dany, el tipus de cèl·lules que els expressen, les vies de senyalització que es modifiquen i el patró de citocines que es produeixen, tant proinflamatòries com antiinflamatòries. Pel que s'ha descrit, és molt important tenir en compte els processos que es duen a terme en el moment de la lesió i com evolucionen aquests processos amb el temps en un cervell no danyat, per entendre quines són les millors accions a prendre respecte de les hipòtesis que es plantegen com a possibles dianes terapèutiques. I

Referències bibliogràfiques

- BARCLAY, A. N. [et al.] (2002). «CD200 and membrane protein interactions in the control of myeloid cells». *Trends in Immunology*, vol. 23, p. 285-290.
- CARSON, M. J. [et al.] (2006). «CNS immune privilege: hiding in plain sight». *Immunological Reviews*, vol. 213, p. 48-65.
- COLONNA M. (2003). «TREM2 in the immune system and beyond». *Nature Reviews Immunology*, vol. 3, p. 445-453.
- DALMAU, I. [et al.] (1998). «Development of microglia in the postnatal rat hippocampus». *Hippocampus*, vol. 8, p. 458-474.
- FERRIERO D. M. (2004). «Neonatal brain injury». *New England Journal of Medicine*, vol. 351, p. 1985-1995.
- KIHALAINEN, A. [et al.] (2005). «Dap12 and Trem2, molecules involved in innate immunity and neurodegeneration, are co-expressed in the CNS». *Neurobiology of Disease*, vol. 18, p. 314-22.
- KONING, N. [et al.] (2009). «Distribution of the immune inhibitory molecules CD200 and CD200R in the normal central nervous system and multiple sclerosis lesions suggests neuron-glia and glia-glia interactions». *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, vol. 68, p. 159-167.
- MINAS, K.; LIVERSIDGE, J. (2006). «Is the CD200/CD200 receptor interaction more than just a myeloid cell inhibitory signal?». *Critical Reviews in Immunology*, vol. 26, p. 213-230.
- SHRIVASTAVA, K. [et al.] «Short and long-term analysis and comparison of neurodegeneration and inflammatory cell response in the ipsilateral and contralateral hemisphere of the neonatal mouse brain after hypoxia/ischemia». *Neurology Research International*. [En premsa]
- SHRIVASTAVA, K. [et al.] «The immune inhibitory complex CD200/CD200R is developmentally regulated in the mouse brain». *Journal of Comparative Neurology*. [En premsa]
- TAKAHASHI K. [et al.] (2005). «Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2». *Journal of Experimental Medicine*, vol. 201, p. 647-57.
- THRASH, J. C. [et al.] (2009). «Developmental regulation of TREM2 and DAP12 expression in the murine CNS: implications for Nasu-Hakola disease». *Neurochemical Research*, vol. 34, p. 38-45
- VANNUCCI, S. J.; HAGBERG H. (2004). «Hypoxia-ischemia in the immature brain». *Journal of Experimental Medicine*, vol. 207, p. 3149-3154.
- WACHTEL, E. V.; HENDRICKS-MUNOZ, K. D. (2011). «Current management of the infant who presents with neonatal encephalopathy». *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, vol. 41, p. 132-153.
- YAGER, J. Y.; ASHWAL, S. (2009). «Animal models of perinatal hypoxic-ischemic brain damage». *Pediatric Neurology*, vol. 40, p. 156-167.

Laia Acarin

(Barcelona, 1970-2011)



Va ser professora titular del Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, i investigadora de l'Institut de Neurociències de la Universitat Autònoma

de Barcelona (UAB). Va començar la seva recerca a la Unitat d'Histologia Mèdica de la Facultat de Medicina de la UAB, sota la direcció de Bernardo Castellano i Berta González, on va treballar en l'estudi de la resposta glial en un model de lesió excitotòxica en rates postnatales. Després d'una estada a Chicago, va retornar a la UAB, on l'any 2000 va obtenir el títol de doctora en biologia amb honors i va produir un gran nombre de publicacions de gran rellevància en l'estudi de la glia. Fa pocs anys havia començat el seu propi grup de recerca, centrat en l'estudi dels mecanismes endògens moduladors de la inflamació en un model de DHI en ratolins nounats. El dia 29 de desembre de 2011 va morir inesperadament a causa de la ràpida evolució d'un procés tumoral.

Mariela Chertoff

(Buenos Aires, 1976)



Licenciada en ciències biològiques per la Universitat de Buenos Aires, Argentina. Va realitzar la tesi doctoral en un model de la malaltia de Parkinson, enfocada en els

possibles processos neuroprotectors derivats de la resposta glial. Actualment és becària postdoctoral Marie Curie IIF al laboratori de Laia Acarin i hi estudia la modulació de TREM2 durant el desenvolupament i després del DHI.

Kalpna Shrivastava

(Korba, Chhattisgarh, 1979)



Va realitzar el Màster en biotecnologia a la Universitat Pt.RSS, Raipur, i després el doctorat en microbiologia a DIPAS, DRDO, Nova Delhi. És becària postdoctoral al

laboratori de Laia Acarin a l'Institut de Neurociències de la UAB. El seu projecte de recerca està orientat a l'estudi del rol del receptor immune inhibitori CD200 i el seu receptor (CD200R) durant el desenvolupament i després del DHI al cervell neonatal.