

Treball Final de Grau

*ESTUDI DEL PROCÉS DE
NEURODEGENERACIÓ*

Albert Caballeria i Casals

Grau en Biotecnologia

Tutor/a: Jordi Planas i Cuchi

Vic, Juny de 2013

ÍNDEX

<i>Abreviatures:</i>	3
<i>Resum:</i>	4
<i>Summary:</i>	5
<i>1. Introducció:</i>	7
<i>2. Malalties i causes representatives de la neurodegeneració:</i>	7
<i>3. L'inici del procés de neurodegeneració:</i>	15
<i>4. L'exposició als metalls:</i>	16
<i>5. El procés de neurodegeneració:</i>	18
<i>6. Disfunció mitocondrial:</i>	20
<i>7. Desregulació de la concentració de calci intracel·lular:</i>	24
<i>8. Caiguda de la barrera hematoencefàlica:</i>	26
<i>9. Resposta de les proteïnes de xoc tèrmic:</i>	27
<i>10. El paper de la micròglia:</i>	29
<i>11. Neuroinflamació crònica:</i>	31
<i>12. Característiques específiques de cada malaltia:</i>	32
<i>13. Conclusions:</i>	35
<i>Referències i bibliografia:</i>	37

ABREVIATURES

AD	<i>Alzheimer Disease</i> (Malaltia d'Alzheimer)
ALX	<i>Malaltia d'Alexander</i>
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i> (Proteïna Precursora Amiloide)
CJ	<i>Creutzfeld Jakob</i>
CNS	<i>Central Nervous System</i> (Sistema Nerviós Central)
DAMP	<i>Damage-associated molecular pattern molecules</i> (Molècules de patró molecular associat a danys)
DB	<i>Diabetis</i>
ELA	<i>Esclerosis Lateral Amiotròfica</i>
EM	<i>Esclerosis Múltiple</i>
GO	<i>Gene Ontology</i>
HD	<i>Huntington Disease</i> (Malaltia de Huntington)
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> (Complex Principal d'Histocompatibilitat)
PD	<i>Parkinson Disease</i> (Malaltia de Parkinson)
PNS	<i>Peripheral Nervous System</i> (Sistema Nerviós Perifèric)
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i> (Espècies Reactives del Nitrògen)
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Espècies Reactives de l'Oxigen)
TAP	<i>Transporter Associated with antigen processing</i> (Transportador Associat amb el Processament d'Antígens)

RESUM

Les anomenades malalties neurodegeneratives tenen una simptomatologia i unes manifestacions clíniques molt diferents entre elles. No obstant, totes elles convergeixen en el mateix procés final, la neurodegeneració, que es manifestarà en diferents localitzacions o tipus cel·lulars del sistema nerviós. Nosaltres, plantejem la hipòtesi de que els processos moleculars i cel·lulars subjacents a la neurodegeneració són comuns per totes elles.

Després de dur a terme un procés de selecció, es decideix treballar amb la malaltia de Parkinson, la d'Alzheimer, l'Esclerosi lateral amiotròfica i l'esclerosi múltiple. Hem pogut determinar que hi ha set processos moleculars o cel·lulars que estan associats al procés de neurodegeneració i que són comuns a totes elles.

Havent-les estudiat per separat s'observa que el procés de neurodegeneració consisteix en una fallada en cadena de diferents sistemes moleculars i cel·lulars que tenen com a punt d'origen l'estrès oxidatiu. A aquest estrès s'hi pot arribar de diferents maneres. Una d'elles és l'exposició excessiva a certs metalls, que provoca la pèrdua dels sistemes antioxidants cel·lulars. Degut a això, els mitocondris reben un impacte oxidatiu massa gran i comencen a fallar. El fet que aquest orgànul actuï com a tampó del calci intracel·lular en provoca la seva desregulació, alterant d'aquesta manera el senyal nerviós. En resposta a l'estrès oxidatiu i tèrmic que genera la disfunció mitocondrial, s'activen les Proteïnes de Xoc Tèrmic (HSP) que actuant de citocines i presentadores d'antígens, inicien la resposta immunològica contra les cèl·lules danyades.

Paral·lelament, s'observa un increment de la permeabilitat de la barrera hematoencefàlica degut a la pèrdua de les adhesions cel·lulars estretes per l'alta presència d'espècies reactives. Com a conseqüència de l'afebliment o el trencament de la barrera hematoencefàlica, es pot produir una entrada al SNC de diferents substàncies neurotòxiques i de cèl·lules del sistema immunitari que, en condicions normals tenen l'accés restringit. Juntament amb aquestes cèl·lules immunològiques, també s'activen les cèl·lules del sistema immunitari innat residents al cervell, la micròglia, i totes elles secreten citocines proinflamatòries que contribueixen al procés de neurodegeneració. Nosaltres presentem els mecanismes pels quals aquesta inflamació, lluny d'atenuar-se, es cronifica per l'acció de certs bucles de retroalimentació positiva.

Les diferents peculiaritats de cada malaltia contribueixen en aquest procés de diferents maneres, com és el cas dels pèptids β -amiloides en la malaltia d'Alzheimer, l' α -sinucleïna en el Parkinson, la superòxid dismutasa (SOD) en l'esclerosi lateral amiotròfica, o l'infiltració de leucòcits al cervell degut a la resposta autoimmunitària de l'esclerosi múltiple.

Deixant de banda aquestes diferències, si el procés és comú entre totes elles, l'estudi a fons d'aquest procés hauria de poder permetre identificar dianes terapèutiques que siguin comunes per les quatre malalties.

SUMMARY

Neurodegenerative diseases have different clinical manifestations. However, all of them converge to neurodegeneration, which manifests itself in different locations or cell types of the CNS. We hypothesize that there must be a series of common molecular or cellular processes underlying neurodegeneration.

We first undertook a selection process, to decide to work with Parkinson's disease, Alzheimer's disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis and Multiple Sclerosis.

After a careful analysis of the seven pathomolecular processes we reached the conclusion that the neurodegenerative process consists in a chain failure of different molecular and cellular systems that have at the origin oxidative stress. The ways leading to oxidative stress are diverse; one of them is exposure to some metals. This results in the loss of the cellular antioxidant systems. Because of this, the mitochondrion receives a too big oxidant impact and starts to fail. The fact that this organelle acts as an intracellular calcium buffer causes its deregulation, altering the nervous signal. In reply to oxidative and thermal stress generated by the mitochondrial dysfunction, Heat Shock Proteins (HSP) are activated, they act like cytokines and antigen presenter and initiate the immunological response to damaged cells.

In parallel, a permeability increase of the blood-brain barrier is observed, caused by the loss of the tight cellular adhesions by the high presence of reactive species. The decay of the blood-brain barrier allows the passage of different neurotoxic substances and leucocytes that, in normal circumstances have a restricted access to the CNS. Together with these immunological cells, the brain resident innate immunity system cells, known as microglia, are also activated. All of them release proinflammatory cytokines that will contribute to the neurodegenerative process. Here, we present the mechanisms by which inflammation, far from being attenuated, gets cronified by the effect of several positive feedback loops.

The different peculiarities of each disease contribute to this process in different ways, as it is the case with β -amyloid peptides in Alzheimer's disease, α -synuclein in the Parkinson's disease, superoxide dismutase (SOD) in Amyotrophic Lateral Sclerosis, or leukocyte infiltration in the brain in the autoimmune response in the Multiple Sclerosis.

Leaving aside these differences, if the process is common with all them, the in-depth study of this process should allow identifying some therapeutically targets commons for all four diseases.

1. INTRODUCCIÓ

Es coneix com a neurodegeneració la pèrdua progressiva de l'estructura i funció de les neurones, incloent-hi la seva mort. Moltes malalties neuronals, com la malaltia de Parkinson, la malaltia d'Alzheimer, l'Esclerosi lateral amiotròfica i l'esclerosi múltiple són el resultat de processos neurodegeneratius. La neurodegeneració es pot detectar tant a nivell molecular com a nivell sistèmic dins del circuit neuronal i el factor de risc més important n'és l'edat. Tot i que en la majoria de malalties neurodegeneratives es coneix més o menys com es desenvolupa aquest procés, les causes que hi porten i com interactuen segueix essent poc clar.

Cal tenir en compte que la majoria de malalties que s'inclouen en la categoria de *malaltia neurodegenerativa* tenen una simptomatologia, una localització dins del Sistema Nerviós i uns processos patològics molt diferents entre elles. No obstant, és cert que en tots els casos, d'una manera o altra, acaben derivant cap al procés de neurodegeneració. Tenint en compte això i deixant de banda les característiques pròpies de cadascuna, si en totes aquestes malalties s'arriba a un mateix procés és raonable pensar que els processos neurodegeneratius de les diferents malalties tinguin algun nexa comú.

En aquest estudi, revisem la informació disponible sobre els processos moleculars i cel·lulars associats a diferents malalties neurodegeneratives amb l'objectiu de descobrir si aquests processos moleculars i cel·lulars associats a la patologia són comuns i si ho són, fins a quin punt. Per fer-ho, hem elaborat una llista de processos associats a cadascuna de les malalties, després hem aplicat un mètode per a determinar quins d'aquests processos són comuns i representatius del procés de neurodegeneració. A partir d'aquí, i com a nucli central del treball hem generat una visió integrada on aquests processos s'interaccionen entre elles des dels estadis més inicials fins als més avançats, en una seqüència d'esdeveniments comuna. Finalment s'explica com les característiques diferencials de cada malaltia estudiada interactuarien amb aquest procés per tal de donar lloc a un tipus de simptomatologia i no un altra.

2. MALALTIES I CAUSES REPRESENTATIVES DE LA NEURODEGENERACIÓ

Com ja s'ha dit, l'objectiu principal d'aquest treball és aconseguir trobar un nexa causal comú entre diverses malalties neurodegeneratives que permeti explicar com funciona el procés de neurodegeneració a nivell cel·lular i molecular. De les malalties que afecten el funcionament del sistema nerviós central n'hi ha que es caracteritzen per una degeneració progressiva de determinats tipus cel·lulars que es pot manifestar de forma sistèmica o de forma localitzada. L'objectiu d'aquest treball és investigar la possibilitat que hi hagi un nexa comú entre els diferents processos de degeneració cel·lular que afecten el sistema nerviós. Per fer-ho s'ha

seleccionat una col·lecció de malalties que es manifesten produint degeneració cel·lular. Es tracta d'un grup heterogeni de malalties cadascuna de les quals representa una etiologia clínica característica (Taula 2.1).

Malaltia	Etiologia
Alzheimer	Malaltia del CNS que provoca trastorns mentals, apareix a la tercera edat.
Parkinson	Malaltia del CNS que afecta al moviment, apareix a la tercera edat.
Huntington	Malaltia genètica amb mutació al gen HTT, apareix a l'edat adulta.
ELA	Malaltia que afecta a les neurones motores, apareix a l'edat adulta.
Alexander	Malaltia genètica rara, apareix a l'edat infantil i juvenil.

Taula 2.1. Etiologia bàsica de les malalties seleccionades.

En una primera fase es van analitzar quines eren les disfuncions a nivell molecular que caracteritzen cadascuna de les malalties (Taula 2.2). La llista d'afectacions moleculars que apareix en aquesta taula s'ha obtingut fent un buidat de la literatura per la qual cosa les descripcions es fan amb un llenguatge no estandarditzat. Com que és difícil fer un tractament manual de totes aquestes dades per establir les semblances i diferències entre malalties en relació a les afectacions a nivell molecular i cel·lular vam fer servir un procediment automatitzat amb algorismes. No obstant, el primer pas per a fer un tractament automatitzat és utilitzar un llenguatge estandarditzat que permeti establir les associacions sense ambigüitat. És per això que es va fer una associació entre els descriptors que s'havien obtingut de la literatura científica i els termes més afins de la Gene Ontology (Annex 1).

	AD	PD	HD	ELA	ALX	EM	CJ	DB
Baixa concentració de Vitamina D	+	-	-	-	-	-	-	-
Alta acumulació de Ferro	+	-	-	-	-	-	-	-
Epigenètica i rutes epigenètiques	+	-	-	-	-	-	-	-
Proteïnes i plaques β -amiloides	+	-	-	-	-	-	-	-
Fallades en la reentrada al cicle cel·lular	+	-	-	-	-	-	-	-
Disfunció de la ferritina	+	-	-	-	-	-	-	-
Oxidació proteica	-	-	+	-	-	-	-	-
Mort cel·lular	+	+	-	-	-	-	-	-
Mal plegament de proteïnes	+	+	-	-	-	-	-	-
microRNA en el desenvolupament del CNS	+	+	-	-	-	-	-	-
Oxidació del RNA	+	+	-	+	-	-	-	+
Fallada de protecció contra estrès oxidatiu	+	+	+	-	-	-	-	-
Problemes amb la p53 i altres punts de control	+	-	-	-	-	-	-	-

Caspases	+	-	+	-	-	-	-	-
Proteïna APOE	+	-	-	-	-	-	-	-
Proteïnes priòniques	+	-	-	-	-	-	-	-
Proteïna Huntingtina	-	-	+	-	-	-	-	-
Alteracions en el metabolisme del colesterol	+	-	+	-	-	-	-	-
Proteïnes ADF i Cofilin	+	-	+	-	-	-	-	-
Activació exagerada del sistema immune	+	+	-	-	-	-	-	-
Ubiquitinització i proteasoma	+	+	+	+	-	-	-	-
Astròcits	+	-	-	-	+	-	-	-
Disfunció mitocondrial	+	+	+	+	-	+	-	-
Autofàgia	+	+	+	+	+	-	-	-
Problemes als canals de calci del RE	-	-	-	+	-	-	-	-
Gens APP, PSEN1 i PSEN2	+	-	-	-	-	-	-	-
Proteïna TAU	+	-	-	-	-	-	-	-
Mielina	-	-	-	-	+	-	-	-
Deficiència de dopamina	-	+	-	-	-	-	-	-
Gens SOD1, TRDBP, FUS i TDP-43	-	-	-	+	-	-	-	-
Lesions en les barreres del CNS	-	-	-	+	-	-	-	-
Receptors de canabinoides	+	+	-	+	-	-	-	-
Manganès	+	+	+	+	-	-	-	-
Alteració de senyalització de la insulina al CNS	+	-	-	-	-	-	-	+
Alteració cerebrovascular	+	-	-	-	-	-	-	-
Micròglia	+	+	-	+	-	+	+	-
Alteració de la fosforilació oxidativa mitocondrial	+	+	+	-	-	-	-	-
Alteració del sistema del proteasoma	+	+	+	-	-	-	-	-
Sistema immunològic	-	-	-	+	-	-	-	-
Endoteli microvascular cerebral	+	+	-	+	-	+	-	-
Proteïnes de xoc tèrmic	+	+	-	+	+	+	-	-
Inflamació	+	+	-	+	-	+	-	-
Senyalització molecular	+	-	-	+	-	+	-	-
Deficiències en la reparació del DNA	+	+	+	+	-	-	-	-
Acumulació progressiva de proteïnes mal plegades	+	+	+	+	-	-	-	-
Relació APOE – Citocines	+	+	-	-	-	+	-	-

Estructura β -amiloide	-	-	-	-	-	-	+	+
Oxisterols actuant com a biomarcadors	+	-	+	-	-	+	-	-
Desregulació de la concentració de calci	+	+	+	+	-	+	-	-
Canals iònics de la micròglia	+	+	-	+	-	+	-	-
Receptors del glutamat	-	+	-	+	-	+	-	-
Inestabilitat de l'estructura proteica	+	+	-	-	-	-	+	+

Taula 2.2. Relacions entre causes i malalties identificades^[1-185] (RE = Reticle Endoplasmàtic).

Un cop transcrits les descripcions dels processos moleculars i cel·lulars implicats es va fer servir el paquet *Igraph*^[2] per construir un mapa d'interaccions. En aquest mapa, cada malaltia s'associa a un o més processos moleculars que poden ser compartits entre diferents malalties que es relacionin a través de les causes que tenen en comú.

De totes les malalties estudiades, l'Alzheimer és la que està relacionada amb un nombre més gran de processos moleculars o cel·lulars. És probable que això sigui degut al fet que és una de les que ha estat més investigada, en aquests moments és difícil corregir aquest tipus de biaix i per tant cal tenir-ho en compte al llarg de l'estudi. Dels 48 processos relacionats amb l'Alzheimer identificats en el nostre estudi, 37 són comunes amb, com a mínim, una altra malaltia neurodegenerativa, cosa que podria indicar que, a nivell causal, l'Alzheimer té una similitud important amb les altres malalties neurodegeneratives. Per darrere de l'Alzheimer, les malalties que tenen més causes en comú amb altres malalties són el Parkinson, el Huntington, l'esclerosi lateral amiotròfica i l'esclerosi múltiple.

En el mapa de relacions es pot observar que hi ha tres grups de processos moleculars o cel·lulars. Un grup gran de processos que l'Alzheimer comparteix amb altres patologies, i un altre grup, reduït, de processos que són compartits per més de una malaltia però no amb l'Alzheimer i un altre grup reduït de processos relacionats amb una sola malaltia. En aquest tercer grup és probable que hi hagi els processos que caracteritzen cadascuna de les patologies i les fan diferents de les altres. Per l'objectiu d'aquest treball, el grup més important és el dels processos que són compartits per diverses malalties incloent-hi l'Alzheimer. Dins d'aquest grup s'observen tres zones de confluència d'interaccions entre malalties. La zona més important és la del centre esquerra de l'arbre on hi ha els processos que estan relacionats amb un nombre més gran de malalties. Els altres dos nuclis es troben a la dreta de l'arbre, però aquests, en comparació, tenen un nombre més baix de relacions. És possible, doncs, que els processos moleculars i cel·lulars que estan implicats en els processos de neurodegeneració siguin els que són compartits entre diferents malalties és a dir, els que es situen a la banda esquerra del diagrama de la figura 2.1.

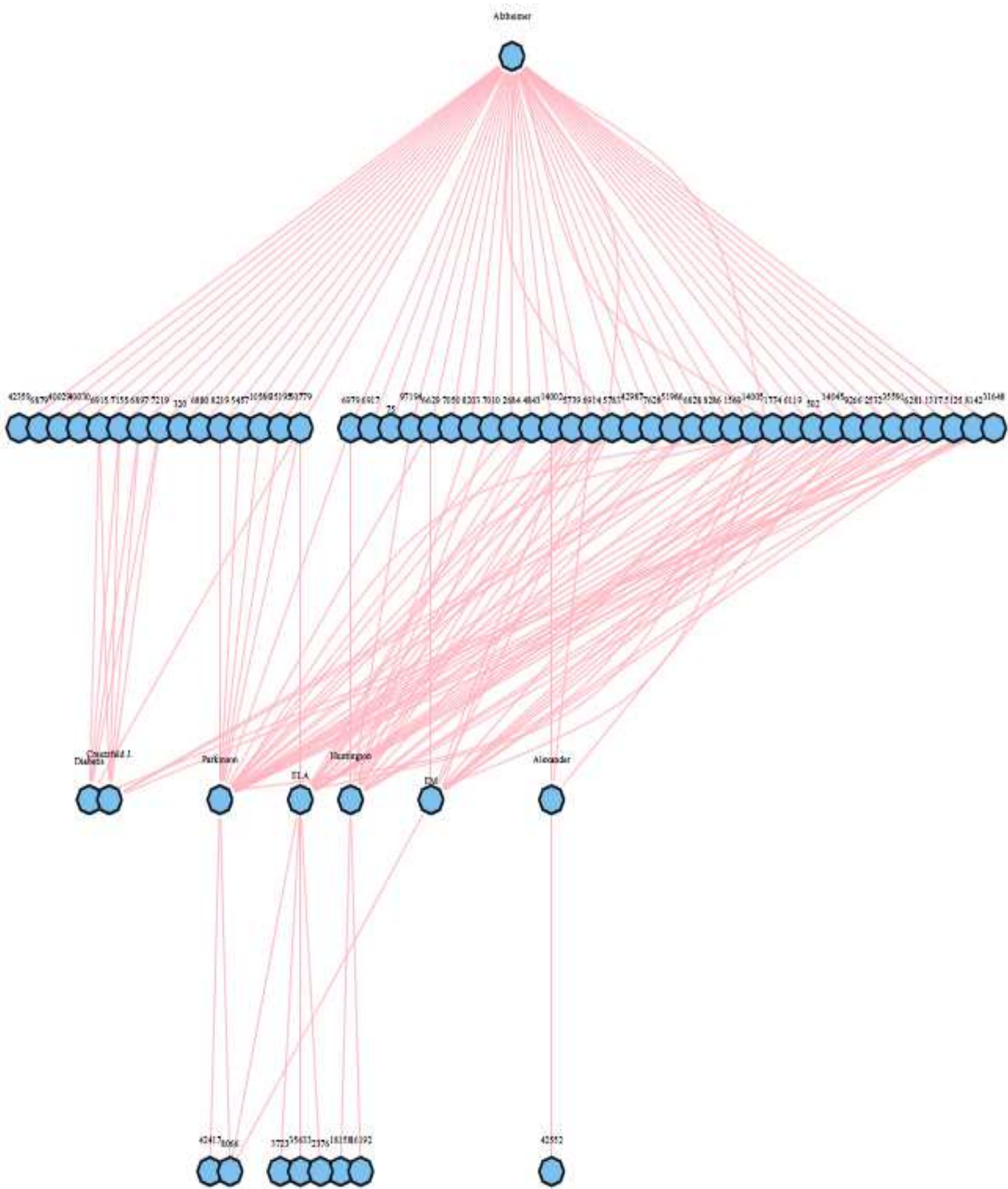


Figura 2.1. Mapa d'interaccions entre les quatre malalties i les diferents causes.

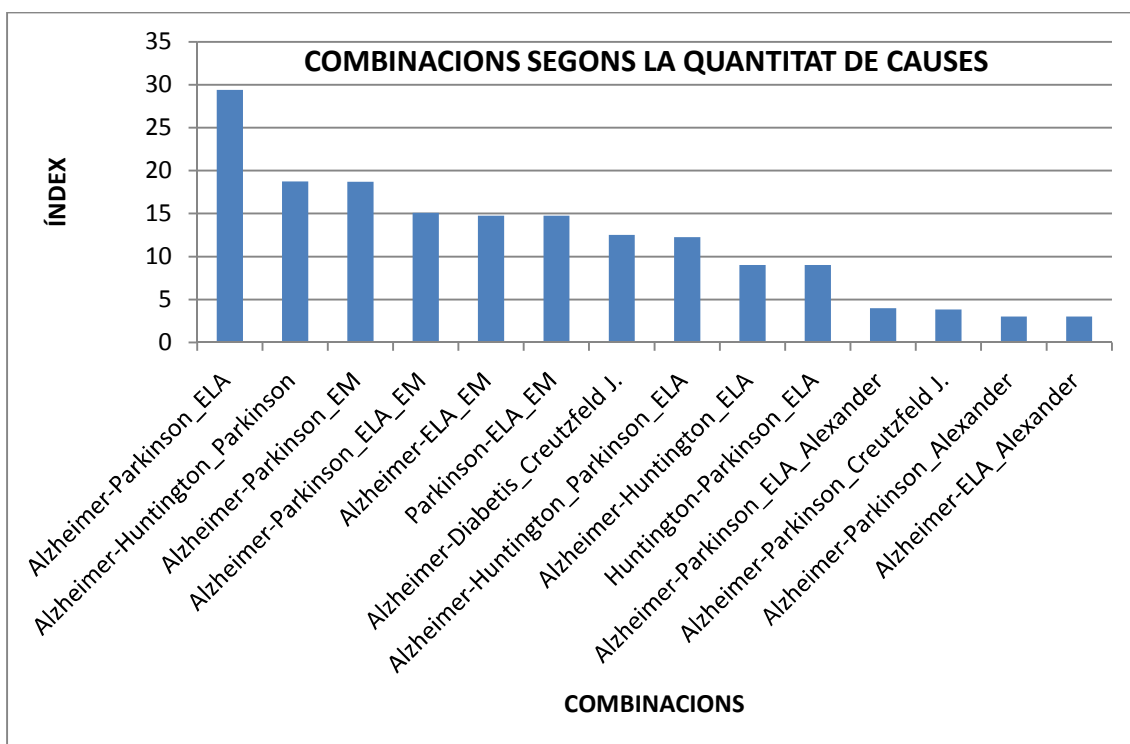
El mapa d'interaccions ens ha donat una primera idea sobre les relacions entre processos moleculars/cel·lulars i processos patològics o malalties i ens ha permès entreveure que, efectivament, hi ha uns quants processos moleculars/cel·lulars que són comuns entre les malalties neurodegeneratives representatives dels principals tipus. Per tal d'acotar l'estudi i poder reduir el nombre de variables a tenir en compte vam decidir d'analitzar quina era la combinació de malalties que compartia un nombre més gran de processos moleculars/cel·lulars. La naturalesa de les dades amb què treballem fa que el nombre de processos compartits sigui més gran com més petit és el nombre de malalties. Per tant, quan s'avaluen totes les combinacions possibles de les malalties preses de set en set, de sis en sis i així successivament fins a les combinacions de les malalties preses de tres en tres, el nombre màxim de processos compartits sempre els trobem a les combinacions de tres. Per minimitzar aquest efecte vam calcular un parell d'índex que ens van ajudar a prendre la decisió.

Calcul de l'índex prioritzant les causes:

Nombre de malalties interaccionades + Nombre de codis GO de la interacció + Nombre de GO del conjunt més petit

Calcul de l'índex prioritzant les malalties:

$(\text{Nombre de malalties interaccionades})^3 + \text{Nombre de codis GO de la interacció} + \text{Nombre de GO del conjunt petit}$



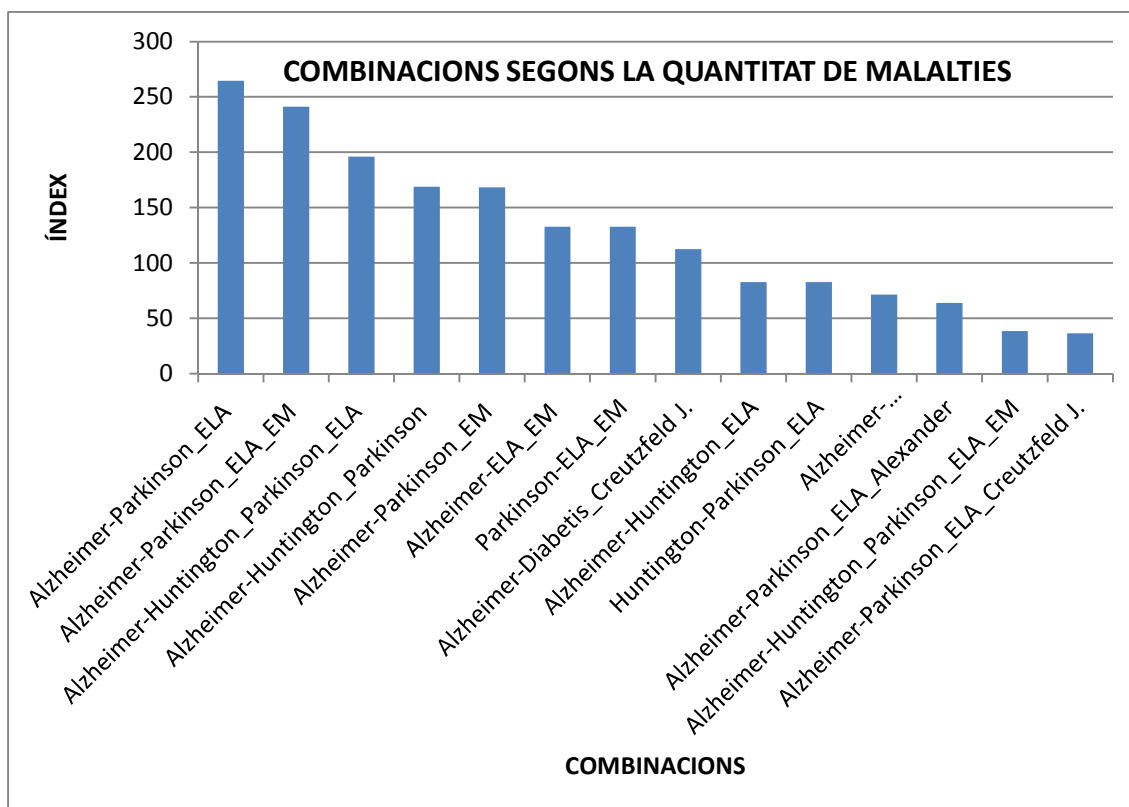


Figura 2.2. Gràfics per decidir quins grups de malalties s'han de seleccionar en base als dos índex.

Com es pot veure, la combinació de les malalties d'Alzheimer, Parkinson i ELA (AD-PD-ELA) ocupa la primera posició en els dos gràfics indicant que aquesta combinació és potent amb independència del pes que es doni al nombre de malalties compartides. Això estaria indicant que aquestes tres malalties comparteixen un bon nombre de processos moleculars/cel·lulars. Tenint en compte que les manifestacions clíniques de les tres malalties són prou diferents, el fet que els mecanismes patològics de les tres malalties comparteixin un bon nombre d'aspectes moleculars/cel·lulars podria ser una pista que ens porti a les causes de la neurodegeneració, que és la manifestació clínica que les tres malalties comparteixen. No obstant, vam considerar que per a l'objectiu de l'estudi era important incloure-hi el màxim nombre de malalties, si ens mirem la Figura 2.2B, immediatament després de la combinació (AD-PD-ELA) hi trobem una combinació que a més d'aquestes tres malalties també inclou l'esclerosi múltiple (AD-PD-ELA-EM). Per tal de visualitzar de quina manera aquestes malalties comparteixen processos moleculars o cel·lulars subjacents vam dibuixar els diagrames de Venn corresponents (Fig. 2.3) (Annex 2). S'observa clarament que en la combinació AD – PD – ELA hi ha 14 processos comuns, mentre que la combinació AD – PD – ELA – EM en té només set.

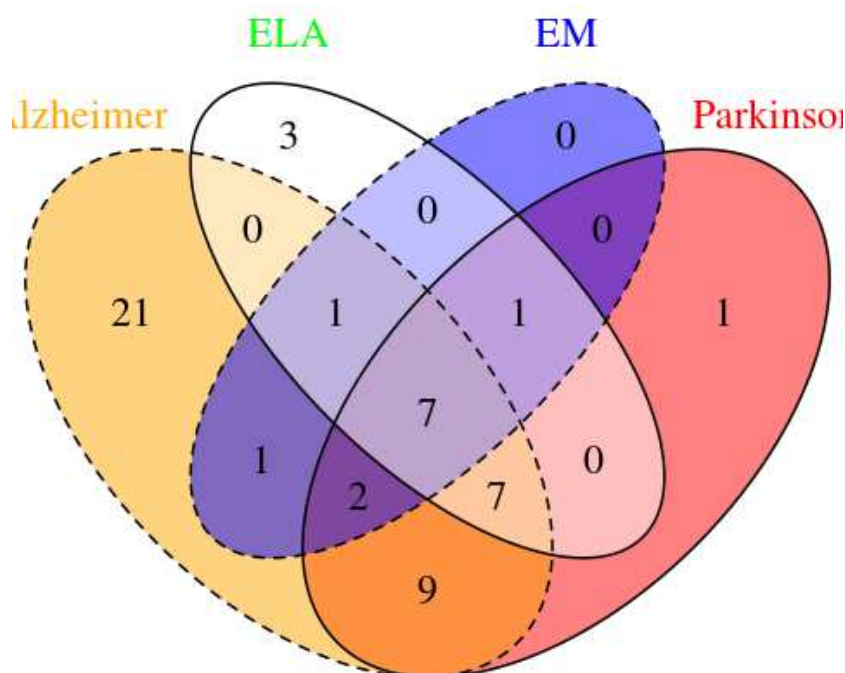


Figura 2.3. Diagrama de Venn de la combinació de les malalties de Alzheimer, Parkinson, Esclerosi Lateral Amiotròfica i Esclerosi Múltiple.

Per bé que la combinació AD – PD – ELA – EM és la que apareix en segona posició quan donem més importància al nombre de malalties, cal tenir en compte que, la combinació AD – PD – HD – ELA (HD és Huntington disease) és la tercera en el segon gràfic i apareix també en el primer. Podria haver-hi el dubte de quina de les dues combinacions és la més apropiada per aprofundir en les causes de la neurodegeneració, però cal tenir en compte que la malaltia de Huntington és una malaltia genètica conseqüència d'una mutació al gen HTT la qual cosa introdueix el dubte si els processos moleculars o cel·lulars que comparteix no són una conseqüència directa o indirecta d'aquesta mutació. Per confirmar-ho, es van analitzar les interaccions que tenia la proteïna Huntingtina (producte del gen HTT) amb el resta de proteïnes cel·lulars. D'aquest anàlisi es van obtenir 88 proteïnes que interaccionaven amb Huntingtina. De l'anàlisi funcional d'aquestes proteïnes es va poder confirmar que tots els processos moleculars/cel·lulars implicats en la malaltia de Huntington ho són com a conseqüència de la mutació. Tenint en compte això, vam decidir treballar amb la combinació de AD – PD – ELA – EM.

Es decideix treballar amb la combinació de quatre malalties i no amb la de tres perquè es considera que és més important treballar amb com més malalties millor. La hipòtesi de treball és que, encara que les 14 causes de la combinació de tres malalties segurament tenen una relació directe amb el procés de neurodegeneració, les set causes en concret de la combinació de quatre, constitueixen el nucli més bàsic de tot aquest procés. Aquestes causes en concret són: disfunció mitocondrial, fallades en l'homeòstasi del calci intracel·lular, problemes en el

desenvolupament i activació de la micròglia, l'endoteli microvascular cerebral, les proteïnes de xoc tèrmic i la inflamació.

3. L'INICI DEL PROCÉS DE NEURODEGENERACIÓ

Després d'estudiar per separat les diferents causes detectades amb el procés citat anteriorment, s'ha pogut elaborar una xarxa causal que intenta representar en quin ordre se succeeixen aquestes set alteracions. Amb tota aquesta informació, sembla clar que el procés de neurodegeneració és una fallada en cadena de diferents sistemes moleculars, cel·lulars, anatòmics i fisiològics que s'inicia amb una disfunció mitocondrial persistent amb conseqüències nefastes per tot el sistema nerviós. Tot sembla indicar que la pèrdua de funció d'aquests orgànuls és deguda a un estat constant d'estrès oxidatiu (Fig. 3.1).

A aquest estat d'estrès oxidatiu s'hi pot arribar de diferents maneres, però tots ells, actuant de manera conjunta, porten a la disfunció mitocondrial. Actualment se sap que l'estrès oxidatiu el poden fer augmentar els propis mitocondris, diferents enzims, els processos infecciosos, diferents xenobiòtics i la presència de metalls al cervell.

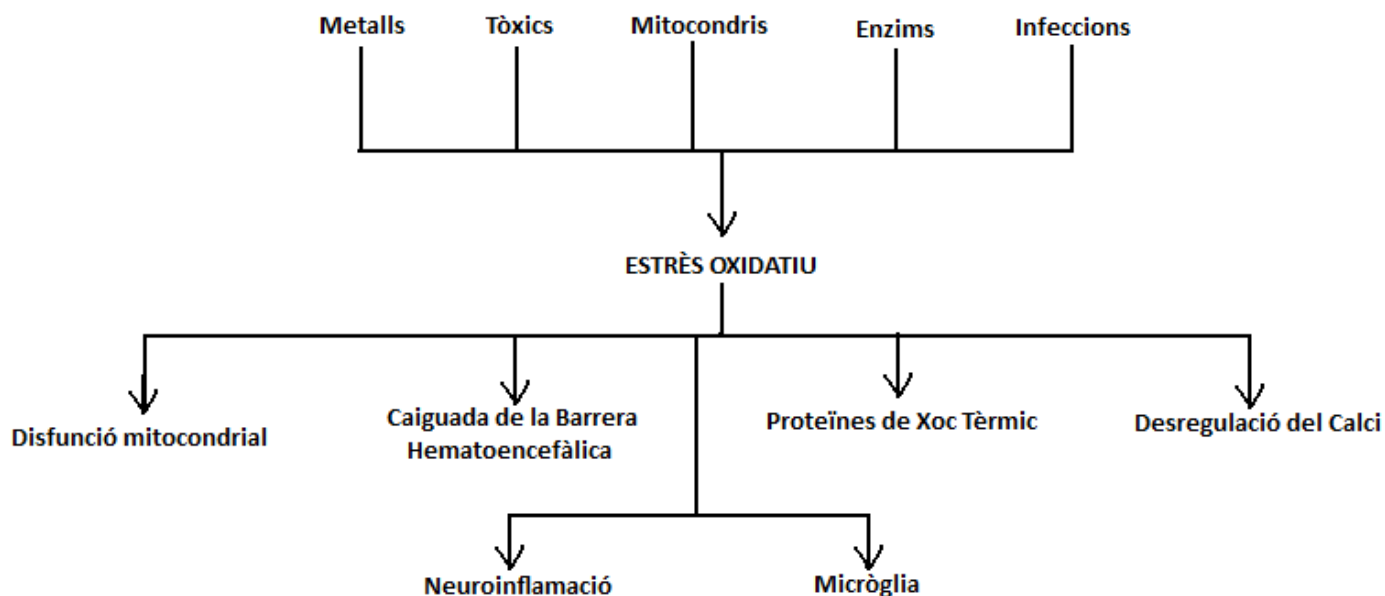


Figura 3.1. Els iniciadors del procés de neurodegeneració.

Se sap que els mitocondris són un dels majors productors de ROS a nivell cel·lular^[4]. Tot i que en condicions patològiques en produeixi menys quantitats que altres components cel·lulars, la seva aportació oxidativa és constant en el temps. Degut a això, els mitocondris disposen de tot un sistema d'antioxidants que en condicions normals ajuden a reduir l'impacte oxidatiu d'aquest orgànu, però, si fallen, contribueixen en augmentar-ne la producció d'estrès. No

obstant, alguns enzims també tenen capacitats oxidatives i, en conseqüència, són importants generadors de ROS. El més significatiu és el NADPH Oxidasa que transporta protons a través de la membrana cel·lular generant com a producte final superòxid, en tipus cel·lulars com la micròglia, les neurones i els astròcits^[4]. Altres enzims amb característiques oxidatives poden ser la Xantina oxidasa i la Monoamina oxidasa. La primera catalitza l'oxidació de diferents metabòlits per formar àcid úric, superòxid i peròxid d'hidrogen i, la segona, és un enzim mitocondrial que per catabolisme oxidatiu converteix neurotransmissors amina (serotonina i dopamina, entre altres) en aldehids que, per una altre via, són transformats en peròxid d'hidrogen.

A part dels propis components cel·lulars, els processos infecciosos també generen un estrès oxidatiu important. Les cèl·lules del sistema immunitari produeixen tant superòxid com òxid nítric per combatre els patògens, a més a més l'òxid nítric reacciona amb l'anió superòxid per formar peroxinitrit (ONOO⁻), un altre tipus de RNS que poden provocar mort cel·lular^[5]. Juntament amb les infeccions, les respostes cel·lulars contra diferents xenobiòtics també causen estrès oxidatiu^[6], igual que la desregulació de les concentracions de metalls que, seguidament, explicarem d'una manera més detallada com el generen, com a exemple d'integració d'aquests processos en el desenvolupament de la neurodegeneració.

4. L'EXPOSICIÓ ALS METALLS

Hi ha metalls que tenen un paper biològic molt important com a cofactors enzimàtics i cal que siguin absorbits per l'organisme en quantitats adequades pel manteniment de l'homeòstasi. Variacions significatives de les concentracions de metalls a l'organisme solen tenir conseqüències diverses. Hi ha altres metalls que poden ser absorbits per l'organisme encara que no tinguin cap paper biològic. En tots dos casos hi ha metalls que participen en les reaccions redox de l'organisme i són importants en el control de l'estrès oxidatiu¹³⁵

El coure, el zinc, el manganès i el ferro són exemples de microelements excretables per l'organisme que s'obtenen amb la dieta i tenen un paper biològic destacat. En el cas del coure, després de travessar les cèl·lules intestinals, s'uneix a albúmina, glutatió i aminoàcids que el distribuïran pel cos a través del torrent sanguini^[7]. El coure sobrant s'excreta per via hepàtica on és unit a la ceruloplasmina i excretat d'aquesta manera a la bilis^[8]. El metabolisme del zinc és similar, és absorbit a l'intestí i s'excreta via urinària o gàstrica^[9]. El zinc entra a les cèl·lules a través de la família de transportadors Zip i en surt a través de la família ZnT i és transportat a través de albúmina i transferrina^[10]. Pel què fa al manganès, igual que en els dos casos anteriors, s'adquireix a través del menjar i travessa l'intestí per transportadors específics. És

eliminat via bilis i transportat per mitjà d'albumina, transferrina, β 1-globulina i transglutaminasa, tot i que el 80% del manganès és transportat per la β 1-globulina^[11].

Una sobreexposició a qualsevol d'aquests tres elements té com a conseqüències principals, una disfunció greu i pertorbació del metabolisme d'altres nutrients en el cas del coure^[12], el desplaçament del transport sanguini del coure i el ferro pel que fa al zinc^[13] i, en quant al manganès, el seu excés s'ha associat amb un augment de la discapacitat intel·lectual i un desens del quocient intel·lectual^[14]. Tot i que aquests efectes són greus, en el cas de la neurodegeneració, la seva influència, ve donada quan se'n té poca quantitat i, en els tres casos, per la mateixa raó. Tant el coure, com el zinc, com el manganès actuen com a cofactors de l'enzim *Superòxid dismutasa* (SOD). Hi ha dos tipus de SOD, la SOD_{Cu/Zn} localitzada al citoplasma^[15] i la SOD_{Mn} de localització mitocondrial^[16]. Les dues tenen la mateixa funció, catalitzar la reacció de anió superòxid a peròxid d'hidrogen utilitzant els protons dels metalls que tenen units. Posteriorment, la catalasa, redueix H₂O₂ a oxigen i aigua (Fig. 3.1A). Aquestes reaccions constitueixen un dels principals sistemes antioxidants de la cèl·lula i són vitals per reduir l'estrès oxidatiu^[17]. Quan les concentracions de coure, zinc i manganès són inferiors als nivells normals, la quantitat de SOD actiu és insuficient i l'estrès oxidatiu augmenta juntament amb els nivells intracel·lulars de ROS (Espècies Reactives de l'Oxigen)^{[11][12][13]}.

Metalls com el Mn, Hg, Cu, Zn, As, Cr, Pb i Al estan relacionats amb l'edat en què apareixen certes malalties i la seva severitat. Una exposició excessiva a aquests metalls pot produir una acumulació al cervell^[18], encara que alguns puguin ser excretables. Les seves propietats redox fan que es generin diferents radicals reactius que provoquen danys al DNA, als lípids i les proteïnes. El dany a les proteïnes també pot ser directe, ja sigui per unió al centre actiu o desplaçant altres cofactors. En aquest últim cas es poden induir canvis conformacionals i agregació proteïca. A més a més, contribueixen en exhaurir les reserves d'ATP i provocant mort cel·lular quan danyen les diferents molècules mitocondrials^{[19][18]}. Aquests agregats, juntament amb la alta presència de metalls provoca l'entrada a un cercle viciós conegut com a Cicle Redox, on els metalls interactuen amb diferents espècies reactives per generar més ROS mitjançant les reaccions de Fenton i Haber-Weiss^{[18][19][20]} (Fig. 3.1B). A més a més, la presència de metalls pesats i l'activació d'aquest cicle, provoca un bloqueig a la producció d'antioxidants.

No tots els metalls pesats tenen capacitat redox, per exemple el Pb, el Hg i el Cd, però, tenen la capacitat de formar unions covalents amb els grups sulfidril (R-SH) de les proteïnes. Això provoca un desacoblament del mecanisme de regeneració del glutatió. El glutatió és un dels compostos implicats en la neutralització dels radicals lliures a dins la cèl·lula. La forma majoritària de glutatió a la cèl·lula és la forma reduïda que s'oxida per reduir radicals lliures i grups sulfidril oxidats. Com que els metalls no s'eliminen, tornen a combinar-se amb els grups sulfidril en un cicle que acaba afectant la proporció de glutatió reduït respecte l'oxidat. Altres

enzims, com el propi SOD, assumeixen la sobrecàrrega generada per la pèrdua del glutatió, però igual que aquest, tenen grups tiol en el centre actiu i, en conseqüència, queden inutilitzats per la unió covalent d'algun altre metall o no són capaços de fer front a la gran quantitat de ROS que es generen degut a l'activació del cicle redox i s'acaba perdent tot el sistema antioxidant en bloc, deixant la cèl·lula i el seu entorn totalment desprotegits de l'estrès oxidatiu^[20].

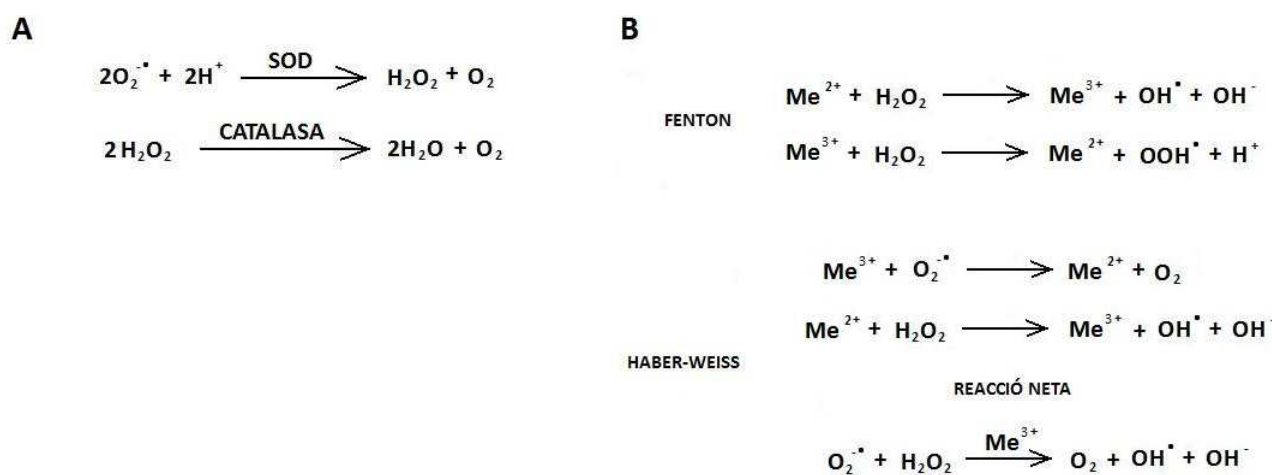


Figura 4.1. Acció de la SOD i cicles redox (Me = Un metall dels citats anteriorment)

5. EL PROCÉS DE NEURODEGENERACIÓ

Un cop les cèl·lules del sistema nerviós i el seu entorn estan sotmeses a la pressió de l'estrès oxidatiu, el procés patològic de neurodegeneració s'inicia amb una fallada mitocondrial (Fig. 5.1). La fallada mitocondrial té dues conseqüències directes, l'esgotament dels mecanismes antioxidants i la producció descontrolada d'espècies altament reactives, ROS i RNS. A continuació, comencen a aparèixer els efectes sobre els diferents components cel·lulars, entre els quals, els propis mitocondris. Els alts nivells d'espècies altament reactives oxiden els lípids de les membranes mitocondrials, danyen el mt-DNA i alteren la composició de les proteïnes mitocondrials. En conseqüència, apareix la disfunció mitocondrial, s'atura la producció d'ATP i augmenta encara més la producció de ROS.

Com que els mitocondris tenen una funció d'emmagatzemament i regulació de les concentracions de calci, la seva disfunció provoca la desregulació de la concentració de calci intracel·lular que comporta més formació d'espècies reactives, canvis d'expressió gènica, alteracions del senyal nerviós i l'alliberament de neurotransmissors i, en darrer terme, la inducció dels mecanismes apoptòtics.

Paral·lelament i en resposta als primers senyals evidents d'estrès oxidatiu s'activen diferents sistemes de defensa d'entre els quals convé destacar l'expressió de HSP. Aquestes proteïnes es sintetitzen en resposta a l'estrès oxidatiu i tèrmic. Les seves funcions principals són protegir la conformació nativa de les proteïnes actuant com a caperones, actuar com a presentadores d'antígens a la superfície de les cèl·lules danyades per tal de fer-les visibles al sistema immunològic i, també, actuar com a senyalitzadors proinflamatoris.

És, justament, l'activitat de les HSP com a presentadores d'antígens i com a citocines que fa de nexa entre la disfunció mitocondrial a les cèl·lules nervioses i l'activació de la micròglia. La micròglia, que està formada per diferents tipus de macròfags específics associats al CNS, s'activa i inicia la resposta immunològica en detectar les HSP o altres citocines. Entre altres coses, l'activació de la micròglia consisteix a reclutar monòcits i neutròfils de la circulació sanguínia que, en ser activats, provoquen la neuroinflamació.

Al principi del paràgraf parlàvem dels problemes de l'estrès oxidatiu sobre les cèl·lules del sistema nerviós i del seu entorn, doncs bé l'altre tipus cel·lular que es veu afectat per l'estrès oxidatiu i que té un paper clau en el procés de neurodegeneració són les cèl·lules de l'endoteli microvascular cerebral que conformen la barrera hematoencefàlica. En aquest cas, una de les conseqüències de l'estrès oxidatiu és l'afebliment de les unions estretes que mantenen unides les cèl·lules endotelials. Degut a això, la barrera hematoencefàlica augmentarà la seva permeabilitat deixant entrar substàncies neurotòxiques i diferents tipus de leucocits directament cap al CNS. Quan aquests leucòcits, s'activin respondran secretant citocines i generant inflamació.

La micròglia té capacitat autoreguladora, això implica que, en condicions normals, quan la infecció o les causes de la seva activació han remès, aturen la seva activitat i s'inicien els processos de reparació dels danys neuronals. En canvi, la presència constant de citocines proinflamatòries que es generen en un CNS sotmès a estrès oxidatiu, impedirà la desactivació de la micròglia mai que no podrà actuar com a neuroprotectora.

Tant l'activació constant de la micròglia, com la presència de leucòcits sanguinis al cervell contribueixen al procés neuroinflamatori. Aquest procés que ha estat dissenyat evolutivament per fer front a infeccions i altres alteracions del CNS actua, entre d'altres maneres, alliberant ROS, RNS i productes neurotòxics per tal d'eliminar les cèl·lules neuronals danyades. Així doncs i contràriament al què es preté, s'entra en un bucle d'activació que amplifica l'estrès oxidatiu.

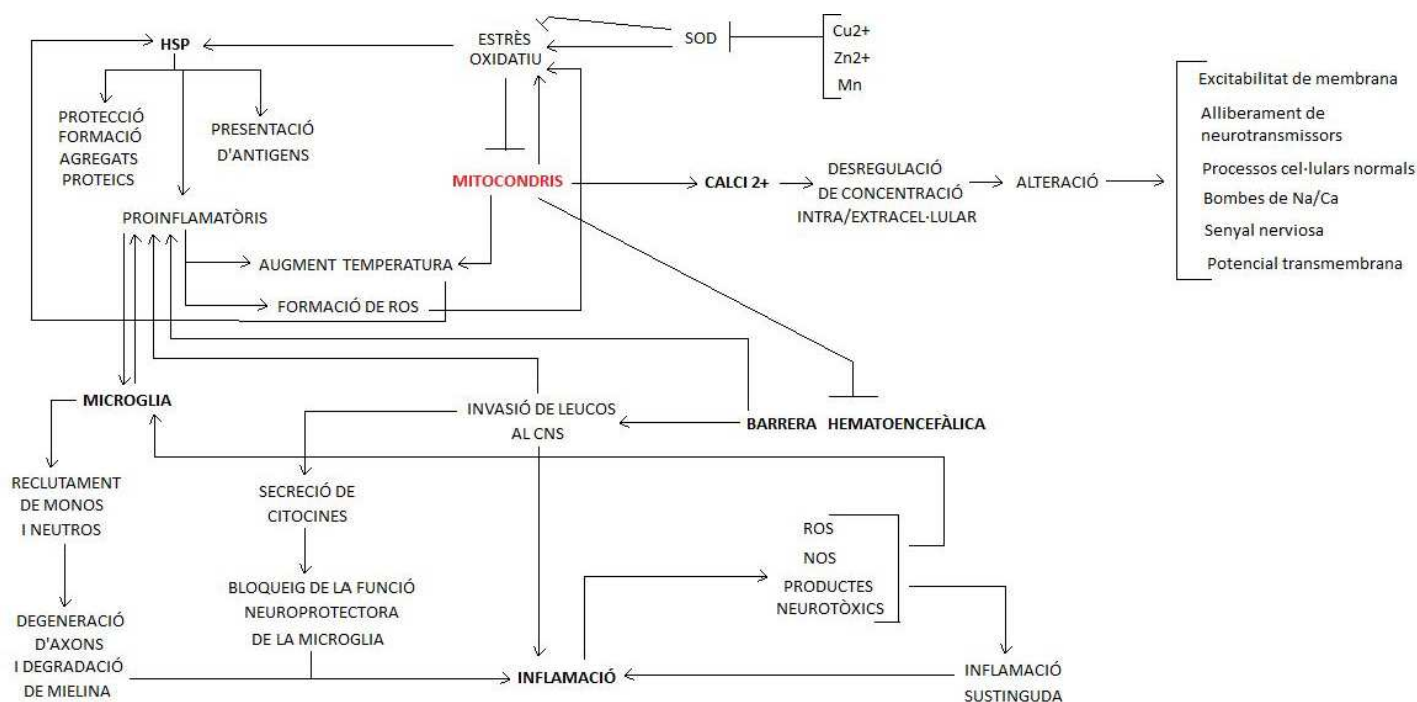


Figura 5.1. El gràfic del procés de neurodegeneració.

En aquest apartat hem donat un visió general i integrada dels processos que porten a la neurodegeneració, a partir d'aquí aprofundirem en cadascun dels aspectes clau. Començant per la disfunció mitocondrial, passarem per la desregulació del calci, l'activació de les HSP, la pèrdua de la barrera hematoencefàlica i l'activació de la microglia, fins arribar a la neuroinflamació crònica.

6. DISFUNCIÓ MITOCONDRIAL

6.1. La fallada mitocondrial

Els mitocondris tenen dues funcions principals, la producció d'ATP mitjançant la cadena de fosforil·lació oxidativa i l'emmagatzemament de calci intracel·lular. A més a més de les funcions de producció de calor i regulació de l'apoptosi.

Els ROS són capaços de produir danys sistèmics a escala cel·lular, afectant el DNA, els lípids i les proteïnes, però el seu efecte sobre els mitocondris pot desencadenar una sèrie d'esdeveniments que pot ser letal per la cèl·lula. La presència d'un excés de ROS al mitocondri pot iniciar un bucle de retroalimentació positiva que s'inicia amb un augment de la peroxidació lipídica^[21] que provoca danys a la membrana mitocondrial creant radicals de lípids que per tal d'estabilitzar-se prenen un protó al lípid del seu costat, generant d'aquesta manera una

reacció en cadena que danya greument la membrana mitocondrial. Els danys a les proteïnes de la cadena de transport electrònic, provoquen que aquestes no funcionin correctament i, en conseqüència, contribueixen a generar més ROS al mateix temps que deixen de generar ATP^[22]. Finalment, el cas dels danys al DNA mitocondrial (mtDNA) tenen especial importància; el mtDNA conté 37 gens que codifiquen per proteïnes dels diferents complexos de la cadena de transport electrònic, tRNAs i rRNAs necessaris per les síntesis de les proteïnes mitocondrials. Mentre el mtDNA es manté més o menys intacte, les afectacions de la membrana i de les proteïnes es poden anar reparant; s'ha pogut comprovar que la disfunció mitocondrial només s'assoleix havent superat un nivell concret de danys acumulats en el mtDNA. Un cop superat aquest llindar, la taxa respiratòria disminueix i augmenta la formació d'espècies reactives de l'oxigen. Aquest procés es pot observar en totes quatre malalties neurodegeneratives^[23].

6.2. Conseqüències de la fallada mitocondrial

Efectes sobre el transport intraneuronal de mitocondris

A les neurones els mitocondris es transporten, per les llargues distàncies neuronals utilitzant microtúbuls. Ho fan en les dues direccions, des del soma cap a l'axó i les dendrites i viceversa, gràcies a les proteïnes kinesina i dineïna que actuen cadascuna només en un dels dos sentits. La dinàmica d'aquest transport respon a canvis fisiològics cel·lulars la qual cosa permet regular la producció d'energia en cada punt de la cèl·lula segons les necessitats del moment. L'estrès oxidatiu també afecta el transport mitocondrial, però ho fa, negativament. S'ha pogut veure que l'òxid nítric i l'acumulació de calci i zinc, poden inhibir el moviment mitocondrial, d'una banda perquè el transport és dependent d'ATP la síntesi del qual es veu afectada per l'estrès oxidatiu, però també perquè l'afectació de les proteïnes que el constitueixen alteren l'estructura del citoesquelet^[24]. El manteniment de la funció sinàptica és crítica perquè les neurones sobrevisquin i els mitocondris neuronals responen a aquests requeriments. Les sinapsis, que necessiten alts nivells d'ATP i calci, han de tenir molts mitocondris que hi arriben des del soma. Els dèficits en el transport a través dels axons, provoca un desabastiment de les sinapsis que, privades de mitocondris, comencen a fallar causant símptomes com la pèrdua de memòria o la disfunció motriu^[25]. Juntament amb els problemes de transport, també influeixen en aquest procés les perturbacions en els processos de fissió i fusió mitocondrial. Aquests processos són utilitzats per la cèl·lula com a control de qualitat dels seus mitocondris, gràcies a ells i en condicions normals, l'impacte dels mitocondris danyats és atenuat, però, en condicions patològiques com és el cas, efecten el nombre de mitocondris útils^{[26][27]}.

Efectes sobre la mort cel·lular per apoptosi i necrosi

Un dels principals fenòmens que caracteritzen les malalties neurodegeneratives és la mort neuronal, ja sigui per apoptosi o per necrosi i, en tots dos casos, els mitocondris hi estan involucrats. En el cas de l'apoptosi, la dinàmica mitocondrial hi juga un paper regulatori important utilitzant el procés de fissió es van fragmentant els mitocondris^[28] al mateix temps que es bloqueja la fusió^[29]. Augmentant la fragmentació també s'incrementa el reclutament de Bax/Bak i DLP, dos inductors apoptòtics^[30]. Bax/Bak interactuen amb diferents canals de membrana per fer-la permeable al citocrom c i iniciar-ne l'alliberament des del mitocondri cap al citoplasma cel·lular^[31]. Un cop fora, el citocrom s'uneix als apoptosomes, uns complexos proteics que, amb el citocrom unit, activen la caspasa-3 que inicia el procés de suïcidi cel·lular^[32]. Un altre mecanisme proapoptòtic que s'activa a nivell mitocondrial és el Factor Inductor de l'Apoptosi (AIF), que respon a l'alta presència de ROS o a l'activació del cicle redox, activa el procés de mort cel·lular programada^[35]. Degut a que en condicions normals hi ha un seguit de sistemes que bloquegen l'apoptosi, quan aquesta és necessària, juntament amb l'alliberament de proteïnes proapoptòtiques, es generen també inhibidors de les vies antiapoptòtiques, permetent d'aquesta manera que la mort cel·lular tiri endavant^[33]. A més a més, a nivell extracel·lular, s'activen receptors de mort cel·lular que estan units a la membrana com poden ser Fas i el receptor de TNF, fent la cèl·lula danyada visible per els leucòcits que, en detectar-la, la destruiran^[34].

La necrosi, d'altra banda, no és un procés controlat com l'apoptosi, és més aviat una cadena de fenòmens fisicoquímics que provoquen la mort de la cèl·lula. S'ha observat que com a conseqüència de l'estrès oxidatiu produït pels ROS, la pèrdua del gradient electroquímic o l'emmagatzemament excessiu de calci en els mitocondris, es generen uns porus a la membrana plasmàtica que la fan permeable^[36]. Aquesta permeabilitat desestabilitza l'homeòstasi cel·lular de diferents components que inicia el procés de necrosi que es tradueix en la inflor i vesiculació dels orgànuls, destrucció de la integritat de les membranes, digestió de la cromatina i, finalment, la destrucció total de la cèl·lula. Al contrari del procés d'apoptosi, aquest tipus de mort cel·lular genera un seguit de restes cel·lulars que estimulen la inflamació en aquella zona del teixit^{[37][38]}.

Efectes sobre la generació de calor

En condicions normals, els processos metabòlics del cervell generen calor^[39] però, un procés de fuga de protons a nivell mitocondrial, pot augmentar aquesta emissió. En certes condicions, els protons poden tornar a entrar a la matriu mitocondrial sense contribuir a generar ATP gràcies a la difusió facilitada que, en conseqüència, provoca un desaprofitament energètic del gradient electroquímic que s'emet en forma de calor^[40]. Quan l'estrès oxidatiu danya les membranes del mitocondri, es fan permeables i permeten l'entrada per difusió simple dels

protons. Aquest transport incontrolat de protons també genera calor. Les proteïnes de xoc tèrmic, s'activen degut a l'augment de temperatura i, aquesta activació, juga un paper important en el procés de neurodegeneració tal com s'explicarà més endavant.

Efectes sobre els nivells de calci intracel·lular

La degradació mitocondrial comporta el bloqueig de la funció que tenen els mitocondris en la regulació dels nivells de calci intracel·lular que es tornen anormalment alts i fan que el cervell sigui vulnerable a la neurodegeneració^{[41][42]}. El calci participa en la regulació de moltes vies de senyalització, per aquesta raó, les cèl·lules mantenen un control molt estricte de la concentració d'aquest ió mitjançant bombes transmembrana i bescanviadors iònics que permeten compartimentalitzar-lo als mitocondris i al reticle endoplasmàtic^[43]. El calci entra al mitocondri a través de difusió facilitada unidireccional que depèn del potencial de membrana i en surt per bescanviadors de Na/Ca^[44]. El calci és crític per regular el moviment dels mitocondris a través del soma cap a les dendrites on hi juga un paper molt important^[45]. Quan la concentració de calci a la matriu mitocondrial excedeix la seva capacitat es parla de sobrecàrrega de calci i té conseqüències nefastes per la cèl·lula. La membrana mitocondrial perd la seva energia i augmenta la producció de ROS al mateix temps que s'obren porus a la membrana, la converteixen en permeable i permeten el pas de ions i soluts que dissipen el potencial transmembrana, es perd la capacitat de síntesi d'ATP i la homeòstasi d'ions, cosa que provoca la pèrdua de les funcions que exerceix el calci a la cèl·lula, i s'inicien els processos d'apoptosi i necrosi^[46]. L'estrès oxidatiu degut als ROS provoca un increment de l'entrada de calci al mitocondri augmentant el risc de patir una sobrecàrrega de calci. L'alta concentració de calci permet l'alliberament de citocrom c a través d'un procés mitjançat per els ROS i que acaba amb la mort cel·lular^{[47][48]}.

6.3. Sistemes de defensa contra fallada mitocondrial

Els mitocondris disposen de principalment tres sistemes per protegir-se o protegir a la cèl·lula de la seva pròpia fallada. Ja hem explicat que el contacte amb els ROS pot danyar les proteïnes, és per això que existeix un sistema de proteases per eliminar-les^[49]. Les proteïnes danyades de la membrana externa són eliminades per el sistema d'ubiquitinització i proteasoma^[50]. Tot i que aquest sistema és important per reparar o eliminar proteïnes danyades, no és suficient per reparar el mitocondri. El principal sistema de reparació és la fusió i fissió mitocondrial. Els dos processos es duen a terme per GTPases que permeten dividir o fusionar les dues membranes de l'òrganul^[51]. Tot i que el mtDNA mutant (degut al contacte amb els ROS, per exemple) pot intentar ser reparat per els mecanismes de reparació de DNA, la fusió mitocondrial també és capaç de col·laborar-hi. Gràcies a aquest procés, un mitocondri danyat en fusionar-se amb un altre, se li compensen les mutacions del seu DNA i pot mantenir les funcions. I de la mateixa manera, si dos mitocondris danyats es fusionen, és possible que es complementin i un supleixi

les funcions que l'altre té impedides i viceversa^[52]. Una altra opció és que el mitocondri amb danys o deixalles pateixi una fissió, d'aquesta manera, la part no danyada podrà seguir funcionant correctament, mentre que la part danyada serà eliminada^[53].

Si no és possible reparar el mitocondri, l'última opció que queda per protegir la cèl·lula és destruir-lo mitjançant el procés de mitofàgia. En condicions normals, la proteïna Pink1 és constantment expressada i degradada a l'interior de la membrana interna del mitocondri evitant així que pugui ser detectada per la proteïna Parkin. Quan el mitocondri falla, el trasllat a l'interior de la membrana queda bloquejat i Pink1 s'acumula a fora. En aquestes condicions, Pink1 recluta a Parkin del citosol i, aquesta, ubiquitinitza les proteïnes de la membrana externa del mitocondri induint així l'eliminació de l'òrganul per mitjà de l'autofàgia^[54].

Els sistemes de reparació i eliminació de mitocondris estan dissenyats per actuar sobre els efectes que l'envelliment provoca en els mitocondris. No obstant, quan, per l'esgotament dels sistemes antioxidants no es pot evitar que es generin ROS i RNS (Espècies Reactives del Nitrògen) la fusió mitocondrial provoca la contaminació d'altres mitocondris^[22].

7. DESREGULACIÓ DE LA CONCENTRACIÓ DE CALCI INTRACEL·LULAR

7.1. La desregulació de la homeòstasi de calci intracel·lular

Si bé abans ja hem parlat de la desregulació del calci a nivell mitocondrial, ara ho farem a nivell cel·lular. Hi ha bàsicament dos punts a la cèl·lula des d'on es pot regular el calci, els mitocondris i el reticle endoplasmàtic (RE). La cadena d'esdeveniments que porten a la desregulació de la concentració de calci intracel·lular i que s'origina a partir de la fallada mitocondrial ja s'ha explicat en l'apartat anterior, però hi ha una via alternativa per la qual els canvis de senyalització per calci s'originen al RE i, també contribueixen al procés de neurodegeneració. La senyalització mitjançant calci és molt important pel control de processos generals com ara la regulació gènica, el creixement cel·lular i la diferenciació, però en el cas de les neurones hi té un paper clau a l'hora de controlar funcions com l'excitabilitat de la membrana i l'alliberament de neurotransmissors, per la qual cosa participa de forma important amb la creació i transmissió del senyal nerviós i del potencial transmembrana^{[55][56]}. Com que també pot actuar com a missatger secundari, com en el pàncrees on intervé en l'alliberació d'insulina, és necessari que, en les neurones, les concentracions intracel·lulars siguin baixes quan estan actives, per evitar interferir en altres vies^[57]. Diferents receptors i intercanviadors situats a la membrana plasmàtica envien el calci citosòlic cap a l'espai extracel·lular mentre que, altres transportadors de la membrana del reticle endoplasmàtic, l'envien cap als magatzems interns. Quan es necessita d'aquest calci emmagatzemat,

l'estimulació de receptors units a proteïna G activen una via senyalitzadora concreta que permet la sortida del calci del reticle endoplasmàtic^[55]. L'increment de la concentració de calci al citosol activa cascades de senyalització cel·lular que, entre altres coses, provoquen un augment de la producció d'ATP^[58]. El punt final d'aquests fluxos de calci són la modulació de l'excitabilitat de membrana, l'augment d'activitat enzimàtica i l'expressió gènica. No obstant, també pot comportar reaccions adverses com poden ser l'increment de la producció de ROS i RNS i la mort cel·lular per apoptosi o necrosi quan actua sobre els mitocondris i es produeix la sobrecàrrega de calci.

Amb l'edat es produeix una disminució de la taxa metabòlica i una acumulació dels efectes negatius de l'estrès oxidatiu, i es va perdent l'habilitat de mantenir aquesta fina regulació dels gradients de calci. Per aquest motiu és fàcil que les neurones velles pateixin desregulacions de calci que provoquen un augment de la concentració de calci intracel·lular^[59]. A més a més, certes mutacions com poden ser les que afecten als gens PS1 i PS2 (que codifiquen per les proteïnes Presenil·lina1 i Presenil·lina2) poden tenir un impacte important en la senyalització del calci^[60]. Aquestes dues proteïnes tenen una funció moduladora de l'entrada de calci al reticle endoplasmàtic; les mutacions en els gens respectius provoquen pèrdues més o menys importants de funcionalitat que es tradueixen en una desregulació de l'emmagatzemament del calci^[61]. Degut a això, es produeix una saturació de les reserves de calci al reticle que provoca un alliberament excessiu d'aquest cap al citoplasma.

7.2. Conseqüències de la pèrdua d'homeòstasi de Ca²⁺

Un dels principals afectes de la desregulació sostinguda del calci és l'activació de la calcineurina que provoca l'atròfia de les neurites^[62] i afectes greus en la plasticitat sinàptica^[63]. Degut a les funcions de regulació de la resposta sinàptica, la pèrdua de la homeòstasi del calci també té afectes greus per els processos neuronals com, per exemple, l'activació d'unes proteases dependents de calci que degraden uns enzims de senyalització involucrats en l'aprenentatge i la memòria^[64]. També produeix acumulació de ROS i la disfunció mitocondrial que acaba amb mort cerebral. L'increment de concentració de calci citosòlic provinent del RE provoca una compensació de l'acumulació del calci al mitocondri que genera un increment en la producció de ROS, la pèrdua d'activitat oxidativa del citocrom c i la caiguda d'activitat metabòlica^{[65][66]}.

En certs casos concrets, es pot crear un cercle viciós entre la desregulació del calci i altres factors de risc de malalties neurodegeneratives. Per exemple, en el cas de l'Alzheimer s'ha observat que l'augment de la concentració de calci facilita la formació patogènica de pèptid A β , al mateix temps que, el propi pèptid A β pot ajudar a formar canals permeables de calci que provoquen un augment d'aquest ió dins la cèl·lula^[67]. El fet de que el procés s'autoalimenti

provoca que es torni crònic i augmenti progressivament les capacitats patològiques tant del calci com del pèptid A β .

8. CAIGUDA DE LA BARRERA HEMATOENCEFÀLICA

La barrera hematoencefàlica és un dels principals sistemes de defensa contra tota mena de tòxics i agents infecciosos i de determinades cèl·lules del propi organisme que si entressin en contacte amb el sistema nerviós podrien portar problemes. Quan la barrera es veu compromesa sol comportar alguna patologia neuronal. La localització concreta de la barrera hematoencefàlica és en l'endoteli microvascular cerebral. El fet de que les cèl·lules endotelials d'aquests vasos sanguinis estiguin unides amb proteïnes d'unió estreta disminueix el pas de substàncies no lipídiques de la sang cap al cervell i substàncies vitals com poden ser sucres, aminoàcids, nucleòtids i vitamines hi accedeixen a través de canals específics^[68]. La pèrdua d'aquestes juntes estretes està relacionada amb malalties com l'esclerosi múltiple o l'esclerosi lateral amiotròfica^{[69][70]}, mentre que disfuncions en el transport de substàncies trans-endoteli es relaciona amb el Parkinson i l'Alzheimer^{[71][72]}.

8.1. Causes de la caiguda de la barrera hematoencefàlica

La massa mitocondrial de les cèl·lules endotelials que constitueixen la barrera hematoencefàlica és molt important perquè aquestes cèl·lules tenen unes necessitats energètiques elevades perquè han de mantenir les unions cel·lulars estretes, característiques de la barrera hematoencefàlica, i pel cost energètic associat al funcionament d'els canals de transport que abasteixen el cervell^[73]. Degut de l'alta quantitat de ROS generats pels mitocondris endotelials amb el seu funcionament (aproximadament el 90% de la producció cel·lular de ROS^[74]) s'inicia la disfunció de la barrera hematoencefàlica. L'augment de ROS provoca danys oxidatius que es tradueixen en el trencament de les unions estretes i en l'activació de les metal·loproteïnes de la matriu extracel·lular (MMP) que degraden la matriu extracel·lular^[75]. A més a més, l'exposició a lípids oxidats contribueix a augmentar encara més la producció de ROS a les cèl·lules endotelials fins al punt que es poden activar els sistemes apoptòtics^{[76][77]}. L'alteració de les funcions mitocondrials juntament amb l'augment d'estrès oxidatiu i l'entrada en apoptosi de les cèl·lules endotelials, segurament són les causants de la pèrdua d'energia i la disrupció de la barrera hematoencefàlica^[68].

8.2. Conseqüències de la disrupció de la barrera hematoencefàlica

La disfunció de les cèl·lules endotelials deguda a l'augment de la permeabilitat o a la disminució de la capacitat de transport de la barrera hematoencefàlica, afecta la viabilitat i supervivència de les cèl·lules neuronals degut a l'alliberament d'un nombre important de

molècules directament neurotòxiques^[78] que actuen sobre els astròcits i la micròglia que estan en contacte directe amb els microvasos sanguinis cerebrals, provocant que els dos tipus cel·lulars secretin molècules proinflamatòries com el TNF α ^{[79][80][81]}.

La circulació sanguínia cerebral és molt rica en citocines i quimiocines que davant una disrupció de la barrera hematoencefàlica no tenen massa problemes per traspasar els vasos i entrar al CNS. Una d'aquestes és la família de les MMP que juga un paper important en la resposta inflamatòria. Les MMP incrementen la permeabilitat de la barrera hematoencefàlica atacant la matriu extracel·lular, la làmina basal i les unions estretes de les cèl·lules endotelials, provocant d'aquesta manera la neuroinflamació^[82]. Certes citocines com la IL-1 β i el TNF α poden causar desregulacions en l'expressió de les proteïnes que controlen l'activitat de les MMP, al mateix temps que indueixen la secreció de MMP-3 i MMP-9 involucrades en la neuroinflamació crònica aguda^[83]. A part de provocar l'activació i alliberament de les citocines les MMP també poden escindir els receptors cel·lulars de les proteïnes endotelials^[84].

Degut a que les MMP també contribueixen a la disrupció de la barrera hematoencefàlica i provoquen una disminució de l'expressió de les proteïnes d'adhesió estreta, s'augmenta la permeabilitat de la barrera, permetent el pas de limfòcits i monòcits dels vasos sanguinis cap al cervell^{[85][86]}. Ens trobem doncs de nou en un bucle d'inducció positiu que estimula la neuroinflamació en el moment que aquests limfòcits i monòcits resulten activats i secreten més citocines. A més a més, contribueixen directament al procés de neurodegeneració ja que degraden les beines de mielina de substància blanca^[87].

9. RESPOSTA DE LES PROTEÏNES DE XOC TÈRMIC

9.1. Causes de l'activació de les HSP

Les proteïnes de xoc tèrmic (HSP) són un grup de proteïnes que veuen augmentada la seva expressió en resposta als augments de temperatura i estrès oxidatiu entre altres factors d'estrès com poden ser la radiació o l'exposició a diferents substàncies químiques. Aquest grup de proteïnes es divideixen en subfamílies en funció del seu pes molecular. Actuen com a xaperones, evitant així el mal plegament i l'agregació d'altres proteïnes, i també, com a citocines i presentadores d'antígens^[92].

Tot i haver-hi diferents causes que promoguin l'expressió de les HSP, en el context de la neurodegeneració, les més importants són l'augment de temperatura i l'estrès oxidatiu. El correcte control de la temperatura cerebral és molt important ja que la majoria de processos físics i químics que governen l'activitat neuronal depenen de la temperatura. Temperatures elevades poden danyar irreversiblement les cèl·lules neuronals i provocar-hi canvis morfològics

que empitjoren els processos patològics, també poden afectar l'alliberament de neurotransmissors. Altres zones cerebrals també es veuen afectades per els canvis tèrmics; la barrera hematoencefàlica augmenta la seva permeabilitat en condicions de temperatura elevada^[88]. Algunes HSP, com ara la Hsp27 i la Hsp32, s'expressen en condicions d'hipertèrmia per tal de protegir el cervell d'aquestes agressions^[89]. En presència d'estrès oxidatiu, s'activa la proteïna Akt per fosforilació i aquesta pot unir-se a certes HSP, com per exemple la Hsp90 que activarà les vies d'apoptosi cel·lular eliminant d'aquesta manera la cèl·lula danyada^[90]. Tot i que l'activació de les HSP és de caire defensiu i protector, una sobre activació d'aquestes pot generar danys importants al CNS degut a les seves característiques de presentadores d'antígens i citocines, ja que activant el sistema inflamatori poden causar la neuroinflamació.

9.2. Activació de les HSP i inflamació

El fet de que les HSP actuïn com a presentadores d'antígens i proinflamatòries fa que, en el context cerebral de les malalties neurodegeneratives, on es produeix un augment de permeabilitat de la barrera hematoencefàlica i juguin un paper important. Els leucòcits presents al CNS degut a la caiguda de la barrera, i la micròglia resident són activats per les HSP i generen neuroinflamació i danys irreparables al cervell. D'aquesta manera, un sistema de protecció cerebral, s'acaba convertint en patològic.

Les HSP s'associen amb pèptids que es generen dins les cèl·lules i, aquest complex HSP-Pèptid, pot actuar de dues maneres per tal de poder presentar el pèptid al sistema immunològic. En els dos casos el pèptid és presentat a través del MHC de classe I però es pot fer via endògena o exògena^[91] (Fig. 7.1).

En la via endògena, algunes HSP com la Hsp70 i la Hsp90 estableixen el proteasoma que pot continuar funcionant en condicions d'estrès tèrmic^[93]. Així, la degradació proteasòmica de proteïnes danyades genera pèptids que poden ser captats per diferents HSP que els transporten fins al canal TAP de la membrana del RE^[94]. Els pèptids, produïts durant la degradació proteasòmica de proteïnes danyades passen a l'interior del RE pels canals TAP i, un cop a dins, són captats per un altre tipus de HSP que els cediran al MHC^[95]. Aquest nou complex MHC-Pèptid serà translocat a la membrana cel·lular on podrà ser detectat per algun leucòcit. Si es produeix la interacció, el leucòcit resulta activat de la mateixa manera que en un procés inflamatori normal.

La via exògena s'inicia quan, degut a diferents tipus d'estrès o a la mort cel·lular, els complexos HSP-Pèptid de dins del RE o del citoplasma són alliberats a l'espai extracel·lular. Un cop fora, es troben amb cèl·lules presentadores d'antígens (CPA) i són detectats per els seus receptors específics de membrana, com el CD91^[96]. Un cop s'ha produït la interacció amb el receptor, el complex HSP-Pèptid és endocitat i, el pèptid, és processat i finalment re-presentat a la

superfície cel·lular de la CPA a través del MHC de classe I^[97]. A més, les HSP unides als pèptids són capaces d'activar les CPA través del receptor CD91 i d'altres que encara no han estat caracteritzats amb exactitud. Un cop activades, les CPA secretaran citocines proinflamatòries per iniciar la resposta immunitària contra la font d'aquell pèptid. A més a més, s'ha vist que poden interactuar amb macròfags, limfòcits T, plaquetes i cèl·lules dendrítiques^{[98][99]}. Degut a aquesta capacitat que tenen les HSP per activar les CPA, es poden considerar elles mateixes com a citocines.

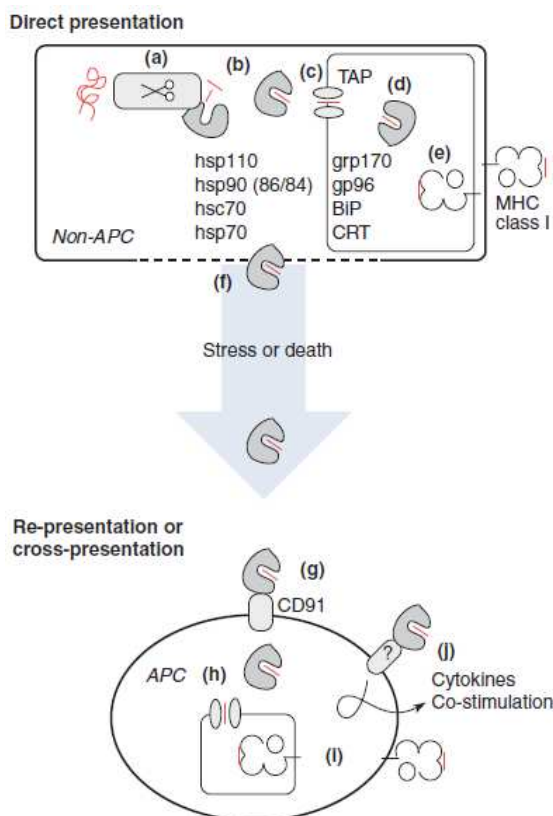


Figura 7.1. Les dues vies de presentació d'antígens (Extreta de *Heat-Shock Proteins in Clinical Neurology*).

10. EL PAPER DE LA MICRÒGLIA

Micròglia és el nom que donem a un tipus de cèl·lules glials, es tracta de macròfags residents del cervell i la medul·la espinal i constitueixen la primera línia de defensa del sistema immunitari al CNS. Hi ha diferents tipus de macròfags dins de la micròglia, els macròfags perivasculars (PVMs) tenen un paper rellevant en els processos neurodegeneratius. En condicions normals, aquestes cèl·lules són inactives i s'activen en resposta a danys cerebrals o malalties. L'activació es caracteritza, entre d'altres fenòmens per l'expressió de diferents tipus

de molècules de superfície cel·lular i citoplasmàtiques. Els PVMs són capaços d'actuar de presentadors d'antígens del CNS als limfòcits T^[106]. En el seu estat inactiu, la micròglia està explorant constantment el seu entron, d'on va agafant mostres fent una funció de vigilància^[100]. Les neurones expressen lligands a les seves superfícies que, interaccionant amb receptors específics de la micròglia la mantenen en el seu estat de repòs. Els lligands neuronals CD200, CD47 i CX3CL1 i els receptors de la micròglia CD200R, CD172a i CX3CL1R són els principals responsables de mantenir les funcions neuroprotectives de la micròglia^{[101][102][103][104]}, mitjançant l'alliberament de citocines anti-inflamatòries i factors neurotròfics com poden ser IGF-1, BDNF, GDNF, IL-10 i TGFβ^[105].

10.1. L'activació de la micròglia

La majoria d'alteracions o danys que canvien l'homeòstasi cerebral, sol tenir com a conseqüència l'activació de la micròglia. Quan els macròfags que constitueixen la micròglia s'activen, canvien la seva morfologia i, posen en marxa diferents vies d'activació transcripcional de citocines i receptors de membrana, depenent de quina molècula n'hagi causat l'activació^[107]. Les cèl·lules neuronals danyades o en degeneració solen secretar DAMPs (Molècules de patró molecular associat a danys), HSPs, histones, lípids oxidats, DNA, ATP, entre d'altres^[108], que interaccionen amb els receptors de membrana de la micròglia que s'activa. L'activació comporta la síntesi i alliberament de diferents tipus de citocines proinflamàtiques com IL-6, IL-12, IL-23 i TNFα^[105]. Tant el TNFα com la IL-1β, indueixen la síntesis de quimiocines que s'encarreguen de reclutar neutròfils i monòcits de la sang que poden contribuir al procés de neurodegeneració destruint les beines de mielina.

A més a més de l'efecte proinflamatori, la micròglia activada produeix i allibera òxid nítric, superòxid i peròxid d'hidrògen, que causen danys importants a les cèl·lules circumdants^[109]. En una inflamació puntual, aquests danys són reparats o atenuats un cop la inflamació ha desaparegut. La micròglia té un sistema d'autocontrol que li permet detectar quant s'han resolt els danys i s'ha de desactivar. Quan es detecta IL-10 o IL-4, la micròglia passa del seu estat activat al seu estat de neuroprotecció tornant a secretar proteïnes anti-inflamatòries^[105]. En un procés neuroinflamatori crònic com passa en les malalties neurodegeneratives, la inflamació mai desapareix i la micròglia i els altres leucòcits presents al CNS no són desactivats, la micròglia segueix secretant ROS i RNS i contribueix a fer encara més greu el procés de neurodegeneració^[110].

11. NEUROINFLAMACIÓ CRÒNICA

El CNS és una zona especial a nivell immunològic ja que la barrera hematoencefàlica impedeix que les cèl·lules immunes que estan en circulació sanguínia hi puguin accedir en absència d'inflamació i danys. En aquest context, la micròglia és la principal defensa contra possibles amenaces dins del CNS. En la majoria dels casos, la seva resposta s'autolimita aturant l'activitat quan la infecció ha estat eradicada. En el cas de les malalties neurodegeneratives, ja s'ha dit que la micròglia contribueix a convertir la inflamació en crònica, però cal tenir en compte que ens trobem en una situació en què la barrera hematoencefàlica es veu compromesa i es torna permeable, deixant entrar les cèl·lules del sistema immune al cervell. Quan siguin activades al seu temps també contribuiran a convertir en sostinguda la neuroinflamació^[111]. La inflamació incontrolada pot derivar en una producció de factors neurotòxics que augmenti encara més els diferents estats de la malaltia, vegem-ho.

En l'apartat anterior ja hem explicat que en resposta a la detecció de fugues d'ATP de cèl·lules moribundes, proteïnes oxidades, lípids i cèl·lules apoptòtiques, diferents tipus cel·lulars com els leucòcits o la micròglia activen rutes de transducció de senyals^[112] que inicien la transcripció gènica que porta a l'activació de la cèl·lula^[113], ara ens centrarem en els efectes inflamatoris que això comporta. Aquestes cèl·lules, un cop activades, secreten molècules amplificadores de la inflamació com són les citocines i recluten altres cèl·lules immunitàries gràcies a les quimiocines. La micròglia per la seva part secreta TNF α i IL-1 β que actua sobre els astròcits i indueix la seva resposta inflamatòria secundària^[114]. L'activació d'aquests sistemes d'amplificació, contràriament al què es pretendria, també contribueixen a amplificar la neurotoxicitat i la mort de neurones, ja que, en aquest estat, les cèl·lules immunològiques efectores secreten substàncies tòxiques com l'oxid nítric i danyen les cèl·lules circumdants o bé poden activar les vies d'apoptòsi en la cèl·lula on s'han unit. L'activació de la micròglia i els astròcits és universal per les quatre malalties discutides en aquest treball, així com la producció de molècules reactives com ROS i RNS com a armes de defensa contra possibles infeccions i que són secretades fora de les cèl·lules immunològiques.

És d'aquesta manera, com les respostes inflamatòries sostingudes contribueixen a augmentar encara més la neurodegeneració. El fet d'entrar en aquest bucle provoca que en cada moment s'amplifiqui encara més la inflamació^{[111][110]}. Aquesta situació, amb el temps, acaba causant danys massius al CNS, cada cop més greus, fins que el propi CNS es torna incapaç de desenvolupar les seves funcions correctament.

12. CARACTERÍSTIQUES ESPECÍFIQUES DE CADA MALALTIA

Hem demostrat que les quatre malalties estudiades comparteixen els mecanismes que condueixen a la neurodegeneració, no obstant, es tracta de malalties que tenen simptomatologies molt diferents. Les diferències en les manifestacions clíniques d'aquestes malalties s'expliquen essencialment per la localització i/o el subtipus cel·lular afectat pel procés neurodegeneratiu. En aquest treball hem determinat les causes comunes del procés neurodegeneratiu en diferents tipologies de malalties, però hi ha d'haver efectes previs que condueixin a l'aparició d'una o altra malaltia. En aquesta secció analitzarem breument quins són aquests efectes.

12.1. Malaltia d'Alzheimer

La malaltia d'Alzheimer és una de les formes més conegudes de demència i sol ser diagnosticada en persones que superen els 65 anys d'edat^[115]. En els estadis inicials de la malaltia, la simptomatologia és difícil d'identificar però, a mesura que avança, els símptomes inclouen confusió, irritabilitat, agressivitat, canvis d'humor, problemes amb el llenguatge i la pèrdua de la memòria a llarg termini. Gradualment es van perdent les funcions corporals fins que s'arriba a la mort. Les causes de l'Alzheimer encara no s'entenen del tot, però si que s'ha pogut veure una associació amb la presència de plaques i agregats al cervell formats per deposicions de pèptids β -amiloides i proteïnes tau. També s'observa un paper patològic de la Proteïna Precursora Amiloide (APP) que està implicada en la regulació de la formació de les sinapsis.

La APP juga un paper important en el cas de la disfunció mitocondrial. Se sap que l'APP conté una seqüència diana per al mitocondri que li permet interaccionar amb les proteïnes que s'hi importen provinents del DNA del nucli de la cèl·lula. D'aquesta manera, bloquejant la importació mitocondrial d'aquestes proteïnes, altera el funcionament del mitocondri creant anomalies a la cadena de transport electrònic i es produeixen pèrdues bioenergètiques^[116] alhora que augmenten els nivells de producció de ROS^[117]. A més a més, el pèptid A β pot interaccionar amb la alcohol deshidrogenasa de la matriu mitocondrial i participar en la disfunció mitocondrial i l'estrès oxidatiu^[118]. Cal tenir en compte a més a més, que danys en els mitocondris, implicaran desregulacions del calci intracel·lular degut al caràcter tamponador d'aquest orgànu que porta a diferents efectes sobre la senyalització nerviosa.

També s'observa que els pèptids A β són capaços d'activar la micròglia i induir-ne la producció de RNS, ROS, citocines proinflamàtores, quimiocines i prostaglandines que promouen la mort neuronal^[124]. En el cas de l'Alzheimer, s'ha observat que factors de caràcter ambiental com poden ser les lesions traumàtiques són capaces d'activar tant la micròglia com els astròcits i induir la inflamació sostinguda al cervell^[125].

Per tant, les causes principals de la neurodegeneració en l'alzheimer serien la inducció de la disfunció mitocondrial i l'activitat proinflamatòria induïdes per les proteïnes amiloides.

12.2. Malaltia de Parkinson

Aquesta malaltia neurodegenerativa té símptomes motrius degut a la mort de cèl·lules dopaminèrgiques en la substància negra del mesencèfal. En la majoria de casos la malaltia apareix després dels 50 anys d'edat. Els símptomes més coneguts són tremolors, rigidesa, lentitud de moviments i dificultats per caminar. En estadis més avançats, es detecta demència i depressió així com problemes sensorials, emocionals i del son. Tot i que en alguns casos concrets la base del Parkinson pot ser genètica, en la gran majoria no és així. Les causes en concret són desconegudes però s'observa com a característica l'acumulació d' α -sinucleïna, una proteïna d'expressió neuronal en unes inclusions neuronals conegudes com a Cossos de Lewy, que són agregats proteïcs.

Determinades mutacions del gen de l' α -sinucleïna s'han pogut associar amb la inducció de processos patocel·lulars. En primer lloc, l'agregació de la proteïna mutada en forma de protofibril·les que generen porus a la membrana cel·lular^[119]. En segon lloc, nivells elevats d'aquesta proteïna mutant provoca un augment de la producció intracel·lular de ROS i dèficits mitocondrials^[120]. D'altra banda, les mutacions de PINK1 també juguen un paper al Parkinson, d'una banda afecten els mitocondris, ja que aquesta proteïna està lligada als processos d'autofàgia i per tant, aquest mecanisme de defensa s'alterarà. D'altra banda, determinades mutacions causen disfuncions en l'entrada de calci al mitocondri^[121].

En el cas del Parkinson, la mort cel·lular provoca l'alliberament de tota mena de substàncies, entre les quals la α -sinucleïna, que és fagocitada per la micròglia i n'indueix l'activació, iniciant d'aquesta manera el procés inflamatori cerebral^{[126][127]}. Certs productes químics externs poden actuar de neurotòxics i promoure l'activació de cèl·lules inflamatòries^[128].

12.3. Esclerosi Lateral Amiotròfica

L'ELA és una malaltia que debilita progressivament al pacient amb una simptomatologia variada però caracteritzada per una ràpida i progressiva debilitat, atròfia muscular, fasciculacions, espasticitat muscular, disàrtria, disfàgia i dispnea. Aquesta malaltia és hereditària en una part dels casos majoritàriament degut a mutacions a la Superòxid Dismutasa (SOD) tot i que també s'han detectat altres tipus de mutacions en percentatges més petits de la població. En els casos en què no hi ha una base genètica, les causes de la malaltia són desconegudes. El rol del glutamat, l'exposició a agents químics i a les ones

electromagnètiques i el paper de diferents tipus de traumes s'estan investigant, però sense resultats consistents.

Degut a la mutació de la SOD, els efectes sobre els mitocondris i l'estrès oxidatiu són importants. El fet d'expressar una SOD mutant implica que aquesta no podrà dur a terme correctament la seva funció. La SOD és un dels principals sistemes antioxidants cel·lulars i mitocondrials. La pèrdua de funció de SOD condueix a un increment d'ions superòxid que no poden ser eliminats a nivell mitocondrial i causen una alta toxicitat al mateix temps que augmenten l'estès oxidatiu^[122].

Generalment la ELA es caracteritza per una neuroinflamació prominent amb l'acumulació d'un gran nombre de micròglies i astròcits activats amb una elevada producció de molècules potencialment citotòxiques com els ROS, mitjancers inflamatoris i citocines. Molècules i complexos com el MHC i receptors del complement són altament expressades a la superfície de la micròglia^[128]. Aquesta presència de MHC pot estar relacionada indirectament amb les HSP.

12.4. Esclerosis Múltiple

La Esclerosis Múltiple es caracteritza per un atac i posterior degradació del propi sistema immunològic a les beines de mielina, això té com a conseqüència una disminució de l'aïllament dels axons que fa que el senyal nerviós no es transmeti correctament. Les causes que porten a aquesta situació segueixen sent desconegudes. La simptomatologia de la malaltia és extensa incloent pèrdues en la sensibilitat, debilitat muscular, espasmes, atàxia i dolor crònic, entre altres. Es creu que les causes són una barreja entre factors genètics, ambientals i infecciosos.

El fet que la Hsp70 sigui capaç de presentar antígens als limfòcits T i que l'esclerosi múltiple es caracteritzi per tenir un caràcter autoimmunitari, fa que aquesta proteïna de xoc tèrmic contribueixi en la malaltia actuant com a presentadora d'autoantígens. Aquest augment d'autoimmunitat podria estar relacionat amb una alteració del control genètic de l'expressió de certes HSPs (com la Hsp70) que, estant sobre expressades, presentarien més antígens i produirien una reacció immunològica sobredimensionada^[123].

Degut a l'alta infiltració limfocítica en el CNS que caracteritza l'etiologia de la malaltia, també s'observa un augment de la micròglia i els astròcits que porten a la neuroinflamació crònica i a la desmielinització que danya les neurones^[129]. S'ha observat que les infeccions virals o bacterianes poden ser un factor important que iniciï la esclerosi múltiple degut a la presència d'antígens associats a la mielina de les cèl·lules infectades^[130]. De tota manera, els que tenen el rol patològic principal són els limfòcits T i B autoreactius juntament amb cèl·lules del sistema immunitari innat que presenten autoantígens i secreten citocines que provoquen la

diferenciació dels limfòcits T cap a cèl·lules efectores^[131]. Aquestes noves cèl·lules actives, secreten citocines que actuen com a amplificadors del procés inflamatori^[132].

13. CONCLUSIONS

En aquesta revisió bibliogràfica hem integrat la informació relativa als processos moleculars i cel·lulars implicats en diferents malalties neurodegeneratives. L'especialització necessària per avançar en el coneixement dels detalls moleculars de processos complexes com els subjacents a la neurodegeneració pot dificultar l'articulació d'una visió global que pot ser molt útil en el disseny de noves estratègies per a la investigació i pel plantejament de determinades aproximacions terapèutiques. La conclusió principal a la qual hem arribat és que hi ha una sèrie de bucles de realimentació positiva que amplifiquen els efectes negatius provocats per la presència de factors d'estrès oxidatiu.

Es coneixen diferents factors d'estrès oxidatiu, un d'ells és l'exposició a diferents metalls que acaba provocant la pèrdua dels sistemes antioxidants al mateix temps que s'incrementa l'emissió de ROS. En qualsevol cas, en aquest treball plantejem la hipòtesi que, sigui quin sigui l'origen de l'estrès oxidatiu, la neurodegeneració s'inicia en el moment que l'afectació del mitocondris és tal que no poden ser reparats i no funcionen correctament. A partir d'aquest punt, s'inicia una reacció d'esdeveniments en cadena, els més importants dels quals són la desregulació dels nivells de calci, l'activació de les HSP, la pèrdua de la barrera hematoencefàlica, l'activació de la micròglia i, finalment, l'aparició d'una neuroinflamació crònica. Aquest últim estadi s'observa que es retroalimenta i amplifica constantment, de manera que, la neurodegeneració, genera encara més neurodegeneració i cada vegada amb unes conseqüències més greus.

Les malalties neurodegeneratives solen progressar de forma relativament lenta en diferents fases que coincideixen amb graus d'afectació creixent a partir dels primers símptomes. A partir de l'anàlisi que hem fet aquí, ens atreviríem a suggerir una línia d'investigació que permetés correlacionar les diferents fases clíniques de cada malaltia amb la cadena d'esdeveniments que nosaltres hem proposat. D'aquesta manera, de la investigació se'n podrien derivar estratègies d'actuació terapèutica per a frenar la progressió en les diferents fases. També seria molt interessant de desenvolupar marcadors d'estrès oxidatiu que permetessin avançar el diagnòstic abans que apareguessin els primers símptomes.

En vista dels resultats, s'observen possibles dianes terapèutiques que podria ser interessant estudiar. Per un costat, si es confirmés que l'origen del procés de neurodegeneració és l'estrès oxidatiu, podrien ser indicats tractaments de caire antioxidant com a mesura preventiva

d'aquest tipus de malalties. De la mateixa manera, es podria buscar tractaments que disminuïssin la inflamació neuronal, de bloqueig de la micròglia, inhibidors de HSPs, substàncies que disminuïssin la permeabilitat de la barrera hematoencefàlica, o fàrmacs que ajudessin als sistemes de reparació mitocondrial.

Cal remarcar que aquest procés que s'ha proposat seria comú per quatre malalties diferents, amb la qual cosa, les possibles dianes farmacològiques que si puguin detectar, haurien de servir per poder desenvolupar estratègies comunes.

REFERÈNCIES I BIBLIOGRAFIA

Referències per a la construcció del mapa d'interaccions:

1. PERLMAN, S. J.; MAR S. "Leukodystrophies". *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 724 (2012): 154-171.
2. YOSHIDA, T.; NAKAGAWA, M. "Clinical aspects and pathology of Alexander disease, and morphological and functional alteration of astrocytes induced by GFAP mutation". *Neuropathology*, 32 (2012): 440-446.
3. BALBI, P. et al. "The clinical spectrum of late-onset Alexander disease: a systematic literature review". *Journal of Neurology*, 257 (2010): 1955-1962.
4. VERKHRATSKY, A.; PARPURA, V. "Recent advances in (patho)physiology of astroglia". *Acta Pharmacologica Sinica*, 31 (2010): 1044-54.
5. SAWAISHI, Y. "Review of Alexander disease: beyond the classical concept of leukodystrophy". *Brain & Development*, 31 (2009): 493-498.
6. TANG, G.; YUE, Z.; TALLOCY, Z.; GOLDMAN, J.E. "Adaptative autophagy in Alexander disease-affected astrocytes". *Autophagy*, 4 (2008): 701-703.
7. MESSING, A. et al. "Alexander disease". *Journal of Neuroscience*, 32 (2012): 5017-5023.
8. BALION, C. et al. "Vitamin D, cognition, and dementia: a systematic review and meta-analysis". *Neurology*, 79 (2012): 1397-1405.
9. WARREN, J. D.; FLETCHER, P. D.; GOLDEN, H. L. "The paradox of syndromic diversity in Alzheimer disease". *Nature Reviews. Neurology*, 8 (2012): 451-164.
10. MASDEU, J. C.; KREISL, W. C.; BERMAN, K. F. "The neurobiology of Alzheimer disease defined by neuroimaging". *Current Opinion in Neurology*, 25 (2012): 410-420.
11. NAVIAUX, R. K. "Oxidative shielding or oxidative stress?". *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 342 (2012): 608-618.
12. JACK, C. R. "Alzheimer disease: new concepts on its neurobiology and the clinical role imaging will play". *Radiology*, 263 (2012): 344-361.
13. NELSON, P. T. et al. "Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature". *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 71 (2012): 362-381.
14. THOMPSON, P. M.; VINTERS, H. V. "Pathologic lesions in neurodegenerative diseases". *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107 (2012): 1-40.
15. HONIG, L. S. "Translational research in neurology: dementia". *Archives of Neurology*, 69 (2012): 969-977.
16. CASTELLANI, R. J.; MOREIRA, P. I.; PERRY, G.; ZHU, H. "The role of iron as a mediator of oxidative stress in Alzheimer disease". *Biofactors*, 38 (2012): 133-8.
17. WIRTHS, O.; BAYER, T. A. "Intraneuronal A β accumulation and neurodegeneration: lessons from transgenic models". *Life Sciences*, 91 (2012): 1148-1152.

18. LANNI, C. et al. "p53 at the crossroads between cancer and neurodegeneration". *Free Radical Biology & Medicine*, 52 (2012): 1727-1733.
19. POULSEN, H. E. et al. "RNA modifications by oxidation: a novel disease mechanism?". *Free Radical Biology & Medicine*, 52 (2012): 1353-1361.
20. BIHAQI, S. W. et al. "Do epigenetic pathways initiate late onset Alzheimer disease (LOAD): towards a new paradigm". *Current Alzheimer Research*, 9 (2012): 574-588.
21. HARRIS, H.; RUBINSZTEI, D. C. "Control of autophagy as a therapy for neurodegenerative disease". *Nature Reviews. Neurology*, 8 (2011): 108-117.
22. ROBERTS, B. R. et al. "The role of metallobiology and amyloid- β peptides in Alzheimer's disease". *Journal of Neurochemistry*, 120 supplement 1 (2012): 149-166.
23. KEENEY, J. T. et al. "Cell cycle proteins in brain in mild cognitive impairment: insights into progression to Alzheimer disease". *Neurotoxicity Research*, 22 (2012): 220-230.
24. JUCKER, M.; WALKER, L. C. "Pathogenic protein seeding in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders". *Annals of Neurology*, 70 (2011): 532-540.
25. GRAHAM, R. K.; EHRNHOFER, D. E.; HAYDEN, M. R. "Caspase-6 and neurodegeneration". *Trends in Neurosciences*, 34 (2011): 646-656.
26. GRAMMAS, P. et al. "Vascular signaling abnormalities in Alzheimer disease". *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 78 supplement 1 (2011): 50-53.
27. SERIPA, D. et al. "The genetics of the human APOE polymorphism". *Rejuvenation Research*, 14 (2011): 491-500.
28. LUNN, J. S. et al. "Stem cell technology for neurodegenerative diseases". *Annals of Neurology*, 70 (2011): 353-361.
29. ZOU, W. Q.; ZHOU, X.; YUAN, J.; XIAO, X. "Insoluble cellular prion protein and its association with prion and Alzheimer diseases". *Prion*, 5 (2011): 172-178.
30. SUPNET, C.; BEZPROZVANNY, L. "Presenilins as endoplasmic reticulum calcium leak channels and Alzheimer's disease pathogenesis". *Science China. Life Sciences*, 54 (2011): 744-751.
31. ZHOU, Z. D. "The roles of amyloid precursor protein (APP) in neurogenesis: Implications to pathogenesis and therapy of Alzheimer disease". *Cell Adhesion & Migration*, 5 (2011): 280-292.
32. FURUKAWA, K. et al. "Regulatory mechanisms of nervous systems with glycosphingolipids". *Neurochemical Research*, 36 (2011): 1578-1586.
33. DAVIGLUS, M. L. et al. "Risk factors and preventive interventions for Alzheimer disease: state of the science". *Archives of Neurology*, 68 (2011): 1185-1190.
34. SANDERSON, J. L.; DELL'ACQUA, M. L. "AKAP signaling complexes in regulation of excitatory synaptic plasticity". *Neuroscientist*, 17 (2011): 321-336.
35. HYMAN, B. T. "Amyloid-dependent and amyloid-independent stages of Alzheimer disease". *Archives of Neurology*, 68 (2011): 1062-1064.
36. TAKEDA, S. et al. "Molecular mechanisms linking diabetes mellitus and Alzheimer disease: beta-amyloid peptide, insulin signaling, and neuronal function". *Molecular Biosystems*, 7 (2011): 1822-1827.

37. NAERT, G.; RIVEST, S. "The role of microglial cell subsets in Alzheimer's disease". *Current Alzheimer Research*, 8 (2011): 151-155.
38. BOHNEN, N. I.; ALBIN, R. L. "White matter lesions in Parkinson disease". *Nature Reviews. Neurology*, 7 (2011): 229-236.
39. REITZ, C.; BRAYNE, C.; MAYEUX R. "Epidemiology of Alzheimer disease". *Nature Reviews. Neurology*, 7 (2011): 137-152.
40. SATO, N. "Role of insulin signaling in the interaction between Alzheimer disease and diabetes mellitus: a missing link to therapeutic potential". *Current Aging Science*, 4 (2011) 118-127.
41. BEKRIS, L. M. et al. "Genetics of Alzheimer disease". *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23 (2010): 213-227.
42. BI, X. "Alzheimer disease: update on basic mechanisms". *Journal of the American Osteopathic Association*, 110 suplement 8 (2010): 3-9.
43. BARBER, R. C. "Biomarkers for early detection of Alzheimer disease". *Journal of the American Osteopathic Association*, 110 suplement 8 (2010): 10-15.
44. CASTELLANI, R. J.; ROLSTON, R. K.; SMITH, M. A. "Alzheimer disease". *Disease-a-month*, 56 (2010): 484-546.
45. ZABEL, C. et al. "Proteasome and oxidative phosphorylation changes may explain why aging is a risk factor for neurodegenerative disorders". *Journal of Proteomics*, 73 (2010): 2230-2238.
46. IQBAL, K. et al. "Tau in Alzheimer disease and related tauopathies". *Current Alzheimer Research*, 7 (2010): 656-664.
47. BONDA, D. J. et al. "Pathological implications of cell cycle re-entry in Alzheimer disease". *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 12 (2010): e19.
48. AMBEGAOKAR, S. S.; ROY, B.; JACKSON, G. R. "Neurodegenerative models in Drosophila: polyglutamine disorders, Parkinson disease, and amyotrophic lateral sclerosis". *Neurobiology of Disease*, 40 (2010): 29-39.
49. QUINTANA, C.; GUTIÉRREZ L. "Could a dysfunction of ferritin be a determinant factor in the aetiology of some neurodegenerative diseases?". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1800 (2010): 770-782.
50. BETTENS, K.; SLEEGERS, K.; VAN BROECKHOVEN, C. "Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future". *Human Molecular Genetics*, 19 (2010): R4-R11.
51. PERRY, V. H.; NICOLL, J. A.; HOLMES, C. "Microglia in neurodegenerative disease". *Nature Reviews. Neurology*, 6 (2010): 193-201.
52. DEMURO, A.; PARKER, I.; STUTZMANN, G. E. "Calcium signaling and amyloid toxicity in Alzheimer disease". *Journal of Biological Chemistry*, 285 (2010): 12463-12468.
53. SUPNET, C.; BEZPROZVANNY, I. "The dysregulation of intracellular calcium in Alzheimer disease". *Cell Calcium*, 47 (2010): 183-189.
54. BONDA, D. J. et al. "Review: cell cycle aberrations and neurodegeneration". *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 36 (2010): 157-163.

55. FIATA, M.; VEERHUIS, R. "Biomarkers of inflammation and amyloid-beta phagocytosis in patients at risk of Alzheimer disease". *Experimental Gerontology*, 45 (2010): 57-63.
56. SINGER, C. "Comprehensive treatment of Huntington disease and other choreic disorders". *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 79 suplement 2 (2012): S30-34.
57. ZHENG, Z.; DIAMOND, M. I. "Huntington disease and the huntingtin protein". *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107 (2012): 189-214.
58. SOROLLA, M. A. et al. "Protein oxidation in Huntington disease". *Biofactors*, 38 (2012): 173-185.
59. HENRY, P. G.; MOCHEL, F. "The search for sensitive biomarkers in presymptomatic Huntington disease". *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32 (2012): 769-770.
60. JUNG, H. H.; DANEK, A.; WALKER, R. H. "Neuroacanthocytosis syndromes". *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 6 (2011): 68.
61. HA, A. D.; JANKOVIC, J. "Exploring the correlates of intermediate CAG repeats in Huntington disease". *Postgraduate Medicine*, 123 (2011): 116-121.
62. KARASINSKA, J. M.; HAYDEN, M. R. "Cholesterol metabolism in Huntington disease". *Nature Reviews. Neurology*, 7 (2011): 561-572.
63. SHOULSON, I.; YOUNG, A. B. "Milestones in huntington disease". *Movement Disorders*, 26 (2011): 1127-1133.
64. EHRNHOFER, D. E.; SUTTON, L.; HAYDEN, M. R. "Small changes, big impact: posttranslational modifications and function of huntingtin in Huntington disease". *Neuroscientist*, 17 (2011): 475-492.
65. MOCHEL, F.; HALLER, R. G. "Energy deficit in Huntington disease: why it matters". *Journal of Clinical Investigation*, 121 (2011): 493-499.
66. EIDELBERG, D.; SURMEIER, D. J. "Brain networks in Huntington disease". *Journal of Clinical Investigation*, 121 (2011): 484-492.
67. LI, X.; LI, S. "Proteasomal dysfunction in aging and Huntington disease". *Neurobiology of Disease*, 43 (2011): 4-8.
68. STURROCK, A.; LEAVITT, B. R. "The clinical and genetic features of Huntington disease". *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23 (2010): 243-259.
69. LEONI, V.; CACCIA, C. "Oxysterols as biomarkers in neurodegenerative diseases". *Chemistry and Physics of Lipids*, 164 (2011): 515-524.
70. BLOCK, R. C. et al. "Altered cholesterol and fatty acid metabolism in Huntington disease". *Journal of Clinical Lipidology*, 4 (2010): 17-23.
71. JIN, Y. N.; JOHNSON, G. V. "The interrelationship between mitochondrial dysfunction and transcriptional dysregulation in Huntington disease". *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 42 (2010): 199-205.
72. SACK, G. H. "Mitochondrial matters in Huntington disease". *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 42 (2010): 189-191.

73. RENNA, M. et al. "Chemical inducers of autophagy that enhance the clearance of mutant proteins in neurodegenerative diseases". *Journal of Biological Chemistry*, 285 (2010): 11061-11067.
74. BAMBURG, J. R. et al. "ADF/Cofilin-actin rods in neurodegenerative diseases". *Current Alzheimer Research*, 7 (2010): 241-250.
75. NARAYAN, P.; DRAGUNOW, M. "Pharmacology of epigenetics in brain disorders". *British Journal of Pharmacology*, 159 (2010): 285-303.
76. WILLIS, G. L.; MOORE, C.; ARMSTRONG, S. M. "Breaking away from dopamine deficiency: an essential new direction for Parkinson's disease". *Reviews in the Neurosciences*, 23 (2012): 403-428.
77. YOULE, R. J.; VAN DER BLIEK, A. M. "Mitochondrial fission, fusion, and stress". *Science*, 337 (2012): 1062-1065.
78. PINTO, M.; PICKRELL, A. M.; MORAES, C. T. "Regional susceptibilities to mitochondrial dysfunctions in the CNS". *Biological Chemistry*, 393 (2012): 275-281.
79. WALKER, L. C.; LeVINE, H. "Corruption and spread of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases". *Journal of Biological Chemistry*, 287 (2012): 33109-33115.
80. ANDREU, C. I. et al. "Protein disulfide isomerases in neurodegeneration: from disease mechanisms to biomedical applications". *FEBS Letters*, 586 (2012): 2826-2834.
81. TUFEKCI, K. U. et al. "Inflammation in Parkinson's disease". *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 88 (2012): 69-132.
82. COELHO, M.; FERREIRA, J. J. "Late-stage Parkinson disease". *Nature Reviews. Neurology*, 8 (2012): 435-42.
83. NAKAMURA, T.; CHO, D. H.; LIPTON, S. A. "Redox regulation of protein misfolding, mitochondrial dysfunction, synaptic damage, and cell death in neurodegenerative diseases". *Experimental Neurology*, 238 (2012): 12-21.
84. EBRAHIMI-FAKHARI, D.; WAHLSTER, L.; McLEAN, P. J. "Protein degradation pathways in Parkinson's disease: curse or blessing". *Acta Neuropathologica*, 124 (2012): 153-72.
85. DUNKEL, P. et al. "Clinical utility of neuroprotective agents in neurodegenerative diseases: current status of drug development for Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's diseases, and amyotrophic lateral sclerosis". *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21 (2012): 1267-308.
86. EXNER, N. et al. "Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: molecular mechanisms and pathophysiological consequences". *EMBO Journal*, 31 (2012): 3038-3062.
87. SUTACHAN, J. J. et al. "Cellular and molecular mechanisms of antioxidants in Parkinson's disease". *Nutritional Neuroscience*, 15 (2012): 120-126.
88. PIMENTEL, C. et al. "Oxidative stress in Alzheimer's and Parkinson's diseases: insights from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012 (2012): 132146.
89. NUNOMURA, A. et al. "Oxidative damage to RNA in aging and neurodegenerative disorders". *Neurotoxicity Research*, 22 (2012): 231-248.

90. SZOT, P. "Common factors among Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and epilepsy: possible role of the noradrenergic nervous system". *Epilepsia*, 53 suplement 1 (2012): 61-66.
91. GREGGIO, E. et al. "Parkinson's disease and immune system: is the culprit LRRK1 in the periphery?". *Journal of Neuroinflammation*, 9 (2012): 9.
92. LEVIN, R. M.; TUCCI, J. R. "Parkinson disease and metabolic bone disorders: a common connection that needs more attention". *Endocrine Practice*, 18 (2012): 591-594.
93. KIM, K. Y.; SACK, M. N. "Parkin in the regulation of fat uptake and mitochondrial biology: emerging links in the pathophysiology of Parkinson's disease". *Current Opinion in Lipidology*, 23 (2012): 201-205.
94. CORREIA, S. C. et al. "Mitochondrial importance in Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's diseases". *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 724 (2012): 205-221.
95. CAUDLE, W. M. et al. "Industrial toxicants and Parkinson's disease". *Neurotoxicology*, 33 (2012): 178-188.
96. GOLDSTEIN, D. S. "Stress, allostatic load, catecholamines, and other neurotransmitters in neurodegenerative diseases". *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32 (2012): 661-666.
97. HOULDEN, H.; SINGLETON, A. B. "The genetics and neuropathology of Parkinson's disease". *Acta Neuropathologica*, 124 (2012): 325-338.
98. BERNAL-PACHECO, O. et al. "Nonmotor manifestations in Parkinson disease". *Neurologist*, 18 (2012): 1-16.
99. BAIER, C. J. et al. "Gestational restraint stress and the developing dopaminergic system: an overview". *Neurotoxicology Research*, 22 (2012): 16-32.
100. MAGRONE, T.; MARZULLI, G.; JIRILLO, E. "Immunopathogenesis of neurodegenerative diseases: current therapeutic models of neuroprotection with special reference to natural products". *Current Pharmaceutical Design*, 18 (2012): 34-42.
101. SAIKI, S.; SATO, S.; HATTORI, N. "Molecular pathogenesis of Parkinson's disease: update". *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 83 (2012): 430-436.
102. DERKINDEREN, P. et al. "Parkinson disease: the enteric nervous system spills its guts". *Neurology*, 77 (2011): 1761-1767.
103. KUMAR, K. R.; LOHMANN, K.; KLEIN, C. "Genetics of Parkinson disease and other movement disorders". *Current Opinion in Neurology*, 25 (2012): 466-474.
104. FERRER, I. et al. "Neurochemistry and the non-motor aspects of PD". *Neurobiology of Disease*, 46 (2012): 508-526.
105. MEZA-SOSA, K. F. et al. "Role of microRNAs in central nervous system development and pathology". *Journal of Neuroscience Research*, 90 (2012): 1-12.
106. COSKUN, P. et al. "A mitochondrial etiology of Alzheimer and Parkinson disease". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820 (2012): 553-564.
107. ORSUCCI, D. et al. "Targeting mitochondrial dysfunction and neurodegeneration by means of coenzyme Q10 and its analogues". *Current Medicinal Chemistry*, 18 (2011): 4053-4064.

108. ZHANG, H.; WU, L. M.; WU, J. "Cross-talk between apolipoprotein E and cytokines". *Mediators of Inflammation*, 2011 (2011): 949072.
109. GRAMMAS, P.; MARTINEZ, J.; MILLER, B. "Cerebral microvascular endothelium and the pathogenesis of neurodegenerative diseases". *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13 (2011): e19.
110. UCHIHARA, T. "Expanding morphological dimensions in neuropathology, from sequence biology to pathological sequences and clinical consequences". *Neuropathology*, 31 (2011): 201-207.
111. GOLDSTEIN, D. S. "Stress, allostatic load, catecholamines, and other neurotransmitters in neurodegenerative diseases". *Endocrine Regulations*, 45 (2011): 91-98.
112. GOLDSTEIN, D. S.; SEWELL, L.; SHARABI, Y. "Autonomic dysfunction in PD: a window to early detection?". *Journal of Neurological Science*, 310 (2011): 118-122.
113. GAO, X.; NING, Y. "Cancer and Parkinson's disease: the odd couple". *Drugs Today*, 47 (2011): 215-222.
114. KLEIN, C. et al. "Translational research in neurology and neuroscience 2011: movement disorders". *Archives of Neurology*, 68 (2011): 709-716.
115. WU, Y.; LE, W.; JANKOVIC, J. "Preclinical biomarkers of Parkinson disease". *Archives of Neurology*, 68 (2011): 22-30.
116. GILLE, G.; REICHMANN, H. "Iron-dependent functions of mitochondria-relation to neurodegeneration". *Journal of Neuronal Transmission*, 118 (2011): 349-359.
117. MORLEY, J. F.; HURTIG, H. I. "Current understanding and management of Parkinson disease: five new things". *Neurology*, 75 suplement 1 (2010): S9-15.
118. HARDY, J. "Genetic analysis of pathways to Parkinson disease". *Neuron*, 68 (2010): 201-206.
119. BEKRIS, L. M.; MATA, I. F.; ZABETIAN, C. P. "The genetics of Parkinson disease". *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23 (2010): 228-242.
120. JAIN, S. "Multi-organ autonomic dysfunction in Parkinson disease". *Parkinsonism & Related Disorders*, 17 (2011): 77-83.
121. KANKI, T.; KLIONSKY, D. J. "The molecular mechanism of mitochondria autophagy in yeast". *Molecular Microbiology*, 75 (2010): 795-800.
122. KERR, D. S. "Treatment of mitochondrial electron transport chain disorders: a review of clinical trials over the past decade". *Molecular Genetics and Metabolism*, 99 (2010): 246-255.
123. BOHNEN, N. I.; ALBIN, R. L. "The cholinergic system and Parkinson disease". *Behavioural Brain Research*, 221 (2011): 564-573.
124. SU, B. et al. "Abnormal mitochondrial dynamics and neurodegenerative diseases". *Biochimistry et Biophysics Acta*, 1802 (2010): 135-142.
125. AARSLAND, D.; KURZ, M. W. "The epidemiology of dementia associated with Parkinson disease". *Journal of Neurological Sciences*, 289 (2010): 18-22.
126. AL-CHALABI, A. et al. "The genetics and neuropathology of amyotrophic lateral sclerosis". *Acta Neuropathologica*, 124 (2012): 339-352.

127. RODRIGES, M. C. et al. "Neurovascular aspects of amyotrophic lateral sclerosis". *International Review of Neurobiology*, 102 (2012): 91-106.
128. KANOUCHI, T.; OHKUBO, T.; YOKOTA, T. "Can regional spreading of amyotrophic lateral sclerosis motor symptoms be explained by prion-like propagation?". *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 83 (2012): 739-745.
129. MARTIN, L. J. "Biology of mitochondria in neurodegenerative diseases". *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107 (2012): 355-415.
130. REDLER, R. L.; DOKHOLYAN, N. V. "The complex molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS)". *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 107 (2012): 215-262.
131. KING, O. D.; GITLER, A. D.; SHORTER, J. "The tip of the iceberg: RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease". *Brain Research*, 1462 (2012): 61-80.
132. POLYMENIDOU, M. et al. "Misregulated RNA processing in amyotrophic lateral sclerosis". *Brain Research*, 1462 (2012): 3-15.
133. TARASIUK, J. et al. "CSF markers in amyotrophic lateral sclerosis". *Journal of Neural Transmission*, 119 (2012): 747-757.
136. LEZI, E.; SWERDLOW R. H. "Mitochondria in neurodegeneration". *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 942 (2012): 269-286.
137. SORENSON, E. J. "The electrophysiology of the motor neuron diseases". *Neurologic Clinics*, 30 (2012): 605-620.
138. PATANI, R. "Using human pluripotent stem cells to study post-transcriptional mechanisms of neurodegenerative diseases". *Brain Research*, 1462 (2012): 129-138.
139. LILL, C. M.; BERTRAM, L. "Towards unveiling the genetics of neurodegenerative diseases". *Seminar in Neurology*, 31 (2011): 531-541.
140. SON, J. H. et al. "Neuronal autophagy and neurodegenerative diseases". *Experimental & Molecular Medicine*, 44 (2012): 89-98.
141. TANAKA, F. et al. "Neuropathology and omics in motor neuron diseases". *Neuropathology*, 32 (2012): 458-462.
142. CHEN, S.; ZHANG, X.; SONG, L.; LE, W. "Autophagy dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis". *Brain Pathology*, 22 (2012): 110-116.
143. KARBOWSKI, M.; NEUTZNER, A. "Neurodegeneration as a consequence of failed mitochondrial maintenance". *Acta Neuropathologica*, 123 (2012): 157-171.
145. COPPEDÈ, F. "An overview of DNA repair in amyotrophic lateral sclerosis". *Scientific World Journal*, 11 (2011): 1679-1291.
146. MARTIN, L. J. "Mitochondrial pathobiology in ALS". *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 43 (2011): 569-579.
147. FERRAIUOLO, L. et al. "Molecular pathways of motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis". *Nature Reviews. Neurology*, 7 (2011): 616-630.
148. BOWMANN, A. B. et al. "Role of manganese in neurodegenerative diseases". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25 (2011): 191-203.

149. CANNON, J. R.; GREENAMYRE, J. T. "The role of environmental exposures in neurodegeneration and neurodegenerative diseases". *Toxicological Sciences*, 124 (2011): 225-250.
150. FECTO, F.; SIDDIQUE, T. "Making connections: pathology and genetics link amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal lobe dementia". *Journal of Molecular Neuroscience*, 45 (2011): 663-675.
151. BOSCO, D. A. et al. "Proteostasis and movement disorders: Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis". *Cold Spring Harbord Perspectives in Biology*, 3 (2011): a007500.
152. APPEL, S. H. et al. "The microglial-motoneuron dialogue in ALS". *Acta Myologica*, 30 (2011): 4-8.
153. WALKER, A. K.; ATKIN, J. D. "Stress signaling from the endoplasmic reticulum: A central player in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis". *IUBMB Life*, 63 (2011): 754-763.
154. COZZOLINO, M.; CARRÌ, M. T. "Mitochondrial dysfunction in ALS". *Progress in Neurobiology*, 97 (2012): 54-66.
155. DA CRUZ, S.; CLEVELAND, D. W. "Understanding the role of TDP-43 and FUS/TLS in ALS and beyond". *Current Opinion in Neurobiology*, 21 (2011): 904-919.
156. GARBUZOVA-DAVIS, S. et al. "Amyotrophic lateral sclerosis: a neurovascular disease". *Brain Research*, 1398 (2011): 113-125.
157. FILOSTO, M. et al. "The role of mitochondria in neurodegenerative diseases". *Journal of Neurology*, 258 (2011): 1763-1774.
158. NAEEM, A.; FAZILI, N. A. "Defective protein folding and aggregation as the basis of neurodegenerative diseases: the darker aspect of proteins". *Cell Biochemistry and Biophysics*, 61 (2011): 237-250.
159. JEPPESEN, D. K.; BOHR, V. A.; STEVENSNER, T. "DNA repair deficiency in neurodegeneration". *Progress in Neurobiology*, 94 (2011): 166-200.
160. COLOMBRITA, C. et al. "RNA-binding proteins and RNA metabolism: a new scenario in the pathogenesis of Amyotrophic lateral sclerosis". *Archives Italiennes de Biologie*, 149 (2011): 83-99.
161. TICOZZI, N. et al. "Genetics of familial Amyotrophic lateral sclerosis". *Archives Italiennes de Biologie*, 149 (2011): 65-82.
162. McCOMBE, P. A.; HENDERSON, R. D. "The role of immune and inflammatory mechanisms in ALS". *Current Molecular Medicine*, 11 (2011): 246-254.
163. PHILIPS, T.; ROBBERECHT, W. "Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease". *Lancet Neurology*, 10 (2011): 253-263.
164. CAVALLUCCI, V.; D'AMELIO, M. "Matter of life and death: the pharmacological approaches targeting apoptosis in brain diseases". *Current Pharmaceutical Design*, 17 (2011): 215-229.
164. MACCARRONE, M. et al. "Cannabinoid receptor signaling in neurodegenerative diseases: a potential role for membrane fluidity disturbance". *British Journal of Pharmacology*, 163 (2011): 1379-1390.
165. COLEMAN, M. "Molecular signaling how do axons die?". *Advances in Genetics*, 73 (2011): 185-217.

166. KIERNAN, M. C. "Amyotrophic lateral sclerosis". *The Lancet*, 377 (2011): 942-955.
167. GORDON, P. H. "Amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiology, diagnosis and management". *CNS Drugs*, 25 (2011): 1-15.
168. DUPUIS, L. et al. "Energy metabolism in amyotrophic lateral sclerosis". *Lancet Neurology*, 10 (2011): 75-82.
169. BANERJEE, R.; BEAL, M. F.; THOMAS, B. "Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic implications". *Trends in Neurosciences*, 33 (2010): 541-549.
170. VARGAS, M. R.; JOHNSON, J. A. "Astrogliosis in amyotrophic lateral sclerosis: role and therapeutical potential of astrocytes". *Neurotherapeutics*, 7 (2010): 471-481.
171. RODOLFO, C. et al. "Proteomic analysis of mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases". *Expert Review of Proteomic*, 7 (2010): 519-542.
172. BENTO-ABREU, A. et al. "The neurobiology of amyotrophic lateral sclerosis". *Europeans Journal of Neuroscience*, 31 (2010): 2247-2265.
173. KAWAMATA, H.; MANFREDI, G. "Mitochondrial dysfunction and intracellular calcium dysregulation in ALS". *Mechanisms of Aging and Development*, 131 (2010): 517-526.
174. VAN BLITTERSWIJK, M.; LANDERS, J. E. "RNA processing pathways in amyotrophic lateral sclerosis". *Neurogenetics*, 11 (2010): 275-290.
175. GLASS, C. K. et al. "Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration". *Cell*, 140 (2010): 918-934.
176. HUANG, Q.; FIQUEIREDO-PEREIRA, M. E. "Ubiquitin/proteasome pathway impairment in neurodegeneration: therapeutic implications". *Apoptosis*, 15 (2010): 1292-1311.
177. SHI, P. et al. "Mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1802 (2010): 45-51.
178. ROMI, F.; HELGELAND, G.; GILHUS, N. E. "Heat-shock proteins in clinical neurology". *European Neurology*, 66 (2011): 65-69.
179. REUSSEL, B. D. et al. "Endoplasmic reticulum dysfunction in neurological disease". *Lancet Neurology*, 12 (2013): 105-118.
180. WOJTERA, M. et al. "Expression of immunohistochemical markers on microglia in Creutzfeldt-Jakob disease and Alzheimer's disease: morphometric study and review of the literature". *Folia Neuropathologica*, 50 (2012): 74-84.
181. SKAPER, S. D. "Ion channels on microglia: therapeutic targets for neuroprotection". *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 10 (2011): 44-56.
182. LAU, A.; TYMIANSKI, M. "Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration". *Pflügers Archiv*, 460 (2010): 525-542.
183. LEONI, V.; CACCIA, C. "Oxysterols as biomarkers in neurodegenerative diseases". *Chemistry and Physics of Lipids*, 164 (2011): 515-524.
184. SUKHANOVA, A. et al. "Implications of protein structure instability: from physiological to pathological secondary structure". *Biopolymers*, 97 (2012): 577-588.

185. GOLDSBURY, C. et al. "Amyloid structure and assembly: insights from scanning transmission electron microscopy". *Journal of Structural Biology*, 173 (2011): 1-13.

Referències de l'estudi del procés de neurodegeneració:

1. R DEVELOPMENT CORE TEAM. "R: A language and environment for statistical computing". Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org> (2010).
2. GÁBOR CSÁRDI, TAMÁS NEPUSZ. "The igraph software package for complex network research". *InterJournal Complex Systems*, 1695 (2006).
3. HANBO CHEN AND PAUL C. BOUTROS. "VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R". *BMC Bioinformatics*, 12 (2011): 35.
4. GANDHI, S.; ABRAMOV, A. Y. "Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012 (2012): 428010.
5. PIMENTEL, C. et al. "Oxidative stress in Alzheimer's and Parkinson's Diseases: Insights from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012 (2012): 132146.
6. RAY, P. D.; HUANG, B. W.; TSUJI, Y. "Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling". *Cell Signaling*, 24 (2012): 981-990.
7. LINDER, M. C.; HAZEGH AZAM, M. "Copper biochemistry and molecular biology". (1996).
8. HARRIS E. D. "Cellular copper transport and metabolism". (2000).
9. Zinc Homeostasis in human.
10. Mammalian zinc transporters.
11. BOWMAN, A. B. et al. "Role of manganese in neurodegenerative diseases". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25 (2011): 191-203.
12. AAGETT, P. J. "An overview of the metabolism of copper". (1999).
13. FOSMIC, G. J. "Zinc toxicity". *American Journal of Clinical Nutrition*, 51 (1990): 225-7.
14. BOUCHARD. et al. "Intellectual impairment in School-Age Children". *Environmental Health Perspectives*, 119 (2010): 138-143.
15. TAINER, J. A., GETZOFF, E. D., RICHARDSON, J. S., RICHARDSON, D. C. "Structure and mechanism of copper zinc superoxide dismutase". *Nature*, 302 (1983): 284-7.
16. BORGSTAHL G. E., PARGE H. E., HICKEY M. J., BEYER W. F., HALLEWELL R. A., TAINER J. A. "The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles". *Cell*, 71 (1992): 107-18.
17. MACMILLAN-CROW L. A., THOMPSON J. A. "Tyrosine modifications and inactivation of active site manganese superoxide dismutase mutant (Y34F) by peroxynitrite". *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 366 (1999): 82-88.
18. Role of manganese in neurodegenerative diseases.

19. "Metals, toxicity and oxidative stress".
20. "Toxic metals and oxidative stress. Part I".
21. "Oxidative stress in the brain. Novel cellular targets that govern survival".
22. YOULE, R. J.; VAN DER BLIEK A. "Mitochondrial fission, fusion and stress". *Science*, 337 (2012): 1062-1065.
23. SU, B. et al. "Abnormal mitochondrial dynamics and neurodegenerative diseases". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1802 (2010): 135-142.
24. REYNOLDS I. J., MALAIYANDI L. M., COASH M., RINTOUL G. L. "Mitochondria trafficking in neurons: a key variable in neurodegeneration?".
25. Abnormal mitochondrial dynamics and neurodegenerative diseases.
26. WANG X., SU B., LEE H. G., LI X., PERRY G., SMITH M. A., ZHU X. "Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease".
27. LI Z., OKAMOTO K., HAYASHI Y., SHENG M., "The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses".
28. FRANK S., GAUME B., BERGMANN-LEITNER E. S., LEITNER W. W., ROBERT E. G., CATEZ F., SMITH C. L., YOULE R. J. "The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission in apoptosis".
29. KARBOWSKY M., ARNOULT D., CHEN H., CHAN D. C., SMITH C. L., YOULE R. J. "Quantitation of mitochondrial dynamics by photolabeling of individual organelles shows that mitochondrial fusion is blocked during the Bax activation phase of apoptosis".
30. WASIAK S., ZUNIO R., MCBRIDE H. M. "Bax/Bak promote sumoylation of DRP1 and its stable association with mitochondria during apoptotic cell death".
31. ANTONSSON B., CONTI F., CIAVATTA A., MONTESSUIT S., LEWIS S., MARTINOU I. "Inhibition of bax channel-forming activity by bcl-2". *Science* 277 (1997): 370 – 372.
32. LI P., NIJHAWAN D., BUDIHARDJO I., SRINIVASULA S. M., AHMAD M., ALNEMRI E. S., et al. "Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade". *Cell*, 91(1997): 479-89.
33. SUZUKI Y., IMAI Y., NAKAYAMA H., TAKAHASHI K., TAKIO K., TAKAHASHI R. "A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death".
34. LI H., ZHU H., XU C-J., YUAN J. "Cleavage of Bid by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis". *Cell*, 94 (1998): 491-501.
35. KLEIN J. A., LONGO-GUESS C. M., ROSSMANN M. P., SEBURN R. E., HURD R. E., FRANKEL W. N. "The harlequin mouse mutation downregulates apoptosis-inducing factor". *Nature*, 419(2002): 367 – 74.
36. CROMPTON M. "The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death".
37. TRUMP B. J., GOLDBLATT P. J., STOWELL R. E. "Studies on necrosis of mouse liver in vitro. Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal cells".
38. "Biology of mitochondria in neurodegenerative diseases".

39. SIESJO B. "Brain energy metabolism". New York; Willey. 1978.
40. Voet. *Bioquímica*. 2a edició. Editorial Medica Panamericana.
41. KRUMAN I. I., PEDERSEN W.A., SPRINGER J. E., MATTSON M. P. "ALS-linked Cu/Zn-SOD mutation increases vulnerability of motor neurons to excitotoxicity by a mechanism involving increased oxidative stress and perturbed calcium homeostasis".
42. KIM H. J., KIM S. H., SUNG J. J., LEE K. W. "Alteration in intracellular calcium homeostasis reduces motor neuronal viability expressing mutated Cu/Zn superoxide dismutase through a nitric oxide/guanylyl cyclase cGMP cascade". *Neuroreport*, 13 (2002): 1131-1135.
43. CLAPHAM D. E. "Calcium signaling". *Cell*, 80 (1995): 259-268.
44. CHINOPOULOS C., STARKOV A. A., FISKUM G. "Cyclosporin A-insensitive permeability transition in brain mitochondria: inhibition by 2-aminoethoxydiphenyl borate".
45. YI M., WEAVER D., HAJNOCZKY G. "Control of mitochondrial motility and distribution by the calcium signal: a homeostatic circuit".
46. HUNTER D. R., HAWORTH R. A. "The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. The protective mechanisms".
47. LIN M. T., BEAL M. F. "Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases". *Nature*, 443(2006): 787-795.
48. KIRKINEZOS I. G., BACMAN S. R., HERNANDEZ D., OCA-COSSIO J., ARIAS L. J., PEREZ-PINZON M. A., BRADLEY W. G., MORAES C. T. "Cytochrome c association with the inner mitochondrial membrane is impaired in the CNS of G93A-SOD1 mice".
49. BAKER M. J., TATSUTA T., LANGER T. "Quality control of mitochondrial proteostasis". *CSH Perspectives in Biology*, 3 (2011): a007559.
50. TANAKA T., CLELAND M. M., XU S., NARENDRA D. P., SUEN D., KARBOWSKI M., YOULE R. J. "Proteasome and p97 mediate mitophagy and degradation of mitofusins induced by Parkin". *Journal of Cell Biology*, 191 (2012): 1367.
51. HOPPINS S., LACKNER L., NUNNARI J. "Bcl-2 family interaction with the mitochondrial morphogenesis machinery". *Annu. Rev. Biochemistry*, 76 (2007): 751.
52. NAKADA K., SATO A. "Deletion-mutant mtDNA increases in somatic tissues but decreases in female germ cells with age".
53. TWIG G., ELORZA A. "Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy". *The EMBO Journal*, 27 (2008): 433.
54. NARENDRA D., TANAKA A., SUEN D. F., YOULE R. J. "Autophagy and skeletal muscles in sepsis".
55. BERRIDGE M. J. "Neuronal calcium signaling". *Neuron*, 21 (1998): 13-16.
56. SUPNET C., BEZPROZVANNY I. "The dysregulation of intracellular calcium in Alzheimer disease". *Cell Calcium*, 47 (2010): 183-189.
57. VERKHRATSKY A., MATTSON M. P., TOESCU E. C., "Aging in the mind".
58. HAJNOCZKY G., CSORDAS G., YI M. "Old players in a new role: mitochondria-associated membranes, VDAC, and ryanodine receptors as contributors to calcium signal propagation from endoplasmic reticulum to the mitochondria". *Cell calcium*, 32 (2002): 363-77.

59. TOESCU E. C., VERKHRATSKY A. "The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging". *Aging Cell*, 6 (2007): 267-73.
60. GIACOMELLO M., BARBIERO L., ZATTI G., SQUITTI G., POZZAN T., FASOLATO C., GHIDONI R., PIZZO P. "Reduction of Ca²⁺ stores and capacitative Ca²⁺ entry is associated with the familial Alzheimer's disease presenilin-2 T122R mutation and anticipates the onset of dementia".
61. TU H., NELSON O., BEZPROZVANNY A., WANG Z., LEE S-F., HAO Y. H., SERNEELS L., DE STROOPER B., YU G., BEZPROZVANNY I. "Presenilins form ER calcium leak channels, a function disrupted by mutations linked to familial Alzheimer's disease". *Cell*, 126(2006): 981-993.
62. KUCHIBHOTLA K. V., GOLDMAN S. T., LATTARULO C. R., WU H. Y., HYMAN B. T., BACSKAI B. J. "Abeta plaques lead to aberrant regulation of calcium homeostasis in vivo resulting in structural and functional disruption of neuronal networks".
63. KUMAR A., FOSTER T. C. "Enhanced long-term potentiation during aging is masked by processes involving intracellular calcium stores". *Journal of Neurophysiology*, 91 (2004): 2437-44.
64. VOSLER P. S., BRENNAN C. S., CHEN J. "Calpain-mediated signaling mechanisms in neuronal injury and neurodegeneration". *Molecular Neurobiology*, 38 (2008): 78-100.
65. BERNARDI P., KRAUSKOPF A., BASSO E., PETRONILLI V., BLACHLY-DYSON E., DI LISA F., FORTE M. A. "The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target".
66. MAURER I., ZIERZ S., MOLLER H. J. "A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer disease patients".
67. DEMURO A., PARKER I., STUTZMANN G. E. "Calcium signaling and amyloid toxicity in Alzheimer disease". *The Journal of Biological Chemistry*, 285 (2010): 12463-12468.
68. GRAMMAS P., MARTINEZ J., MILLER B. "Cerebral microvascular endothelium and the pathogenesis of neurodegenerative diseases". *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13 (2011): e19.
69. FÖRSTER C. "Tight junctions and the modulation of barrier function in disease". *Histochemistry and Cell Biology*, 130 (2008): 55-70.
70. ARHART R. W. "A possible hemodynamic mechanism for amyotrophic lateral sclerosis". *Medical Hypotheses*, 75 (2010): 341-346.
71. KALARIA R. N., HARIK S. I. "Reduced glucose transporter at the blood-brain barrier in cerebral cortex in Alzheimer disease". *Journal of Neurochemistry*, 53 (1989): 1083.
72. KORTEKAAS R. et al. "Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo". *Annals of Neurology*, 57 (2005): 176-179.
73. OLDENDORF W. H., CORNFORD M. E., BROWN W. J. "The apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat". *Annals of Neurology*, 1 (1977): 409-417.
74. MÜLLER W. E. et al. "Mitochondrial dysfunction: Common final pathway in brain aging and Alzheimer's disease-Therapeutic aspects". *Molecular Neurobiology* 41 (2010): 159-171.
75. PU P. B., LU J., MOOCHHALA S. "Involvement of ROS in BBB dysfunction". *Free Radical Research* 43 (2009): 348-364.

76. HAMDHEYDARI L. et al. "Oxidized LDLs affect nitric oxide and radical generation in brain endothelial cells". *Biochemical Biophysical Research Communications*, 311 (2003): 486-490.
77. CHANG H. C. et al. "Resveratrol attenuates oxidized LDL-evoked Lox-1 signaling and consequently protects against apoptotic insults to cerebrovascular endothelial cells". *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 3 (2010): 842-854.
78. GRAMMAS P. "A damaged microcirculation contributes to neuronal cell death in Alzheimer's disease". *Neurobiology and Aging*, 21 (2000): 199-205.
79. ZLOKOVIC B. V. "The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders". *Neuron*, 57 (2008): 178-201.
80. LOK J. et al. "Cell-cell signaling in the neurovascular unit". *Neurochemical Research*, 32 (2007): 2032-2045.
81. HUANG C. et al. "JAK2-STAT3 signaling pathway mediates thrombin-induced proinflammatory actions of microglia in vitro". *Journal of Neuroimmunology*, 204 (2008): 118-125.
82. ROSENBERG G. A. "Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases". *Lancet Neurology*, 8 (2009): 205-216.
83. BUGNO M. et al. "Reprogramming of TIMP-1 and TIMP-3 expression profiles in brain microvascular endothelial cells and astrocytes in response to proinflammatory cytokines". *FEBS Journal*, 448 (1999): 9-14.
84. SHEU B. C. et al. "A novel role of metalloproteinase in cancer-mediated immunosuppression". *Cancer Research*, 61 (2001): 237-242.
85. ROSENBERG G. A. "Matrix metalloproteinases and neuroinflammation in multiple sclerosis". *The Neuroscientist*, 8 (2002): 586-595.
86. HUANG W. et al. "PPARalpha and PPARgamma attenuate HIV-induced dysregulation of tight junction proteins by modulation of matrix metalloproteinase and protease activities". *FASEB Journal*, 23 (2009): 1596-1606.
87. RAMIREZ S. H. et al. "Dyad of CD40/CD40 ligand fosters neuroinflammation at the blood-brain barrier and is regulated via JNK signaling: implications for HIV-1 encephalitis". *Journal of Neuroscience*, 30 (2010): 9454-9464.
88. KIYATKIN E. A. "Brain temperature homeostasis: Physiological fluctuations and pathological shifts".
89. BECHTOLD D. A., BROWN I. R. "Induction of Hsp27 and Hsp32 stress proteins and vimentin in glial cells of the rat hippocampus following hyperthermia". *Neurochemical Research*, 28 (2003): 1163-1173.
90. CHONG Z. Z., LI F., MAIESE K. "Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease". *Progress in Neurobiology*, 75(2005): 207-246.
91. LI Z., MENOIRET A., SRIVASTAVA P. "Roles of heat-shock proteins in antigen presentation and cross-presentation". *Current Opinion in Immunology*, 14 (2002): 45-51.
92. ROMI F., HELGELAND G., GILHUS N. E. "Heat-shock proteins in clinical neurology".

93. VERMA R., CHEN S., FELDMAN R., SCHIELTZ D., YATES J., DOHMEN J., DESHAIES R. J. "Proteasomal proteomics: identification of nucleotide-sensitive proteasome-interacting proteins by mass spectrometric analysis of affinity-purified proteasomes".
94. CHEN D., ANDROLEWICZ M. J. "Heat shock protein 70 moderately enhances peptide binding and transport by the transporter associated with antigen processing".
95. ARNOLD D., WAHL C., FAATH S., RAMMENSEE H. G., SCHILD H. "Influences of transporter associated with antigen processing (TAP) on the repertoire of peptides associated with the endoplasmic reticulum-resident stress protein gp96".
96. BASU S., BINDER R. J., RAMALINGAM T., SRIVASTAVA P. K. "CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin". *Immunity*, 14 (2001): 303-313.
97. CASTELLINO F., BOUCHER P. E., EICHELBERG K., MAYHEW M., ROTHMAN J. E., HOUGHTON A. N., GERMAIN R. N. "Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes results in major histocompatibility complex class I antigen presentation via two distinct processing pathways".
98. BASU S., BINDER R. J., SUTO R., ANDERSON K. M., SRIVASTAVA P. K. "Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway".
99. BRELOER M., FLEISCHER B., VON BONIN A. "In vivo and in vitro activation of T cells after administration of Ag-negative heat shock proteins". *Journal of Immunology*, 162(1999): 3141-3147.
100. NIMMERJAHN A., KIRCHHOFF F., HELMCHEN F. "Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo". *Science* 308 (2005): 1314-1318.
101. RANSOHOFF R. M., PERRY V. H. "Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses".
102. BARCLAY A. N., WRIGHT G. J., BROOKE G., BROWN M. H. "CD200 and membrane protein interactions in the control of myeloid cells".
103. LYONS A. et al. "Fractalkine-induced activation of the phosphatidylinositol-3 kinase pathway attenuates microglial activation in vivo and in vitro". *Journal of Neurochemistry*, 110 (2009): 1547-1556.
104. VAN BEEK E. M., COCHRANE F., BARCLAY A. N.; VAN DEN BERG T. K. "Signal regulatory proteins in the immune system". *Journal of Immunology*, 175 (2005): 7781-7787.
105. APPEL S. H., ZHAO W., BEERS D. R., HENKEL J. S. "The microglial-motoneuron dialogue in ALS". *Acta Myologica*, 30 (2011): 4-8.
106. HICKEY W. F., KIMURA H. "Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science*, 239(1998): 290-292.
107. MOSSER D. M., EDWARDS J. P. "Exploring the full spectrum of macrophage activation". *Nature Reviews Immunology*, 8 (2008): 958-969.
108. BIANCHI M. E. "DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger".
109. DAVALOS D. et al. "ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo".
110. AKIYAMA H. et al. "Inflammation and Alzheimer's disease".

111. GLASS C. K., SAIJO K., WINNER B., MARCHETTO M. C., GAGE F. H. "Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration". *Cell*, 140 (2010): 918-934.
112. HUSEMANN J., LOIKE J. D., ANANKOV R., FEBBRAIO M., SILVERSTEIN S. C. "Scavenger receptors in neurobiology and neuropathology: their role on microglia and other cells of the nervous system". *Glia* 40 (2002): 195-205.
113. HENNEKE P., TAKEUCHI O., MALLEY R., LIEN E., INGALLS R. R., FREEMAN M. W., MAYADAS T., NIZET V., AKIRA S., KASPER D. L., GOLENBOCK D. T. "Cellular activation, phagocytosis and bactericidal activity against group B streptococcus involve parallel myeloid differentiation factor 88-dependent and independent signaling pathways". *Journal of Immunology*, 169 (2002): 3970-3977.
114. Saijo K., WINNER B., CARSON C. T., COLLIER J. G., BOYER L., ROSENFELD M. G., GAGE F. H., GLASS C. K. "A Nurr1/CoREST pathway in microglia and astrocytes protects dopaminergic neurons from inflammation-induced death". *Cell*, 137 (2009): 47-59.
115. BROOKMEYER, R.; GRAY, S.; KAWAS, C. "Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public Health Impact of delaying disease onset". *American Journal of Public Health*, 88 (1998): 1337-1342.
116. ANANDATHEERTHAVARADA, H. K. et al. "Mitochondrial targeting and a novel transmembrane arrest of Alzheimer's amyloid precursor protein impairs mitochondrial function in neuronal cells". *Journal of Cell Biology*, 161 (2003): 41-54.
117. DEVI, L. et al. "Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction". *Journal of Neurosciences*, 26 (2006): 9057-9068.
118. LUSTBADER, J. W. et al. "ABAD directly links A β to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease". *Science*, 304 (2004): 448-452.
119. CAUGHEY, B.; LANSBURY, P. T. "Protofibrils, pores, fibril, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders". *Annual Review of Neuroscience*, 26 (2003): 267-298.
120. HSU, L. J. et al. "Alpha-synuclein promotes mitochondrial deficit and oxidative stress". *American Journal of Pathology*, 157 (2000): 401-410.
121. MARONGIU, R. et al. "Mutant Pink1 induces mitochondrial dysfunction in a neuronal cell model of Parkinson's disease by disturbing calcium flux". *Journal of Neurochemistry*, 108 (2009): 1561-1574.
122. FLANAGAN, S. W. et al. "Overexpression of manganese superoxide dismutase". *Journal of Neurochemistry*, 81 (2002): 170-177.
123. SALVETTI, M. et al. "The immune response to mycobacterial 70-kDa heat shock proteins frequently involves autoreactive T cells and is quantitatively dysregulated in multiple sclerosis". *Journal of Neuroimmunology*, 65 (1996): 143-153.
134. JONOVA, K.; VALKO, M. "Advances in metal-induced oxidative stress and human disease". *Toxicology*, 283 (2011): 65-87.