NEUROTRANSMISOREAK ETA ALZHEIMER GAIXOTASUNA

[1]M. ASIER GARRO, [2]BERNARDO GRIJALBA,
[1]FERNANDO BARTUREN, [2]JULIO PASCUAL,
[2]ANGEL PAZOS ETA [1]J. JABIER MEANA.

[1] E.H.U.-ko Farmakologi Saila.
[2] Kantabriako Unibertsitateko Fisiologi eta Farmakologi Saila.

SARRERA

Zahartzaroan gertatu ohi diren dementziak, ahalmen intelektualaren galera aurrerakorra gisa defini ditzakegu. 65 urtetako giza populazioaren artean gaixotasun honen eragina %5ekoa da, 80 urte dutenen artean, aldiz, portzentaia %20ra igotzen delarik. Alzheimer gaixotasunak dementzien %70 suposatzen du. Beste dementzi moten artean; alkohola eta garunean infartu baskularrak eragindako kalteak direla medio, sortutako dementziak ditugu. Alzheimer dementziari (ADri) beste horiek ez bezala, zio organiko argia ez duten dementzia guztiei deritzogu. Gaixotasun honek duen eragin soziala dela kausa, 1970. urtetik hona gai honetan ikerketa kliniko, biokimiko eta genetikoak ugarituz joan dira.

AD pairatzen duten pertsonek, gaixotasunaren hasieran jazo berri diren gertaerak oroitzeko erabateko ezintasuna erakusten dute. Ezagutu berri dituen pertsonen izenak adibidez, ez dituzte oroitzen, orain dela hainbat urte jazo ziren gertakariak oroitzeko berriz, ez dute inolako eragozpenik. Gaixotasuna aurrera doan heinean, hizkuntzari dagozkion nahasketak pairatzen hasten dira, azkenean, gaixotasuna nahiko aurreratua dagoenean, noraez geografikoa eta heuren kabuz etxera bueltatzeko ezintasuna erakusten dute.

Alzheimer dementzia dela erabateko ziurtasunarekin diagnostikatzeko, azterketa anatomopatologikoa egitea ezinbestekoa da. Alois Alzheimerrek AD pairatu zuten pertsonen garunetan plaka neuritikoak eta neurozuntzez osotutako «tangle»-ak (nahaspilak) zeudela ikusi zuen. Plaka neuritikoak, axoien bukaera anormalez eta amiloide kanpozelularrez osotuta daude. Tangle-ak, aldiz, neuronetako gorputz zelularrean dauden filamentu helikoidal bikotez osatuta daude. Ezaugarri mikroskopiko bi hauek dira, pertsona batek benetan Alzheimer dementzia pairatu zuela esango digutenak. Bestalde, plaka eta tangle hauek ez dira AD-arentzako espezifikoak, kolpeak jasandako boxeadoreetan eta Parkinson motako gaixotasuna dutenen batzuren artean ere agertu baitira. Beraz, azterketa anatomopatologikoaz gain, sintoma klinikoak ere beharrezkoak izango dira gaixotasun honen diagnostiko ziurra emateko (1).

Neurotransmisore-Sistemak

Aurrerago aipatu dugunez, gaixotasun honek duen eragin soziala dela eta, ikerketak ugaritu egin dira. Ikerlariek gaixotasun honek eragiten duen zio edo arrazoia aurkituz gero, bere tratamendua edo osabidea posible izango zitekeela pentsatu izan dute. Zio hau bilatu nahian, ikerlariak hasiera-hasieratik oinarrizko ikerketa biokimikoetan murgildu izan dira,

ikerketa hauen fruitu gisa aurkikuntzak ugarituz joan direlarik. Hauetariko garrantzitsuenetariko bat, neurotransmisore-sistema kolinergikoaren aktibitatearen jaitsiera bortitza dugu. Hasieran, eta aurkikuntza honekin batera AD gaixotasunaren tratamendua eta osabidea sistema kolinergikoaren aktibitatearen sustatzearekin bat etorriko zela pentsatu zen (2). Pentsaera hau errealitatetik nahiko urrun zegoela ikusi izan da geroago. Gaur egun, AD gaixotasunean neurotransmisore-sistema asko eraldatuak daudela badakigu, hauetariko garrantzitsuenetariko bat sistema noradrenergikoa dugularik. Edozein modutan, gaur eguneko genetika molekularrak eduki duen aurrerapenarekin batera, Alzheimer dementzia gaixotasunaren arrazoi genetikoa argitu nahian, β-amiloide proteinaren genea, bere erregulazio genetikoa, mutazioak, eta sintetizatu ondoren duen prozesua aztertzen dihardute. Neurozuntzei buruz, eraldatutako lau proteina neuronalez osatuta dagoela dirudi (3,4). Arlo honetan lortutako aurkikuntzek itxaropen handiak sortarazten ari dira. Oinarrizko ikerketak aurrera doazen neurrian AD gaixotasunak sortarazten duen zio biokimiko eta genetikoak hobeki ulertuko ditugulakoan gaude. Honekin batera, etorkizunean gaixotasunaren tratamendua edo atzerapena behintzat eta zergatik ez, baita osabidea ere posible izango direla pentsa genezake.

Sistema kolinergikoa

Dagoeneko, AD gaixotasuna aurrera doan heinean, neurona kolinergikoen galera ematen dela gauza jakina dugu. Nukleo basaletan adibidez, Meynert-en nukleoan zelula-galerak %70 suposatzen du. Neurona- galeraz aparte, badira sistema kolinergikoaren funtzionalitatearen gutxipena adierazten duten beste indize biokimiko ugari ere. Sistema kolinergikoaren neurona presinaptikoen murrizketaren indize gisa, azetilkolina sintetizatzeko ezinbestekoa den kolinazetiltransferasa (KAT) entzima, AD-etako kortex, hipokanpo, amigdala, nukleo septal eta substantia innominatan gutxi gorabehera %50ean gutxitua dagoela frogatu da (2), honela, azetilkolinaren sintesia AD gaixotasunean gutxitua dagoela adieraziz. Azetilkolina deusezten duen azetilkolinesterasa (AKE) entzima ere, era nabarian dago gutxituta . Biopsietatik lortutako garun-zatietan frogatu izan denez azetilkolina neurotransmisorearen sintesia eta askapena gutxituta dagoela ikusi da (2). Indize presinaptiko gisa har daitekeen [^{3}H]-hemikolinioak markatzen duen kolina berzurgatzaile eramalea ere gutxitua dagoela frogatu izan da (5). Hartzaile kolinergikoei buruz gauzak ez daude batere argi oraindik, hartzaile hauek markatzeko dauden arazoek zerikusi handia dute ezjakintasun honetan. Hainbat ikerketei esker hartzaile muskarinikoak AD-an aldatu gabe daudela ikusi izan da. Dena den, aurkitu berri den hartzaile muskarinikoetan dagoen heterogenotasuna dela kausa (M_1, M_2 eta M_3), gauzak ez daude batere argi oraindik. Alde presinaptikoaren erakusgarri izan daitezkeen M_2 hartzaileak gutxituak egon daitezkeela pentsatzen da (6). Amigdala, hipokanpo eta neokortexera doan inerbazio kolinergikoaren defizientziak AD-an jokabide eta memorian sortarazten diren aldaketei eta anormalitate kognitiboei erantzun zientifikoa eman diezaioke. Horren kariaz, sintoma hauen tratamendu modura farmako kolinergikoen erabilera hedatu da (7). Farmako antikolinergikoak memoriaren gutxipena ekartzen dutela, aspaldidanik gauza jakina dugu. Beraz, teorikoki behintzat, sistema kolinergikoaren gutxipena dagoen AD gaixotasunean farmako kolinergikoez osaturiko tratamendua ematea logikoa litzateke.

Sistema noradrenergikoa

Sistema kolinergikoa AD-an eraginda dagoen sistema garrantzitsuena baldin bada, AD-an eraginda dauden beste sistema asko ere, badaude. Hauen artean sistema noradrenergikoa dugu.

AD gaixotasunean noradrenalina eta bere sintesian parte hartzen duen dopamina-β-hidroxilasa entzimaren galera frogatu da. Bestalde, garuneko neurona noradrenergikoetatik % 90 dituen locus coeruleus-ean zelula-galera nabaria eta «tangle»-ak ere aurkitu dira. Biopsietatik ateratako garun-zatietan ikusi izan denez, neurona noradrenergikoak noradrenalinaren birzurgapena murriztuta dutela frogatu da (2). Sistema noradrenergikoan kolinergikoan ez bezala, hipotalamoa dugu garuneko eremu afektatuena. Garuneko eremuei dagokionez, sistema noradrenergikoaren defizita, kolinergikoak duenarekin ez dator bat. Hartzaileei buruz, aldiz, adrenozeptore postsinaptikoak AD-an normal daudela ikusi izan da. Kortex eta hipokanpora locus coeruleus-ean jatorria duten proiekzioetan dauden aldaketak AD-an zenbait funtzio kognitiboren aldaketetan lagundu dezaketela pentsatzen da (8).

Sistema serotoninergikoa

AD gaixoetako raphe nukleoan dagoen zelula-galera eta nukleo honetan agertzen diren tangle-ak, AD-an sistema serotoninergikoa gutxitua dagoeneko hipotesia egiaztatzen dutela dirudi. Zelula-galera hau aurreko bi sistematan bezain garrantzitsua ez izatearen arrazoia, sistema honek egitura sakabanatuagoa edukitzeagatik izan daiteke, sistema honetako beste osagai batzuk oso kaltetuak izatea posible baita. Hipotesi honen alde datozen datuen artean: serotonina eta bere metabolitoen kontzentrazioak eta [^{3}H]-imipraminaren bidez neurtutako serotoninarentzako birzurgapen lekuak gutxituak egotea aipa ditzakegu (2).

Sistema dopaminergikoa

AD-an sistema dopaminergikoaren eraldaketarik dagoela esatea, ez da sistema kolinergiko edo noradrenergikoarekin konparatuta bezain zehatza. Bestalde, (eta zenbait kasutan) egon badago sistema dopaminergikoa gaixotasunarekin lotuta dagoenaren frogarik. AD-an striatum-ean ikusten den dopamina-galera, sistema kolinergikoaren lehenbiziko zelula-galeraren bidez azal daiteke. Substantia nigra-n tangle-en agerpen urria dela bide, sistema dopaminergikoan egon litezkeen aldaketak Parkisonean ez bezala, bigarren gertakizun modura ulertzearen alde dator, AD-an sistema honek duen garrantzia gutxiagotuz (2,9).

Beste sistemak

Alzheimer gaixotasunean badira aldatuta dauden beste zenbait sistema ere. Garrantzitsuenak aipatzearren hona hemen horietariko batzuk: Somatostatina peptidoaren kontzentrazioak gutxituak daude, gaixotasunaren larritasunarekin ondo korrelazionatzen duelarik. KFA-aren (kortikotropinaren faktore askatzailea) kontzentrazio urriagoak daude, P substantziaren maila ere oso gutxitua dago (2,10).

«POST-MORTEM» GIZA GARUNETAN HARTZAILEAK NEURTZEKO TEKNIKAK

β-amiloide proteinari buruz egin diren ikerketetan aditzera ematen denez, proteina honen eraginez neuronak endakatzen direla argi dago. Hasieran, β-amiloide proteinek plaka barreiatu preamiloideoak sortarazten dituzte. Denbora aurrera doan neurrian plaka preamiloideo hauek plaka neuritiko bihurtuko dira, alboetan dauden zelulak endakaraziz

(4,11). Neurona hauen endakapenak neurotransmisore-sistemen aldaketak ekarriko ditu. Alzheimer gaixotasunaren tratamendu sintomatikoa posible izateko, sistema hauen egoera zein den (hartzaileak, indize pre eta postsinaptikoak, etab...) jakitea funtsezkoa da. Honela, oinarrizko ikerkuntzak hartzaile horien egoera ikertzera jo du. Ikerkuntza-lanetan ziharduen jendeak hasieran bere buruari honelako galderak egin zizkion; posible izango ote zen hildako pertsonen garunetan hartzaileak neurtzea eta euren egoera ikertzea? Patologia desberdinetan hartzaileak eraldatuak egongo ote dira?. Gaur egun, ikerkuntzak eduki duen aurrerapena dela medio, galdera hauei erantzutea ez da zientzia fikziozko gauza. Hartzaileak neurtzeko eta euren egoera aztertzeko, ikerlariek bi teknika erabiltzen dituzte: «Binding» (erradioligandoen bidezko finkapena) (12) (Ikusi 1. irudia) eta autorradiografia (13) (Ikusi 2. irudia). Lehenengoan garuneko eremuen homogeneizatuak erabiltzen dira. Azken hauek hartzaile espezifiko batekiko afinitate altua duen ligando erradioaktiboarekin inkubatuz gero, finkapen espezifikoa lortuko da. Finkapen espezifiko horren analisia eginez hartzaileen kopurua eta ligandoarekiko duen afinitatea neur daiteke (12,13). Autorradiografian, aldiz, homogeneizatuen ordez garunean ebakitako zeharkako plakak erabiltzen dira, banaketa anatomikoa oso ondo gordetzen duelarik. Plaka hauek ligando erradioaktibo espezifikoekin inkubatu egiten dira, eta erradioaktibitateak pelikula fotografikoak errebelatzen dituenez, azkenean garuneko plaka horren argazkia lortuko dugu, ligando erradioaktibo gehien zegoen lekuan irudia ilunago agertuko delarik. Ordenagailuen bidezko irudien analisia eginez gero, eremu anatomiko desberdinetan dagoen hartzaile-kopurua jakin dezakegu (13).

α_2 Adrenozeptorearekin egindako ikerketak

Neurotransmisore, metabolito eta erlazionaturiko entzimen kontzentrazioen neurketetan ikusi izan diren ezadostasunak, farmakoen behin-behineko efektu, postmortem tarte, tenperatura eta garunean dagoen banaketa ezberdinarekin erlaziona daitezke. Hartzaileekin egin diren neurketak, aldiz, fidagarriagotzat jo ditzakegu, aldaketa bortitzen aurrean askoz ere erresistenteagoak baitira. Alzheimer gaixotasunean konkretuki nukleo basal desberdinetatik garuneko hainbat lekutara bidaltzen diren proiekzioen endakapena dela medio, eremu horietako bukaera presinaptikoetan dauden hartzaileak neurtzea oso interesgarria da, sistema desberdinen endakapenaren egoera argituko baitigu. Sistema noradrenergikoan noradrenalinaren askapena erregulatzen duen hartzailea α_2 adrenozeptorea da. Hau dela eta, hartzaile honek kokapen presinaptikoa duela dirudi. Era berean, emaitza onik eman ez arren, farmako adrenergikoekin (klonidina eta guanfazina α_2-arentzako farmako agonistak) egindako saio klinikoak badira (14,15). Honela, α_2 adrenozeptore honen ikerketa biokimikoa egitea interesgarria izango litzatekeela pentsatu genuen. Gure ikerketa taldeak eginiko ikerketak diotenez; α_2 adrenozeptorea AD-an inerbazio noradrenergikoak jasotzen duten eremuak diren kortex, hipotalamo eta zerebeloan, %33-%52rako gutxituta dagoela frogatu dugu (Ikusi 3. Irudia). Noradrenalina transmisorearen kontzentrazioa ere, garuneko eremu hauetan gutxitua dagoela frogatu dugu (16). Horrela, α_2 hartzaile presinaptikoak gutxituak daudela esan genezake. Autorradiografiaz eginiko ikerketetan ere, α_2-aren dentsitatea gutxitua dagoela frogatu izan dugu (17) (Ikusi 4. irudia). Ikerketa hauek egiterakoan garrantzitsua dugu oso, konparatuko ditugun kontrolak ondo zehaztea α_2 adrenozeptorea adinarekin jaitsi egiten dela frogatu izan baitugu (Ikusi 5. irudia). Honela, AD-etan lortutako datuak adin berbera duten garun kontrolekin konparatu beharko ditugu. Bestela, lortutako aldaketak artefaktualak izatea posible baita.

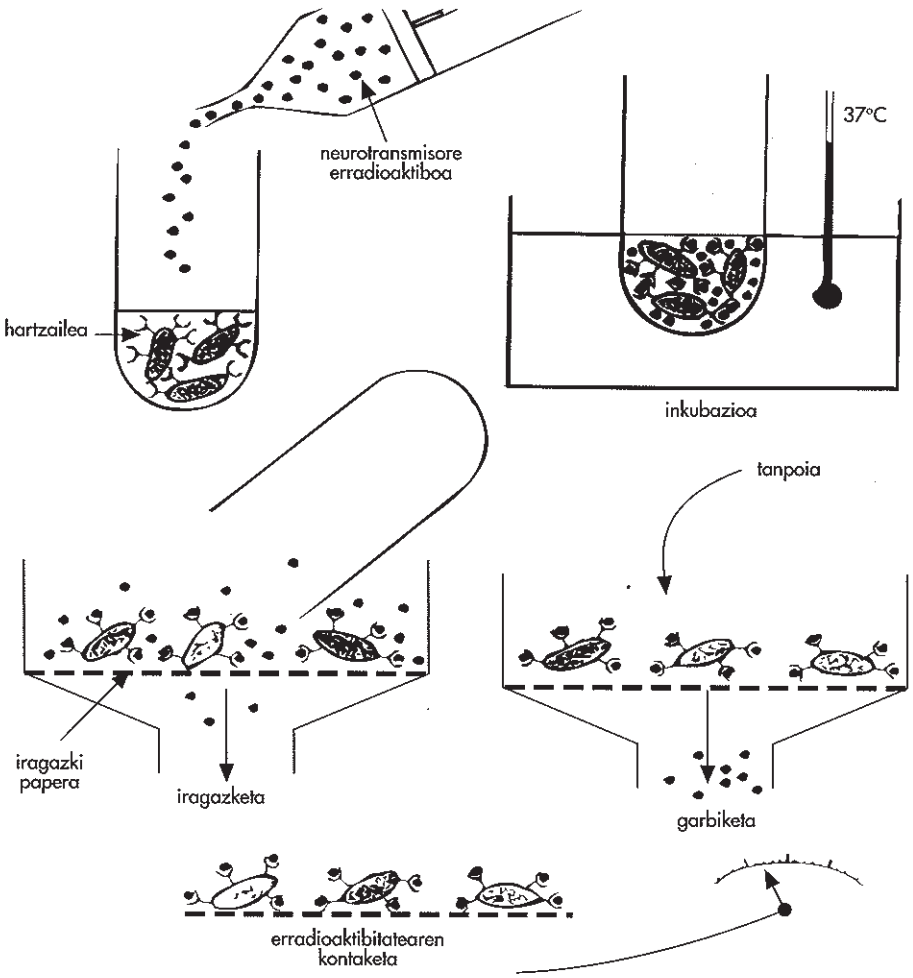
Ikerketa hor
eza ondoriozta de
egitearen eta neuro
gauza dela adie
sintomatologikoa
oinarrizko ikerla
tratamendu sinto

ERR

1. Irudia
"Erradioligandoen b
afinitatea neurtzeko
lortzeko asmoz denb
egiten da, soberan d
berezia den aparailu

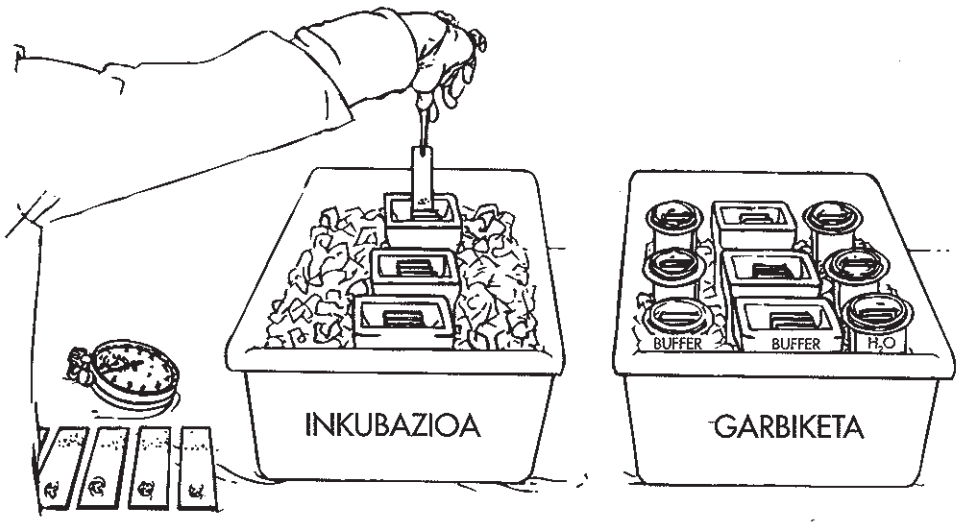
Ikerketa honen bidez, farmako adrenergikoekin egindako saio kliniko horien baliorik eza ondoriozta dezakegu. Saio klinikoak egin baino lehen, azterketa biokimiko sakona egitearen eta neurotransmisore-sistemen ezagumendu sakona edukitzearen beharra funtsezko gauza dela adierazi digu, bestela, Alzheimer moduko gaixotasunetan tratamendu sintomatologikoak noraezean joango baitira. Aipagarri den beste ondorio bat, klinikoen eta oinarrizko ikerlarien arteko elkarlanak gaixotasun honen eta beste gaixotasun-moten tratamendu sintomatologikoa aurrera eramateko bultzatu behar den arloa dela erakutsi digu.

ERRADIOLIGANDOEN BIDEZKO FINKAPENA (BINDING)



1. Irudia
"Erradioligandoen bidezko finkapena" deritzan teknika honetan, hartzaileen kopurua eta ligandoarekiko duen afinitatea neurtzeko helburuarekin, erradioligandoa hartzaileak dauden homogeneizatuetara gehitzen da, oreka lortzeko asmoz denbora-tarte konkretuan inkubatzen uzten direlarik. Horrela, oreka lortu denean lagina iragazi egiten da, soberan dagoen erradioaktibitatea tanpoien bidez iragaziko delarik. Lagina lortu eta gero, neurtzeko berezia den aparailuan erradioaktibitatea neurtuko da.

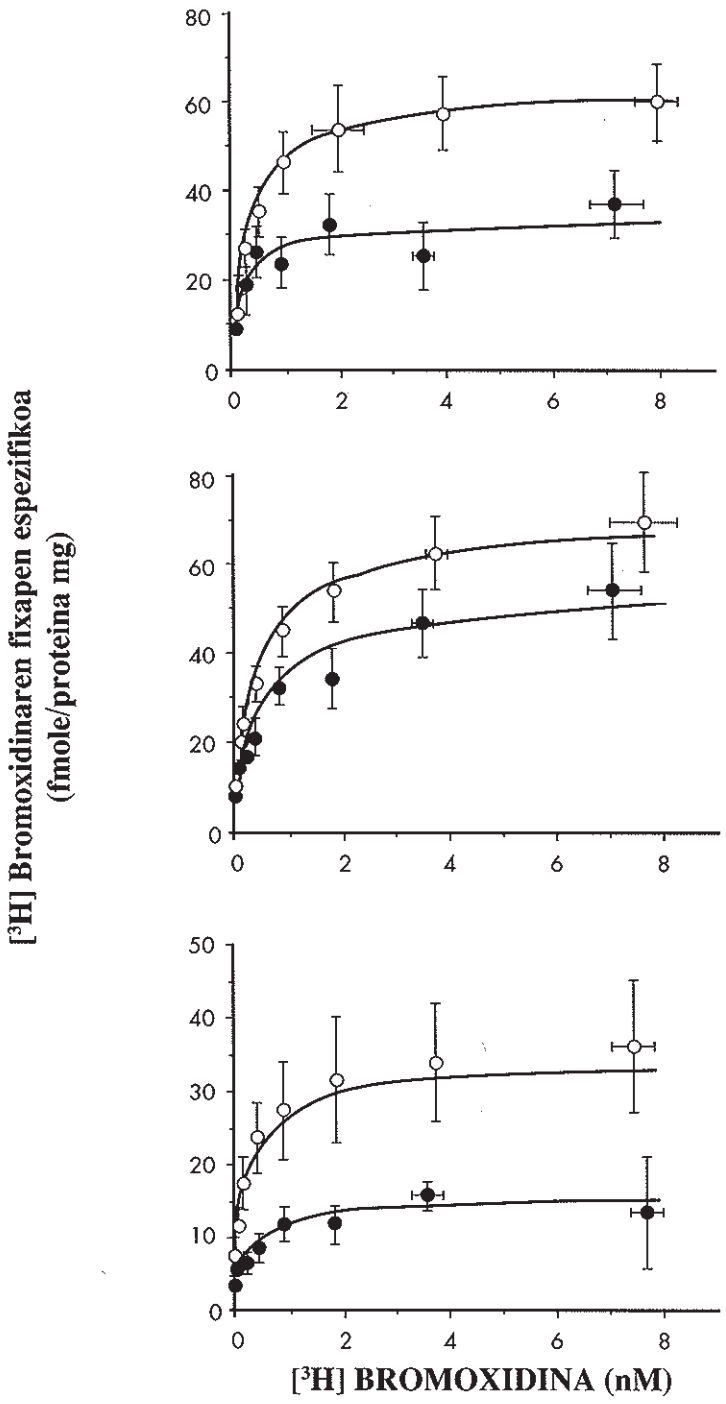
AUTORRADIOGRAFIA



2. Irudia
"Autorradiografia" deritzan teknika honetan, garuna edo beste ehun batean ebakitako plakak "porta" deritzen beirazko errektangeluetan ezartzen dira. Portetan dauden plakak erradioligandoarekin batera inkubatzen jartzen dira. Oreka lortu denean tanpoiarekin pare bat aldiz garbituko dira. Tanpoiak dituen gatzak garbitzeko asmoz, portak uretan garbituko dira, azken hauek artefaktuak sortaraz bait dezakete. Pauso hauek egin eta gero erradioaktibitateak pelikula fotografikoak errebelatzeko duen berezitasuna dela eta, portak pelikula fotografikoetan gaininpresionatuta gertatuko dira. Teknika honek hartzaile-kopurua neurtzeaz gain dituen abantailen artean, egitura anatomikoa oso ondo gordetzen duela azpimarratu daiteke.

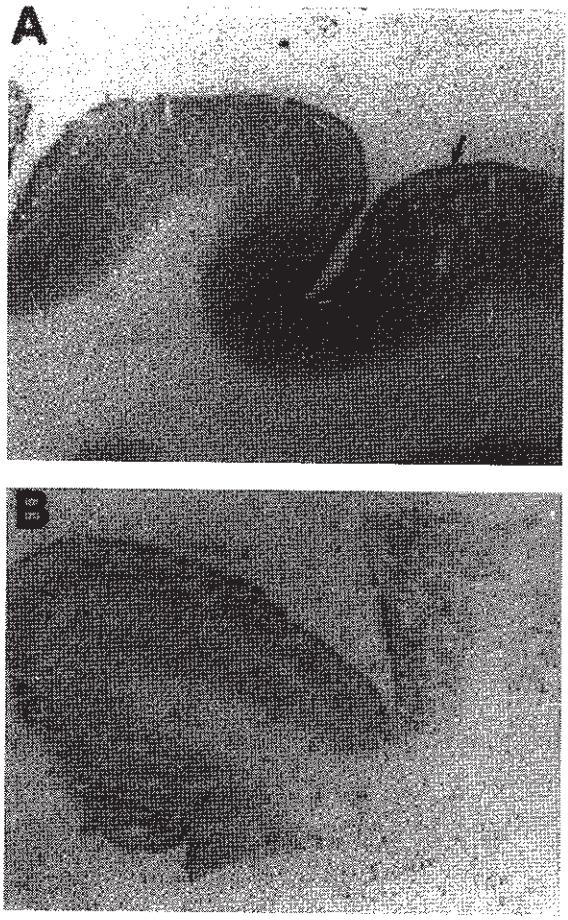
[^{3}H] Bromoxidinaren fixapen espezifikoa
(fmole/proteina mg)

3. Irudia
α_2 adrenozeptoreak n
kortex frontalean (go
adrenozeptoreen ago

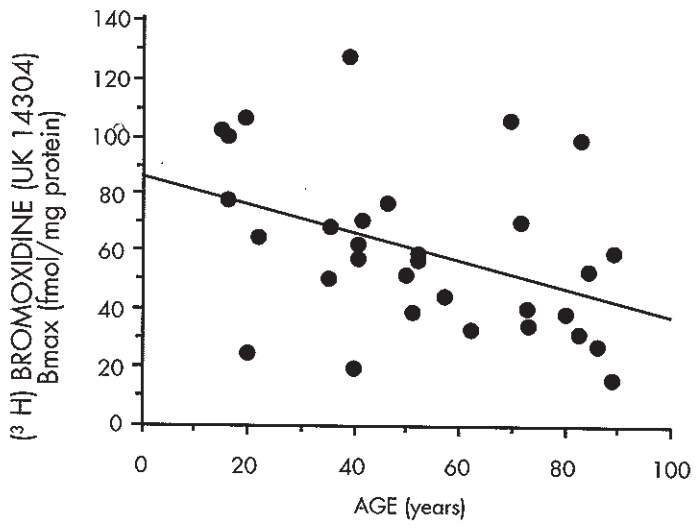


3. Irudia

α_2 adrenozeptoreak neurtzeko helburuarekin pertsona kontrol (○) eta Alzheimer gaixotasuna (●) zuten pertsonetako kortex frontalean (goiko aldea), hipotalamoan (erdiko aldea) eta zerebeloan (beheko aldea), [^{3}H] Bromoxidina α_2 adrenozeptoreen agonistaren bidez egindako saturazio esperimentuen finkapen espezifikoa (Meana eta kol, 1992).



4. Irudia
α_2 adrenozeptoreak neurtzeko helburuarekin, giza kortex frontalean α_2 adrenozeptorearekiko agonista den [^{3}H] Bromoxidinaren bidez egindako lotura-guneen banapen autorradiografikoa. Alde ilunak lotura-gune gehiago adierazten dute. A) Kontrola (72 urtetako emakumearen garuna). B) Alzheimer gaixotasuna zuen 72 urtetako emakumearen garuna (Meana eta kol, 1992).



5. Irudia
Kontrolak ziren pertsonetako giza garunaren kortex frontalean egindako α_2 adrenozeptorearekiko agonista den [^{3}H] Bromoxidinarentzako lotura-gunean murrizpena, adinarekin erlazionatuta (Meana eta kol, 1992).

BIBLIOGRAFI

1. Perry EK (
2. Hardy J, A disease. Ne
3. Hardy J, Al
4. Müller-Hill Rev Bioche
5. Pascual J, choline upt hypothesis
6. Pazos A, enfermedad Iribar M C Alzheimer
7. Fibiger HC review of
8. Robbins T Rev Neuro
9. Quinn NP Pathologic
10. Katzman F
11. Selkoe DJ Ciencia 10
12. Yamamura Raven Pre
13. Pfenning M Kuhar MJ York, orr
14. Mohr E, S Fedio P, C 46: 376-3
15. Schlegel J treatment
16. Meana JJ, Decreased with Alzh
17. Pascual J autoradiog

BIBLIOGRAFIA

1. Perry EK (1986) The cholinergic hypothesis-ten years on. Br Med Bull 42: 63-69.
2. Hardy J, Adolfsson R, Alafuzoff I, Bucht G, Marcusson J, deficits in Alzheimer's disease. Neurochem Int 7: 545-563.
3. Hardy J, Allsop D (1991) Amyloid deposition as the central Sci 12: 383-388
4. Müller-Hill B, Beyreuther K (1989) Molecular biology of Alzheimer's disease. Ann Rev Biochem 58: 287-307.
5. Pascual J, Fontan A, Zarranz JJ, Berciano J, Florez J, Pazos A (1991) High-affinity choline uptake carrier in Alzheimer's disease: implications for the cholinergic hypothesis of dementia. Brain Res 552: 170-174.
6. Pazos A, Pascual J (1991) Marcaje de receptores colinérgicos cerebrales en la enfermedad de Alzheimer. Estudios autorradiográficos y de fijación. Peinado J M, Iribar M C (ed). Bases neuroquímicas del envejecimiento cerebral: Enfermedad de Alzheimer. orr 3-19.
7. Fibiger HC (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. Trends Neurosci 14: 220-223.
8. Robbins TW, Everitt BJ (1982) Functional studies of the central catecholamines. Int Rev Neurobiol 23: 303-365.
9. Quinn NP, Rossor MN, Marsden CD (1986) Dementia and Parkinson's disease. Pathological and neurochemical considerations. Br Med Bull 42: 86-90.
10. Katzman R (1986) Alzheimer's disease. N Engl J Med 314: 964-973.
11. Selkoe DJ (1992) Proteina amiloidea y enfermedad de Alzheimer. Investigación y Ciencia 101: 410-419.
12. Yamamura HI, Enna SJ, Kuhar MJ (1985) Neurotransmitter receptor binding, 2. ed. Raven Press, New York
13. Pfenning MA, Richelson E (1990) Receptor autoradiography. Yamamura HI, Enna SJ, Kuhar MJ (ed) Methods in neurotransmitter receptor analysis. Raven Press, New York, orr 177-218
14. Mohr E, Schlegel J, Fabbrini G, Williams J, Mouradian MM, Mann UM, Claus JJ, Fedio P, Chase TN (1989) Clonidine treatment of Alzheimer_s disease. Arch Neurol 46: 376-378
15. Schlegel J, Mohr E, Williams J, Mann U, Gearing M, Chase TN (1989). Guanfacine treatment of Alzheimer's disease. Clin Neuropharmacol 12: 124-128.
16. Meana JJ, Barturen F, Garro MA, García-Sevilla JA, Fontan A, Zarranz JJ (1992.) Decreased density of presynaptic α_2 adrenoceptors in postmortem brains of patients with Alzheimer's disease. J Neurochem 58: 1896-1904.
17. Pascual J, Grijalba B, García-Sevilla JA, Zarranz JJ, Pazos A disease: an autoradiographic study in frontal cortex and hippocampus. Neurosci Lett 142: 36-40.