

Immunolocalización del Receptor de Proliferación de Peroxisomas Activados subtipo- γ (PPAR- γ) en la corteza cerebral de pacientes con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (AD)

C.A. AYALA-GROSSO¹, S.F. CROCKER², R. LESLIE³, G.S. ROBERTSON²

Resumen

El receptor nuclear de proliferación de peroxisomas activados (PPAR- γ) se ha asociado al control de la diferenciación de los adipositos, la inflamación, la muerte celular programada y la sensibilidad a la insulina. En este trabajo, mediante el uso de un anticuerpo que reconoce al receptor nuclear de proliferación de peroxisomas activados, se ha establecido su distribución y se ha estimado la densidad relativa de las células inmunopositivas en secciones de la corteza cerebral de individuos control y de sujetos con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (EA). La inmunorreactividad del PPAR- γ se observó en neuronas de la corteza cerebral y en astrocitos distribuidos de manera heterogénea en las láminas de la I a la V de la corteza cerebral. La densidad relativa de neuronas y astrocitos inmunopositivos fue significativamente mayor respecto al control en el giro frontal inferior y temporal superior de individuos con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer. Las células inmunopositivas para la proteína ácida fibrilar glial se observaron organizadas en «coronas», clásicamente descritas rodeando las placas neuríticas. El incremento de la expresión del receptor de PPAR- γ podría indicar una respuesta citoprotectora de las células a la inflamación y deficiencia del metabolismo de la glucosa al reto promovido por la acumulación del péptido β -amiloide en la patología de la enfermedad de Alzheimer.

Palabras clave: neurodegeneración, inflamación, β -amiloide, demencia senil, receptor nuclear de proliferación de peroxisomas activados, enfermedad de Alzheimer.

Abstract

Nuclear peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) signaling has been implicated in the control of adipocyte differentiation, inflammation, programmed cell death, and insulin sensitivity. Using an antibody which selectively recognizes human PPAR γ , we have compared its distribution and the number of cells that display PPAR γ immunoreactivity in cortical brain sections from patients diagnosed with Alzheimers disease (AD) and age-matched controls. PPAR γ immunoreactivity was observed in both cortical neurons and astrocytes (glial fibrillary acidic protein (GFAP) immunopositive cells) distributed sparsely throughout laminae I to V of AD and age-matched control brains. The numbers of PPAR γ immunopositive neurons and astrocytes were significantly greater in the inferior frontal and temporal gyri of AD patients compared to age-matched controls. Within the brains of AD patients, there were more PPAR γ immunopositive cells in the superior temporal cortex relative to the inferior frontal aspect of the neocortex. GFAP-positive cells were organized in classically described «crowns» of astroglial cells surrounding neuritic plaques. Given that PPAR γ agonists improve insulin sensitivity and decrease immune cell activity; these results suggest that elevated PPAR γ immunoreactivity may reflect an attempt of the astrocytes and neurons to compensate the disturbances in central glucose metabolism and to reduce inflammatory processes associated with AD.

Key words: neurodegeneration, imflamation, β -amyloid, senile dementia, nuclear peroxisome proliferator-activated receptor- γ , Alzheimers disease.

¹ Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Apdo. Postal 40109 Nueva Granada, Caracas, Venezuela.

² Department of Pharmacology and Psychiatry.

³ Department of Anatomy and Neurobiology, School of Medicine, Dalhousie University, Nova Scotia, B3H 1X5, Canada

Introducción

El receptor nuclear de proliferación de los peroxisomas activados, subtipo γ (PPAR γ), representa un blanco común en las vías de señalización asociadas a la reproducción, el metabolismo, el desarrollo (Barak y col., 1999) y la respuesta inmune (Ricote y col., 1999; Jiang y col., 1999; Cunard y col., 2002; Daynes y col., 2002). Pertenece a la superfamilia de los receptores nucleares, que son proteínas con capacidad de enlazamiento al ácido desoxirribonucleico (ADN), estructuralmente relacionadas con la familia de los receptores de esteroides, glucocorticoides, mineralocorticoides, receptores de la vitamina D y del ácido retinoico (Kielian y Drew, 2003). Su función en la modulación de la transcripción de genes involucrados en la homeostasis de la glucosa y los lípidos, lo promueve como un elemento crucial en la expresión de ciertas disfunciones metabólicas como la obesidad (Evans y col., 2004).

La modulación de la expresión de las diversas respuestas fisiológicas mediante la activación de los receptores PPAR γ involucra una interacción compleja que implica, ya sea la formación de heterodímeros con el receptor de ácido retinoico (Tugwood y col., 1992), la regulación de la transcripción de elementos promotores secuencia-específicos denominados «elementos de respuesta del proliferador de peroxisomas» (Sastre y col., 2006), así como la inhibición de la expresión de los genes involucrados en la respuesta inmune por un mecanismo no completamente dilucidado, denominado «transrepresión dependiente de receptor» (Kerppola y col., 1993; Li y col., 2000; Kielian y Drew, 2003). La existencia de estos mecanismos sugiere que la función del ligando natural del receptor, la prostaglandina 15d-PGJ₂, es de un orden de complejidad que involucra múltiples elementos de interacción.

El receptor PPAR γ se constituye como un blanco farmacológico de los agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs), lo que ha sido apreciado recientemente a raíz de la información epidemiológica que ha establecido que los NSAIDs son eficaces en reducir la incidencia y el riesgo de la enfermedad de Alzheimer, así como de retrasar significativamente su progresión (Jenkinson y col., 1989; Breitner y col., 1994; Andersen y col., 1995; McGeer y col., 1996). Sin embargo, el mecanismo por el cual los NSAIDs reducen la evolución de esta patología e incrementan la sobrevivencia de los individuos tratados no ha sido establecido hasta el momento.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por un deterioro progresivo de la función cognitiva y la pérdida de la memoria, que ocurre asociada con la pro-

gresión de la muerte neuronal de poblaciones específicas de diversas áreas del cerebro. La histopatología típica involucra la acumulación extracelular del péptido β -amiloide que constituye la placa senil, la cual perturba la citoarquitectura columnar típica de la corteza cerebral; así como la formación intraneuronal de los haces neurofibrilares a consecuencia de una fosforilación anómala de la proteína *Tau* asociada a los microtúbulos, que se acumulan principalmente en el soma de la neurona y se propagan posteriormente hacia el axón y las neuritas. Ambos elementos se encuentran acompañados por una pérdida extensa de sinapsis y neuronas en diversas áreas del cerebro (Yankner y Mesulam, 1991; Hardy y Allsop, 1991; Joachim y Selkoe, 1991; Selkoe, 1994; Grundke-Ikbal y col., 1986; Goedert y col., 1993).

La deposición extracelular de las fibras del péptido β -amiloide se encuentra en una asociación estrecha con las células microgliales y astrogliales. La microglía activada promueve, a su vez, un complejo local proinflamatorio con la secreción de una variedad de productos que pueden promover la muerte celular (McGeer y McGeer, 1997; Akiya y col., 2000; Hull y col., 2002). En consecuencia, una microglía hiperactiva podría contribuir a la pérdida neuronal progresiva de un cerebro afectado con la enfermedad de Alzheimer. La aparición de productos inflamatorios en el cerebro de individuos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer se ha interpretado como evidencia de un componente inflamatorio crónico en el proceso de la enfermedad y ha guiado a evaluar si la administración de agentes antiinflamatorios podría modificar la incidencia de la demencia asociada a esta patología.

La degeneración neuronal como un elemento característico de la enfermedad de Alzheimer, asociada además a proliferación de la microglía y astrocitos, sugiere que esta patología es de naturaleza neuroinflamatoria. Estudios recientes han demostrado un incremento notable en la expresión diferencial de los genes de interleucina 1 α , 1 β , ciclooxigenasa-2, NF-KB1 y otros mediadores del sistema inmune e inflamatorio (Kamboh y col., 1995; Papassotiropoulos y col., 1999; McCusker y col., 2001; Perry y col., 2001; Wyss-Coray, 2006). El incremento en la vía metabólica del ácido araquidónico, como la de la enzima fosfolipasa A₂ (PLA₂) y de las funciones de la ciclooxigenasa (COX), pueden contribuir adicionalmente a la degeneración neuronal.

La actividad de la enzima COX, también conocida como sintasa de la prostaglandina G/H (PGHS), genera prostaglandina (PG) H₂ a partir del ácido araquidónico. La PGH₂ es metabolizada adicionalmente

a prostaglandinas funcionales activas como la PGD₂, PGE₂, PGF_{2a}, y PGI₂. Al menos dos isoformas de la COX, una del tipo constitutivo (COX-1) y otra del tipo inducible (COX-2), han sido descritas. Recientemente se ha reportado una expresión exacerbada de la COX-1 y COX-2 en cerebros de individuos con la enfermedad de Alzheimer, aunque las causas inmediatas de estos cambios no han sido establecidas (Oka y col., 1997; Adams y col., 1996; Ho y col., 1999; Pasinetti y Aisen, 1998; Montine y col., 1999). La administración de NSAIDs, tales como indometacina o ibuprofeno, no sólo inhiben la actividad enzimática de la COX-2 sino que modulan su expresión a través de la interacción con el receptor de PPAR- γ (Lehman y col., 1977); al mismo tiempo los agonistas del receptor, como las tiazolidindionas, troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona reducen la expresión de COX-2, IL-6, la óxido nítrico sintasa inducible, y el daño neuronal (Heneka y col., 2000; Ogawa y col., 2000; Combs y col., 2000).

Aunque estos estudios muestran la activación del sistema inmune y de las vías inflamatorias en la enfermedad de Alzheimer, ninguno de estos estudios han establecido si estos cambios ocurren en los estadios iniciales de la patología, la promueven o son una reacción compensadora al proceso degenerativo. En consecuencia, es importante tener en consideración que los factores inflamatorios e inmunes son multifuncionales y pueden tener efectos pro y antiinflamatorios, por lo que su presencia no son predictivos de ser beneficiosos o perniciosos (Sastre y col., 2006).

Un incremento en la expresión de PPAR γ en muestras de enfermos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer con respecto a controles sanos apareados por edad, además de su localización en poblaciones discretas neuronales o no-neuronales podría sugerir la respuesta del tejido nervioso al reto resultante de la toxicidad de las fibras del péptido β -amiloide. En contraste, una disminución implicaría una reducción del efecto transrepositor, entonces una facilitación de la expresión de la beta-secretasa y en consecuencia un concomitante aumento en la concentración del péptido β -amiloide (Sastre y col., 2006).

En este estudio se determina la distribución y la densidad de PPAR γ en muestras obtenidas por autopsia de la corteza cerebral de individuos controles apareados por edad y con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

Materiales y Métodos

MUESTRAS DE TEJIDO CEREBRAL HUMANO

El tejido cerebral se obtuvo por autopsia de la

corteza frontal inferior (IFG) y temporal superior (STG) de 18 sujetos, 9 clínicamente con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, con una edad promedio \pm E.S.M. de $83,66 \pm 1,43$ años, y un tiempo promedio *postmortem* para la toma de la muestra de $3,88 \pm 1,28$ h; y 9 sujetos controles sanos de edad similar, con una edad promedio \pm E.S.M. de $79,88 \pm 1,29$ años y un tiempo promedio *postmortem* para la toma de la muestra de $2,35 \pm 0,11$ h (Tabla I). El tejido usado en este estudio se adquirió de Sun Health Research Institute (Sun City, Arizona, Estados Unidos de Norteamérica).

ANTICUERPOS

Para la determinación del receptor γ de proliferación de peroxisomas activados (PPAR γ) se utilizó un anticuerpo policlonal generado en conejo que reconoce al receptor (Serotec, Reino Unido), preparado en una dilución 1:200. Además se utilizó un anticuerpo monoclonal generado en ratón que reconoce la proteína fibrilar ácida glial (GFAP) (Sigma, Mo, USA), preparado en una dilución de 1:1000. Para visualizar los receptores PPAR γ , así como las células inmunopositivas para la GFAP se utilizaron los kits de diaminobenzidina y de la fosfatasa alcalina (Enhanced Vectastain ABC Elite y ABC alkaline phosphatase), respectivamente, adquiridos de Laboratorios Vector (Burlingame, California, Estados Unidos de Norteamérica).

INMUNOHISTOQUÍMICA

Las muestras de cerebro fueron seccionadas en el criostato a -15 °C en rebanadas de 10 micrómetros de espesor y las secciones colectadas en portaobjetos (superfrost) y almacenadas a -80 °C hasta el momento de su tinción. Las secciones de los tejidos fueron lavadas con solución tampón fosfato salino 0,01 M (PBS), luego tratadas con peróxido de hidrógeno al 0,3% en 100% metanol por 15 min. a temperatura ambiente y posteriormente permeabilizadas con una solución de PBS que contenía Tritón X-100 al 0,1% por 30 min. a temperatura ambiente.

Rutinariamente las secciones se incubaron por 30 min. con una solución de PBS que contenía 15% de suero normal de la especie en la que fue generado el anticuerpo secundario. Luego, se incubaron a 4 °C por al menos 12 horas con cualquiera de los anticuerpos: Anticuerpo policlonal generado en conejo que reconoce el receptor γ de proliferación de peroxisomas activados (PPAR γ) preparado en una dilución 1:200. El anticuerpo monoclonal generado en ratón que reconoce la proteína fibrilar ácida

Tabla I
Información demográfica de individuos controles de edad similar y con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer

Paciente	Edad	Sexo	PMI (h)	ApoE Braak	Índice	Diagnóstico neuropatológico
C1-9710	79	M	2.00	3/3	I	Control
C2-9714	76	M	2.50	3/3	I	Control
C3-9717	78	M	2.66	3/3	I	Control
C4-9639	73	F	2.50	3/3	I	Control
C5-9702	81	M	2.75	3/3	I	Control
C6-9833	82	F	2.00	3/3	I	Control
C7-9914	86	M	2.50	3/3	I	Control/pequeño número de placas seniles y haces neurofibrilares
C8-9613	85	F	2.75	3/3	II	Control/disfonía espasmódica
C9-9745	79	F	2.00	3/3	II	Control
C10-9751	84	M	3.00	3/3	III	Enfermedad de Alzheimer temprana
C11-9818	91	F	2.16	3/3	III	Enfermedad de Alzheimer temprana
AD1-9605	87	F	2.00	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD2-9609	75	M	2.50	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer /Angiopatia amiloide cerebral
AD3-9626	85	M	3.25	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer /convulsiones
AD4-9642	85	M	14.66	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD5-9707	87	F	2.50	2/2	V	Enfermedad de Alzheimer
AD6-9725	88	M	1.75	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD7-9727	77	F	4.00	2/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD8-9733	85	M	2.33	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD9-9805	88	M	4.00	3/3	V	Enfermedad de Alzheimer
AD10-9828	84	F	2.00	3/3	VI	Enfermedad de Alzheimer

glial (GFAP) preparado en una dilución 1:1000. Posteriormente las secciones se incubaron con los correspondientes anticuerpos secundarios conjugados a biotina (Vector labs) en una dilución 1:200 (v/v) por 1 h, a temperatura ambiente (RT, 25 °C). La inmunorreactividad se visualizó mediante la formación de un precipitado marrón de diaminobenzidina (DAB) o rojo, producto de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina (AP), ambos productos a partir de un *kit* de tinción (Vector Labs).

Para el marcaje inmunohistoquímico de las cortezas frontal, temporal y parietal, se examinaron al menos 2 a 3 secciones por cerebro. En el IFG y el STG,

el número de neuronas que fueron inmunorreactivas para el receptor de PPAR γ se contaron en una región definida por una grátula del ocular con un área de 350 μm x 280 μm . En cada capa cortical la grátula se desplazó hacia una región adyacente, evitando la superposición de los bordes, hasta completar 10 fotografías, con el objeto de estimar el número de células inmunorreactivas. El número relativo de células por sección y región del cerebro se obtuvo para comparar el número de relativo de neuronas corticales inmunopositivas para el receptor PPAR γ en sujetos de edad similar sanos, con respecto a los que tenían diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

Las imágenes se colectaron mediante un microscopio Zeiss Axioplan 2 acoplado a una cámara de video a color Sony 3 CCD DXC-950 adaptada a un sistema de registro CMA-D2 como interfase a un computador personal. Las imágenes se analizaron mediante un programa producido por Empix Imaging, Inc. (Mississauga, Ontario, Canadá).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El número relativo de células se estimó en las cortezas frontal y temporal de sujetos sanos y con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. Se generó un índice relativo por densidad que presentó una varianza no homogénea, por lo que se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), no paramétrico (Kruskal-Wallis), de diseño mixto (dos factores-dentro (área de la corteza) y un factor entre (sujeto normal vs enfermo) para comparar la densidad media de las células PPAR γ inmunopositivas en las regiones de la corteza cerebral de interés en sujetos sanos o enfermos (U de Mann-Whitney). La prueba estadística fue considerada significativa para un valor de probabilidad $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa Prisma (Versión 4.0, 2003).

Resultados

En este estudio se demuestra la presencia de inmunorreactividad de PPAR γ en secciones de la corteza frontal y temporal superior de sujetos controles de edad similar y en sujetos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer.

El anticuerpo generado para el receptor de PPAR γ reconoce una proteína de aproximadamente 110 kDa, tal como ha sido demostrado en líneas celulares y fracciones particuladas de homogenados de autopsias de cerebro de sujetos controles; y en muestras obtenidas de enfermos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer (Kitamura y col., 1999).

Como se muestra en la figura 1, se encontró un incremento significativo de la expresión del receptor de PPAR γ en el sistema nervioso de sujetos con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. Así se observa, en las secciones de tejido cerebral, que en ausencia del anticuerpo primario (control negativo de tinción) no hay ninguna señal característica (Fig. 1a). En las secciones de individuos controles, en presencia del anticuerpo primario, se observa una señal inmunopositiva débil y poco frecuente, que se caracterizó por un marcaje de neuritas en el neuropilo cerebral (Fig. 2b). En contraste, cuando el anticuerpo se aplicó a secciones de tejido de individuos

con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer, se encontró inmunorreactividad significativamente mayor cuando se compara con la observada en las secciones de individuos controles. En los tejidos provenientes de los individuos con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer se observó que la inmunorreactividad se encuentra distribuida heterogéneamente (Figs. 1c y 1d) y asociada tanto a neuronas aisladas como a células gliales agrupadas en arreglos circulares formando coronas (Figs. 2c y 2d); además en neuritas dispersas en el neuropilo. En los tejidos de cerebros provenientes de pacientes con enfermedad de Alzheimer, los elementos inmunopositivos se observaron principalmente en la periferia de las placas difusas y seniles (de núcleo denso) y asociadas con neuritas distróficas. Adicionalmente, el receptor de PPAR γ se observó en neuronas y en células gliales con morfología de astrocitos (Figs 2c y 2d).

La cuantificación de la densidad de células inmunopositivas para el receptor PPAR γ mostró un incremento significativo en las muestras de los sujetos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer (Fig. 3). Para cada una de las dos regiones corticales

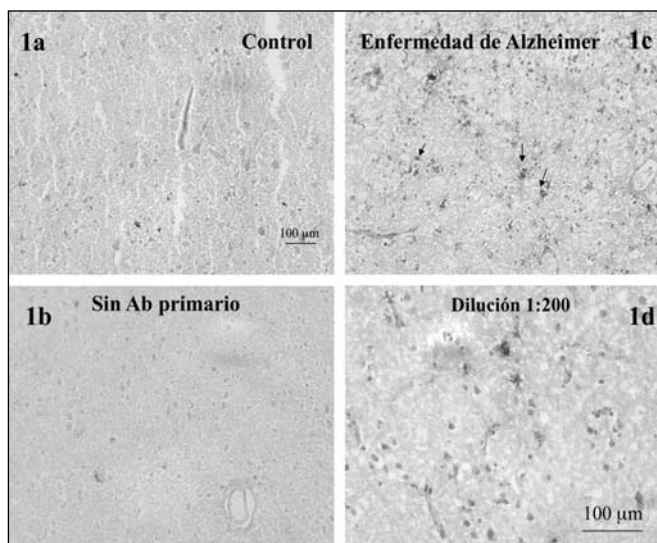


Figura 1. Inmunocolocalización del receptor de proliferación de peroxisomas activados γ (PPAR γ) en secciones de corteza cerebral (giro frontal superior (IFG) y temporal superior (STG)) de controles sanos de edad similar e individuos con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer.

En secciones de tejido cerebral, en ausencia del anticuerpo primario (control negativo de tinción) no se observó ninguna señal característica en controles ni en sujetos con diagnóstico de Alzheimer (Figs. 1a y 1c). En secciones de individuos controles, en presencia del anticuerpo para el receptor de PPAR γ , se observó una señal inmunopositiva débil y poco frecuente. En secciones de tejido de individuos con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer se encontró una inmunorreactividad significativamente mayor respecto a las secciones de individuos controles (Figs. 1b y 1d). El anticuerpo PPAR γ permitió evidenciar cuerpos celulares dispersos (Fig. 1d, flechas).

con reportes previos en los que se determinó un incremento en la expresión de este receptor en la fracción citosólica de homogenizados de la corteza temporal de sujetos con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (Kitamura y col., 1999).

En los sujetos con diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, las células inmunorreactivas para el marcador PPAR γ se distribuyeron heterogéneamente en todas las capas de la corteza cerebral, encontrándose asociados a zonas en las que la citoarquitectura se observaba perturbada a consecuencia de una aparente acumulación del péptido β -amiloide. Esto permite sugerir que el incremento en la concentración de este péptido en el espacio extracelular podría desencadenar una respuesta típica de migración celular hacia las zonas en donde él se acumula. Lo que coincide con un incremento de PPAR γ en la región perinuclear de neuronas y células gliales, a pesar que no se ha observado al receptor colocalizado con las placas neuríticas (Sastre y col., 2006).

En el sistema nervioso central, varios tipos celulares son capaces de producir citoquinas y prostaglandinas. La microglía y la astrogliá producen interleuquina- γ , sin embargo esta citoquina también se ha descrito en neuronas. Adicionalmente, estos tres tipos celulares en el sistema nervioso central también pueden sintetizar ciclooxigenasa-2 (Hirst y col., 1999). En consecuencia, la expresión de los receptores PPAR γ en diversos tipos celulares, neuronas y células gliales (resultados presentes) podría constituir una respuesta que involucra, por una parte, a las neuronas que responden incrementando la expresión del receptor PPAR γ , en apariencia como un fenómeno singular y discreto; y por otra, la acumulación en la astrogliá podría implicar un estado activo generado por la liberación de citoquinas al espacio extracelular a consecuencia de la muerte de las células ante el reto generado por la acumulación del péptido β -amiloide.

Nuestros resultados permiten sugerir que a consecuencia de la acumulación del péptido β -amiloide se produce una migración de células, posiblemente inmunopositivas para la proteína ácida glial, que actuarían como barrera para disminuir la difusión de citoquinas proinflamatorias. La evidencia de la presencia de inmunoreactividad de PPAR γ asociada con las neuronas piramidales en el IFG y STG de cerebros con diagnóstico de EA, así como en células inmunopositivas para la proteína ácida glial, es indicativo que durante la progresión de la patología de la EA, la activación de PPAR γ puede ocurrir como parte de una interacción dinámica entre las neuronas y las células astrogliales. La función de la familia

de receptores de PPAR γ en el tejido neural no ha sido establecida hasta el momento. La activación del receptor podría además regular negativamente la activación de los macrófagos y la expresión de citoquinas mediante una función antagonica o de transrepresión, lo que ocurre mediante la inhibición de la actividad de factores de transcripción NF κ B, AP-1 y STAT, sin involucrar su función de enlazamiento al receptor de PPAR γ propiamente dicho (Li y col., 2000). Adicionalmente, el receptor de PPAR γ podría ser activado por el agonista endógeno PGJ2 (15d-PGJ2) y sus metabolitos inmediatos, así como por la indometacina, otros NSAIDs y agentes antidiabéticos de la clase de las tiazolidinadionas (Combs y col., 2000; Sastre y col., 2006).

En una propuesta de interacción de los tres componentes celulares se ha sugerido que la microglía activada como resultado de la acumulación de A β fibrilar, podría liberar citoquinas (PGE/J2 e IL-1/6), las cuales a su vez activarían tirosina quinasas que fosforilan a las quinasas de proteínas asociadas, p38 o *tau*, para inducir la migración de las células gliales, que en un circuito amplificado puede promover la muerte de la neurona. Como una consecuencia favorable, la activación de PPAR γ podría resultar en una reducción en la liberación de citoquinas, como se mencionó anteriormente, y del procesamiento anómalo de la proteína precursora del péptido amiloide (APP) (Sastre y col., 2003; D'Abrahamo y col., 2005).

Nuestra evidencia soporta la hipótesis de Terry (2000), según la cual una incidencia diferencial en el daño cognitivo en la EA ocurre como un resultado de distintos procesos patológicos que conducen a la pérdida de sinapsis y de somas neuronales. Esta propuesta se basa en la detección de la inmunoreactividad de PPAR γ en neuronas, en neuritis distróficas, así como en células inmunopositivas para GFAP no asociadas con las placas seniles.

La demostración de la acumulación extensiva de PPAR γ en las neuronas y en la glía de cerebros provenientes de pacientes con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer, indica una respuesta celular en asociación con eventos patológicos locales. El papel de las células gliales en la patología de la enfermedad de Alzheimer se sustenta por los estudios en donde se describe un incremento en la expresión del antígeno Fas (CD95) en los astrocitos y en la subpoblación de células inmunopositivas para GFAP en cerebros con diagnóstico de EA (Nishimira y col., 1995). Adicionalmente se ha demostrado una regulación hacia arriba de la proteína supresora de tumores p53 en las células gliales de cerebros con diagnóstico de EA (Kitamura y col., 1997).

Nosotros concluimos que la acumulación de PPAR γ ocurre en múltiples componentes celulares durante la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, el orden temporal de eventos que implican la activación de PPAR γ espera ser establecido.

Agradecimientos

Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en el Congreso anual de la Sociedad de Neurociencia en San Diego, California, 2004, financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela.

Referencias

- ADAMS J, COLLAÇO-MORAES Y, DE BELLEROCHE J. 1996. Cyclooxygenase-2 induction in cerebral cortex: an intracellular response to synaptic excitation. *J Neurochem*. 66:6-13.
- AKIYAMA H, BARGER S, BARNUM S, BRADT B, BAUER J, COLE GM, COOPER NR, EIKELENBOOM P, EMMERLING M, FIEBICH BL, FINCH CE, FRAUTSCHY S, GRIFFIN WS, HAMPEL H, HULL M, LANDRETH G, LUE L, MRÁK R, MACKENZIE IR, MCGEER PL, O'BANION MK, PACHTER J, PASINETTI G, PLATA-SALAMAN C, ROGERS J, RYDEL R, SHEN Y, STREIT W, STROHMEYER R, TOYOYAMA I, VAN MUISWINKEL FL, VEERHUIS R, WALKER D, WEBSTER S, WEGRZYŃIAK B, WENK G, WYSS-CORAY T. 2000. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 21:383-421.
- BARAK Y, NELSON MC, ONG ES, JONES YZ, RUIZ-LOZANO P, CHIEN KR, KODER A, EVANS RM. 1999. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*. 4:585-595.
- BREITNER JC, GAU BA, WELSH KA, PLASSMAN BL, McDONALD WM, HELMS MJ, ANTHONY JC. 1994. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology*. 44:227-232.
- COMBS CK, JOHNSON DE, KARLO JC, CANNADY SB, LANDRETH GE. 2000. Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease: inhibition of beta-amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPARgamma agonists. *J Neurosci*. 20(2):558-67.
- CUNARD R, RICOTE M, DiCAMPLI D, ARCHER DC, KAHN DA, GLASS CK, KELLY CJ. 2002. Regulation of cytokine expression by ligands of peroxisome proliferator activated receptors. *J Immunol*. 168:2795-2802.
- DAYNES RA, JONES DC. 2002. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2:748-59.
- D'ABRAMO C, MASSONE S, ZINGG JM, PIZZUTI A, MARAMBAUD P, DALLA PICCOLA B, AZZI A, MARINARI UM, PRONZATO MA, RICCIARELLI R. 2005. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in amyloid precursor protein processing and amyloid beta-mediated cell death. *Biochem J*. 1;391(Pt 3):693-8.
- EVANS RM, BARISH GD, WANG YX. 2004. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med*. 10:355-361.
- GRUNDKE-IQBAL I, IQBAL K, TUNG YC, QUINLAN M, WISNIEWSKI HM, BINDER LI. 1986. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 83:4913-4917.
- HARDY J, ALLSOP D. 1991. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci*. 12:383-388.
- HENEKA MT, KLOCKGETHER T, FEINSTEIN DL. 2000. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands reduce neuronal inducible nitric oxide synthase expression and cell death in vivo. *J Neurosci*. 20:6862-6867.
- HIRST WD, YOUNG KA, NEWTON R, ALLPORT VC, MARRIOTT DR, WILKIN GP. 1999. Expression of COX-2 by normal and reactive astrocytes in the adult rat central nervous system. *Mol Cell Neurosci*. 13(1):57-68.
- HO L, PIERONI C, WINGER D, PUROHIT DP, AISEN PS, PASINETTI GM. 1999. Regional distribution of cyclooxygenase-2 in the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res*. 57:295-303.
- HÜLL M, LIEB K, FIEBICH BL. 2002. Pathways of inflammatory activation in Alzheimer's disease: potential targets for disease modifying drugs. *Curr Med Chem*. 9:83-88.
- JIANG C, TING AT, SEED B. 1998. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. 391:82-86.
- JOACHIM C, GAMES D, MORRIS J, WARD P, FRENKEL D, SELKOE D. 1991. Antibodies to non-beta regions of the beta-amyloid precursor protein detect a subset of senile plaques. *Am J Pathol*. 138:373-384.
- JONES DC, MANNING BM, DAYNES RA. 2002. A role for the peroxisome proliferator-activated receptor alpha in T-cell physiology and ageing immunobiology. *Proc Nutr Soc*. 61:363-369.
- KAMBOH MI, DEKOSKY ST. 1995. Apolipoprotein E genotyping in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 38:967-970.
- KAMBOH MI, EVANS RW, ASTON CE. 1995. Genetic effect of apolipoprotein(a) and apolipoprotein E polymorphisms on plasma quantitative risk factors for coronary heart disease in American black women. *Atherosclerosis* 117:73-81.
- KAMBOH MI. 1995. Apolipoprotein E polymorphism and susceptibility to Alzheimer's disease. *Hum Biol*. 67:195-215.
- KIELIAN T, DREW PD. 2003. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists on central nervous system inflammation. *J Neurosci Res*. 71:315-325.
- KITAMURA Y, SHIMOHAMA S, KOIKE H, KAKIMURA J, MATSUOKA Y, NOMURA Y, GEBICKE-HAERTER PJ, TANIGUCHI T. 1999. Increased expression of cyclooxygenases and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in Alzheimer's disease brains. *Biochem Biophys Res Commun*. 254:582-586.

- LEHMANN JM, LENHARD JM, OLIVER BB, RINGOLD GM, KLIEWER SA. 1997. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem.* 272:3406-3410.
- LI AC, BROWN KK, SILVESTRE MJ, WILLSON TM, PALINSKI W, GLASS CK. 2000. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 106(4):523-31.
- LI M, PASCUAL G, GLASS CK. 2000. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent repression of the inducible nitric oxide synthase gene. *Mol Cell Biol.* 20:4699-4707.
- MCGEER EG, MCGEER PL. 1997. The role of the immune system in neurodegenerative disorders. *Mov Disord.* 12: 855-858.
- MCGEER PL, SCHULZER M, MCGEER EG. 1996 Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. *Neurology.* 47:425-432.
- MONTINE TJ, SIDELL KR, CREWS BC, MARKESBERY WR, MARNETT LJ, ROBERTS LJ, MORROW JD. 1999. Elevated CSF prostaglandin E2 levels in patients with probable AD. *Neurology.* 53:1495-1498.
- OGAWA O, UMEGAKI H, SUMI D, HAYASHI T, NAKAMURA A, THAKUR NK, YOSHIMURA J, ENDO H, IGUCHI A. 2000. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression by indomethacin or ibuprofen in beta-amyloid protein-stimulated J774 cells. *Eur J Pharmacol.* 408:137-141.
- OKA A, TAKASHIMA S. 1997. Induction of cyclo-oxygenase 2 in brains of patients with Down's syndrome and dementia of Alzheimer type: specific localization in affected neurones and axons. *Neuroreport.* 8:1161-1164.
- PAPASSOTIROPOULOS A, BAGLI M, JESSEN F, BAYER TA, MAIER W, RAO ML, HEUN R. 1999. A genetic variation of the inflammatory cytokine interleukin-6 delays the initial onset and reduces the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 45:666-668.
- PASINETTI GM, AISEN PS. 1998. Cyclooxygenase-2 expression is increased in frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neuroscience.* 87:319-324.
- RICOTE M, HUANG JT, WELCH JS, GLASS CK. 1999. The peroxisome proliferator-activated receptor (PPARgamma) as a regulator of monocyte/macrophage function. *J Leukoc Biol.* 66:733-739.
- SASTRE M, DEWACHTER I, LANDRETH GE, WILLSON TM, KLOCKGETHER T, VAN LEUVEN F, HENKA MT. 2003. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists modulate immunostimulated processing of amyloid precursor protein through regulation of beta-secretase. *J Neurosci.* 23 (30):9796-804.
- SASTRE M, DEWACHTER I, ROSSNER S, BOGDANOVIC N, ROSEN E, BORGHGRAEF P, EVERT BO, DUMITRESCU-OZIMEK L, THAL DR, LANDRETH G, WALTER J, KLOCKGETHER T, VAN LEUVEN F, HENKA MT. 2006. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs repress beta-secretase gene promoter activity by the activation of PPARgamma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103:443-448.
- SASTRE M, KLOCKGETHER T, HENKA MT. 2006. Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *Int J Dev Neurosci.* 24:167-176.
- SELKOE DJ. 1994. Alzheimer's disease: a central role for amyloid. *J Neuropathol Exp Neurol.* 53:438-447.
- TUGWOOD JD, ISSEMAN I, ANDERSON RG, BUNDELL KR, MCPHEAT WL, GREEN S. 1992. The mouse peroxisome proliferator activated receptor recognizes a response element in the 5' flanking sequence of the rat acyl CoA oxidase gene. *EMBO J.* 11:433-439.
- WYSS-CORAY, T. 2006. Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nat Med.* 12:1005-1015.
- YANKNER BA, MESULAM MM. 1991. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Beta-Amyloid and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 325: 1849-1857.