

Corticogénesis y neurodegeneración: implicaciones de la vía de la reelina en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer

Julio C. Rojas

RESUMEN

La vía de la reelina (VR) regula las interacciones entre los precursores neuronales en proceso de migración y la glía radial y su activación es esencial durante la corticogénesis. LA VR no sólo regula la dinámica del citoesqueleto y mecanismos neurales de memoria y aprendizaje sino que quizás juega también un papel relevante en los eventos neurodegenerativos. La disrupción de la VR parece deberse a un aumento en el estrés oxidativo y excitotoxicidad promovidos por factores exógenos y endógenos. Dicha disrupción ocasiona un procesamiento intracelular deficiente de los componentes del citoesqueleto, lo cual conduce a la formación de los agregados protéicos característicos de la enfermedad de Alzheimer (EA). Dichos agregados no son productos inócuos de la degeneración neuronal, pues su presencia se ha asociado a la inducción de neuroinflamación, muerte celular y deterioro cognitivo. Sin embargo, es posible que el cuadro clínico de la EA sea perpetuado, más que causado, por estos agregados protéicos. Los elementos de la VR podrían representar puntos bioquímicos de vulnerabilidad neuronal a través de los cuales se originan los cambios degenerativos en diversas regiones corticales. La caracterización de la VR podría clarificar la patogenia de EA y promover el desarrollo de estrategias neuroprotectoras más efectivas.

Recibido: 12 enero 2009. Aceptado: 6 febrero 2009.

Institute for Neurocience, University of Texas at Austin.
Correspondencia: Julio C. Rojas. University Station A2500 Austin,
Texas, United States 78712-0136. E-mail:
julio.rojas@mail.utexas.edu

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer, neurodegeneración, ovillos neurofibrilares, patogénesis, placas neuríticas, reelina.

CORTICOGÉNESIS AND NEURODEGENERATION: IMPLICATIONS OF THE REELIN PATHWAY IN ALZHEIMER'S DISEASE

ABSTRACT

The reelin pathway regulates interactions between migrating neurons and radial glia. The activation of this pathway is fundamental during the process of normal corticogenesis. The reelin pathway influences the cytoskeleton dynamics as well as the neural mechanisms of learning and memory and it may also play a critical role during neurodegenerative events. The reelin pathway may be disrupted by oxidative stress, excitotoxicity and other cellular anomalies caused by endogenous and exogenous factors. When disrupted, cytoskeleton components are inefficiently processed giving place to the protein aggregates that characterize Alzheimer's disease. Such aggregates have been associated with the activation of the apoptotic cascade. Neuritic plaques and neurofibrillary tangles are not innocuous byproducts of neurodegeneration, since their presence induces neuroinflammation, cell death and cognitive impairment. However, it is possible that the clinical picture of Alzheimer's disease is perpetuated, but not initially caused by these protein aggregates. Elements of the Reelin pathway could represent targets of neuronal vulnerability mediating degenerative changes in the cortical pathways associated to Alzheimer's disease. Characterization of the reelin pathway could improve the understanding of the

interactions between the risk factors associated with Alzheimer's disease and could facilitate the development of novel and effective neuroprotective interventions.

Key words: Alzheimer's disease, neuritic plaques, neurodegeneration, neurofibrillary tangles, pathogenesis, reelin.

La vía de la reelina (VR) es un sistema de transducción intracelular que regula el desarrollo normal de la corteza cerebral. Recién se ha propuesto la existencia de una posible asociación entre la disfunción de la VR y la patogenia de ciertas enfermedades neurodegenerativas. Se ha dado especial atención a la enfermedad de Alzheimer (EA), una entidad clínica con alta prevalencia, etiología incierta y para la cual no existen medidas preventivas o terapéuticas efectivas. La VR regula la dinámica del citoesqueleto, mecanismos de memoria y aprendizaje en la actualidad se ha sugerido que su disfunción podría producir neurodegeneración al promover un procesamiento defectuoso de los componentes del citoesqueleto, con la consecuente formación de agregados protéicos característicos de la EA (como las placas de amiloide y ovillos neurofibrilares) y activación de la cascada apoptótica. La presente es una breve revisión del papel que juega la VR en el desarrollo de la corteza cerebral y resume la evidencia disponible acerca de su relación con la neurodegeneración en la EA.

El proceso de corticogénesis

La corteza cerebral es una estructura laminada organizada en seis diferentes capas, cada una de las cuales contiene neuronas con propiedades morfológicas y fisiológicas similares. Entre dichas capas, existen conexiones que facilitan la integración y modulación en serie, en paralelo de la información. Así, el correcto procesamiento e integración de la información necesaria para el desempeño de funciones biológicas de alta complejidad como la generación de movimiento, percepción, memoria o la conciencia, dependen de una adecuada disposición de las neuronas corticales en columnas funcionales. Esta organización es el resultado de una serie de eventos que ocurren durante el desarrollo embrionario y que incluyen: proliferación celular, migración de precursores neuronales y organización de la corteza¹. El paso inicial de la corticogénesis es la formación de una estructura denominada capa plexiforme primitiva entre la superficie pial y la zona ventricular¹ (figura 1A). La capa

plexiforme primitiva contiene las neuronas generadas más tempranamente en el desarrollo de la corteza e incluye a las células de Cajal-Retzius (CR) y las neuronas GABAérgicas productoras de reelina, así como sus procesos aferentes y eferentes². Estas células forman una red neural con actividad espontánea durante etapas tempranas del desarrollo y reciben aferentes talámicas, entorrinales y del tallo cerebral, formando sinapsis con las dendritas apicales de las células piramidales^{3,4}. Mas del 95 por ciento de las células CR involuciona durante las primeras semanas de la vida posnatal, una vez que la migración neuronal se ha completado⁵.

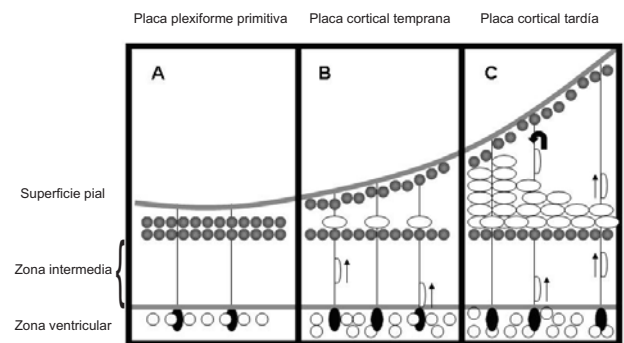


Figura 1. Modelo del proceso natural de corticogénesis. A. La placa plexiforme primitiva consiste en dos capas de células de Cajal-Retzius (gris) y células GABAérgicas, productoras de reelina. Los progenitores neuronales (blanco) y la glia radial (negro) proliferan en la zona ventricular. B. Después de la división asimétrica, las primeras neuronas utilizan las proyecciones de la glia radial (flechas) para atravesar la zona intermedia y se establecen entre las dos capas de la placa plexiforme primitiva. C. Las neuronas siguientes se establecen paulatinamente en forma superficial a las neuronas que han arribado tempranamente a la corteza en desarrollo y alcanzan posiciones cada vez más cercanas a la superficie pial de la placa cortical (mecanismo de *adentro hacia fuera*). La reelina tiene un papel crítico como mediador químico de las interacciones entre glia radial, neuronas y matriz extracelular, durante el proceso migratorio (flechas curvadas).

Existen al menos dos formas de migración neuronal: migración radial y migración tangencial. En la migración radial, los precursores neuronales se generan en la zona ventricular e invaden la capa plexiforme formando una estructura conocida como lámina cortical⁶. Las neuronas generadas en la zona ventricular emigran con una trayectoria radial, pasando sistemáticamente a través de la zona intermedia, formada por axones primitivos, y se sitúan en la lámina cortical, de forma superficial a las neuronas posicionadas más tempranamente. Así, este proceso de migración y laminación se lleva a cabo “*de adentro hacia fuera*”, permitiendo que las neuronas más

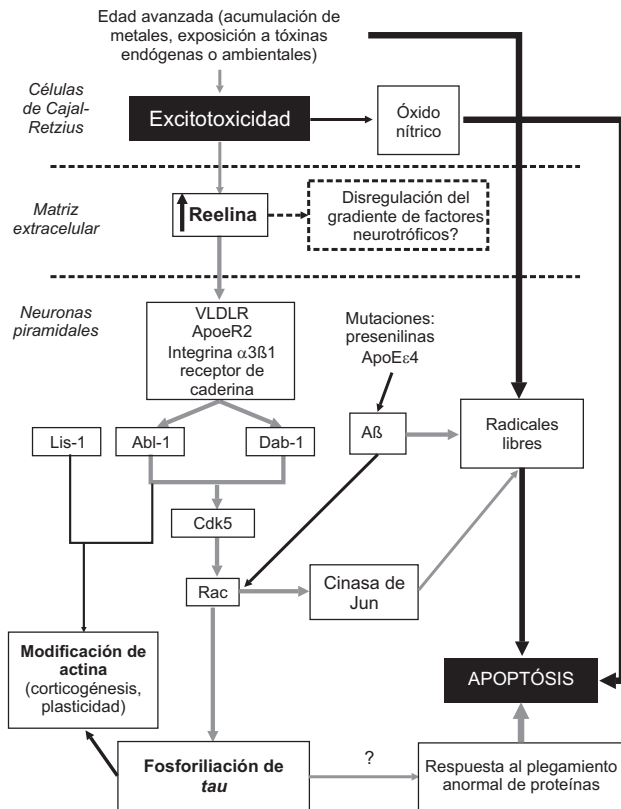


Figura 2. Modelo de regulación de eventos neurodegenerativos por elementos de la vía de la reelina. Los factores de riesgo asociados a la edad incrementan directamente (flechas negras) el estrés oxidativo y producen apoptosis. Los mismos factores de riesgo ejercen un efecto excitotóxico en las células de Cajal-Retzius de la corteza cerebral, causando secreción de reelina e hiperactivación de los efectores corriente abajo en las neuronas piramidales. La activación de la vía de la reelina podría estar indirectamente asociada a la inducción de apoptosis en las neuronas corticales (flechas grises).

jóvenes se sitúen en estratos más superficiales¹. Una vez en la lámina cortical, las neuronas proceden a diferenciarse y a desarrollar axones y arborizaciones dendríticas. Durante este tipo de migración, las neuronas interactúan con los procesos de las células gliales localizadas en la zona ventricular. Dichos procesos están dispuestos en forma radial desde la zona ventricular hasta la superficie pial⁷. Las células gliales no únicamente proveen a las neuronas de un sustrato físico que facilita la organización columnar de la corteza, sino que además participan en la activación de un sistema de señales que regula el comportamiento de las neuronas en la lámina cortical⁸ (figura 1B y 1C). Por otro lado, en la migración tangencial, la gran mayoría de los precursores neuronales se origina en las prominencias ganglionicas del prosencéfalo basal y se dispersan tangencialmente en el telencefalo ventral dando origen a las neuronas corticales no piramidales⁹.

El fenotipo "reeler"

Las vías bioquímicas que regulan los eventos celulares durante la corticogénesis no son comprendidos en su totalidad, pero se sabe que imponen restricciones temporales en migración neuronal y que promueven las interacciones celulares necesarias para especificar la localización de las neuronas en la corteza. Estas vías bioquímicas se han estudiado gracias a la caracterización anatómica y neuropsicológica del ratón "reeler" (tambaleante), un mutante que ha aportado pistas importantes para identificar los efectores moleculares del complejo proceso de corticogénesis.

El ratón *reeler* se caracteriza por una marcha atáxica y por exhibir defectos morfológicos en prácticamente todo el sistema nervioso central, incluyendo corteza cerebral, cerebelo, hipocampo, mesencéfalo y médula espinal^{9,10}. Su defecto más sobresaliente consiste en una inversión de la posición relativa de las diferentes capas que constituyen las estructuras laminadas del cerebro. Caviness y Sidman¹⁰ describieron que este arreglo displásico es el resultado de una mutación en un gen o grupo de genes cuya función es crucial en el control del posicionamiento celular en las diversas capas durante el desarrollo de estructuras laminadas en el sistema nervioso central^{11,12}. Asimismo, estas malformaciones no parecen ser el resultado de alteraciones en el número o proporción de los diferentes subtipos neuronales. De hecho, la organización de los principales sistemas y las respuestas electrofisiológicas individuales de las neuronas son comparables a las de las neuronas de los cerebros normales. En el mutante *reeler*, las diferentes clases de neuronas no respetan el mecanismo de migración radial de "adentro hacia fuera" como lo hacen sus contrapartes en la corteza normal. Así, las neuronas más jóvenes residen en las capas más profundas, bajo las neuronas generadas tempranamente, lo cual viola el plan fundamental de ensamblaje cortical conocido¹⁰. Además, dichas aberraciones también se acompañan de cambios en la densidad y distribución de sinapsis en el cerebelo, hipocampo y corteza piriforme¹², lo cual sugiere que el gen o genes afectados en el fenotipo *reeler* también participan en la organización ultraestructural del sistema nervioso. Dicha evidencia sugiere que los defectos genéticos en el ratón *reeler* afectan las interacciones entre las neuronas emigrantes y sus guías gliales, así como las interacciones entre las neuronas destinadas a capas específicas de la corteza.

Componentes moleculares de la vía de la reelina

Varias mutaciones se han asociado al fenotipo *reeler*, incluyendo mutaciones en los genes *Reelin*¹², *Disabled-1* (*Dab-1*)¹³ y mutaciones combinadas de los genes del receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDLR*) y del receptor 2 de la apoproteína E (*ApoER2*)¹⁴. Otras mutaciones asociadas al fenotipo *reeler* se han descrito en los genes de la cinasa dependiente de ciclina 5 (*Cdk5*), o de su subunidad activadora *p35*¹⁵, así como deleciones de *fyn* y *src*, miembros de la familia *src* de cinasas¹⁶. Los productos de todos estos genes forman parte de la vía de la reelina (*VR*) (tabla 1).

Tabla 1. Elementos moleculares de la vía de la reelina.

Tabla 1. Elementos moleculares de la vía de la reelina		
Molécula	Función	Implicaciones en la enfermedad de Alzheimer
Reelina	Secretada por las células de Cajal-Retzius. Se une a <i>VLDLR</i> , <i>ApoER2</i> y <i>CNR</i> .	Niveles aumentados en el LCR de pacientes con enfermedades de Alzheimer y Pick.
Receptor de lipoproteína de muy baja densidad (<i>VLDLR</i>)	Receptor de reelina. Promueve la fosforilación de <i>Dab-1</i> .	Polimorfismos asociados a riesgo elevado de padecer enfermedad de Alzheimer. Asociado a defectos de memoria, defectos en potenciación a largo plazo e hiperfosforilación de tau.
Receptor de apoproteína E 2 (<i>ApoER2</i>)	Receptor de reelina. Promueve la fosforilación de <i>Dab-1</i> .	Polimorfismos en el receptor y su ligando (<i>ApoE</i> épsilon-4) asociados a riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer. Actividad asociada a hiperfosforilación de tau.
Receptores de caderina neuronal (<i>CNR</i>)	Promueve interacciones célula-célula. Activa las proteínas Rho.	-
Integrina alfa 3, beta 1	Modula la migración neuronal y active a <i>Cdk5</i> .	-
<i>Disabled-1</i> (<i>Dab1</i>)	Proteína adaptador. Promueve dimerización y expresión de receptores. Transduce señales intracelulares.	Se une a la proteína precursora de amiloide y promueve la activación de <i>Rac</i> .
<i>Lis-1</i>	Proteína de asociación a microtúbulos. Regula la migración neuronal.	-
Ciclina dependiente de cinasa 5 (<i>Cdk5</i>)	Cinasa de treonina/serina. Implicada en la migración neuronal y el crecimiento de neuritas.	Regula la hiperfosforilación de tau. Asociada a neurodegeneración.
Proto-oncogen Abelson (<i>Abl</i>)	Regula la dinámica del citoesqueleto de actina. Activa a <i>Cdk5</i> .	Asociado a la neurotoxicidad inducida por el amiloide beta.
Familia Rho de GTPasas	Inducen apoptosis neuronal	-

La primera mutación en esta vía fue descrita en el gen de la reelina, el cual codifica para una glucoproteína de 388 kDa y 3461 aminoácidos^{17,18}. El producto de este gen contiene un péptido señal seguido por una secuencia N-terminal y una región en bisagra con un 25 por ciento de similitud con la secuencia F-espondina. Corriente abajo de esta última, se encuentran ocho "fragmentos homólogos de reelina" de 350 a 390 aminoácidos, subdivididos en subfragmentos A y B, los cuales están separados por secuencias de 30 aminoácidos similares a la del factor de crecimiento epidérmico¹⁸. Tal y como lo predice su estructura química, la reelina es secretada a la matriz extracelular y tiene actividad de proteasa de

serina¹⁹. Los aminoácidos con carga positiva del extremo C-terminal son necesarios para su correcta secreción a la matriz extracelular. El fragmento CR-50, un epítipo compuesto de 230 a 246 aminoácidos y localizado cerca del extremo N-terminal es esencial para las interacciones electrostáticas reelina-reelina que producen un homopolímero soluble con estructura fibrilar. *In vivo*, este último está conformado por monómeros de hasta 40 unidades. Esta multimerización es esencial para la correcta función biológica de la reelina²⁰.

La reelina ejerce su acción gracias a su afinidad por diversos receptores de superficie en los precursores neuronales en estadio de migración. Estos incluyen los receptores *ApoER2*, *VLDLR*, receptor neuronal de caderinas (*CNR*) y la integrina alfa-3, beta-1²¹⁻²³. Antes de su acoplamiento con el receptor, la reelina es escindida entre los fragmentos homólogos de reelina 2 y 3 y entre los fragmentos 6 y 7²⁴, lo cual resulta en tres fragmentos finales²⁵. El fragmento central está compuesto por los fragmentos homólogos 3-6 y es necesario y suficiente para su acoplamiento a los sitios de unión en *ApoER2* y *VLDLR*²⁶. La interacción con estos receptores induce su aglomeración y dimerización/oligomerización a través de la fosforilación de los residuos de tirosina del adaptador proteico *Dab-1*, lo cual ocurre en la porción citoplásmica de la membrana celular²⁶. La fosforilación de *Dab-1* es mediada por la actividad de proteínas con actividad de tirosina cinasa pertenecientes a la familia *Src*, las cuales son conocidas por regular la supervivencia, proliferación, diferenciación y motilidad en diversos tipos celulares. Los ratones con doble mutación para *fyn* y *src* muestran una disminución de la fosforilación de *Dab-1*, inversión de la laminación cortical y formación anormal de la capa de células de Purkinje en el cerebelo¹⁶. Después de su activación, *Dab-1* promueve un incremento en la expresión de los receptores de reelina e inicia una cascada intracelular que regula el patrón de migración de las neuronas corticales²⁷. El cómo se propaga el mensaje intracelular a partir de la activación de *Dab-1* es aun incierto, pero comienza a haber evidencia preliminar (tabla 1). Por ejemplo, el proto-oncogen Abelson (*Abl*) participa en la regulación de la dinámica del citoesqueleto de actina en las uniones adherentes y las espinas dendríticas; la pérdida de su actividad ocasiona anomalías en la migración neuronal en la neocorteza e hipocampo, aberraciones en la morfología y densidad de las espinas dendríticas y deficiencias severas de memoria y aprendizaje²⁸. La proteína *abl*, funciona en conjunto con *Dab-1* para activar a *Cdk5*, la cual es una cinasa de serina/treonina

implicada en la migración neuronal y el crecimiento de neuritas. Los modelos murinos con deficiencia de Cdk5 no sobreviven la etapa embrionaria avanzada o perinatal debido a la presencia de numerosas malformaciones del sistema nervioso central, incluyendo defectos de laminación en la corteza cerebral y disgenesia del hipocampo y cerebelo²⁹. Abl y Dab-1 también regulan la motilidad y orientación del cono de crecimiento axonal y la dendrogénesis, a través de la regulación del citoesqueleto mediada por la familia Rho de GTPasas, en particular Rac³⁰. Se ha demostrado también que Lis-1, un producto asociado al aparato microtubular y la modulación de la migración neuronal, se une a Dab-1 de manera dependiente de la actividad fosforilativa de reelina³¹. Ciertas líneas de ratones con mutaciones en los genes de reelina o sus receptores y con heterocigosidad para mutaciones de Lis-1 presentan un aumento en defectos de laminación cortical y del hipocampo, en comparación con las líneas que presentan únicamente una de esas alteraciones genéticas³¹.

La reelina también interacciona con dos tipos adicionales de proteínas de superficie neuronales: integrinas y caderinas (CNR). La reelina se une al receptor de integrinas alfa-3, beta-1 y modula la migración neuronal *in vitro*²³. Li, *et al*³² demostraron que la integrina alfa-3, beta-1 estimula la actividad de cinasa de Cdk5 y que los ratones con deficiencia de la integrina alfa-3, beta-1 muestran defectos de interacción celular entre los precursores neuronales y la glía radial, los cuales producen ectopias y heterotopias corticales. Las CNR participan en interacciones intercelulares homofílicas y heterofílicas y están ligadas a las cateninas alfa y beta del citoesqueleto de actina. Además, promueven la activación de miembros de la familia Rho de GTPasas.

Aun no es claro cómo este sistema de señales intracelulares determina el destino de los precursores neuronales en proceso de migración. El patrón temporal y espacial de expresión de reelina, sin embargo, sugiere que la vía bioquímica activada por esta molécula ejerce una función de crucial importancia durante las fases finales de la migración. La expresión de reelina persiste en la zona marginal durante la corticogénesis, lo cual sugiere que todas las neuronas en proceso de migración están expuestas a reelina después de alcanzar la parte distal de la glía radial³³. Algunos de los mecanismos de acción de la reelina que ameritan confirmación incluyen: **1.** Primero, la reelina podría actuar como una señal de terminación o como un regulador negativo de la migración neuronal, induciendo cambios en las interacciones

intercelulares y desprendimiento de la glía radial (figura 1C). **2.** Así mismo, dado que los mutantes *reeler* presentan glía radial inmadura y desorganizada que tiende a diferenciarse prematuramente en astrocitos, la reelina podría influenciar la organización y el periodo de vida de la glía radial^{34,35}. **3.** Además, la reelina podría inducir efectos celulares autónomos al iniciar el movimiento celular o al actuar como factor de quimioatracción³⁶. **4.** La reelina también podría actuar en conjunto con otras señales quimiotácticas o de quimiorrepulsión durante la migración neuronal y la formación de los circuitos sinápticos. **5.** Por último, la reelina podría ser un elemento clave de la matriz extracelular, estructura importante en la localización de factores neurotróficos para la promoción de la supervivencia neuronal^{37,38}.

Asimismo, la función de la reelina podría no estar restringida al periodo embrionario. Existe evidencia que muestra que su función sigue siendo importante en organismos adultos⁵. La reelina se expresa en las regiones anteriores del cerebro adulto y se acumula en las densidades posinápticas del hipocampo y la neocorteza³⁹. En el mono adulto, la gran mayoría de las neuronas cerebrales, incluyendo las interneuronas y las neuronas de proyección, muestran inmunorreactividad para reelina. Dicha inmunorreactividad se localiza principalmente en los cuerpos neuronales y las proyecciones axonales de mayor tamaño, aunque también pueden encontrarse en el neuropilo⁴⁰. Además de las células de Cajal-Retizus y las neuronas GABAérgicas (CR), la reelina también es secretada por las células granulosas del cerebelo y las interneuronas del hipocampo durante el desarrollo y en cantidades más pequeñas en el cerebro de los mamíferos adultos⁴¹. Además, a pesar de que los niveles de reelina disminuyen con la edad, ApoER2, VLDLR, la integrina alfa-3, beta-1 y Dab-1 mantienen sus niveles de expresión en los cerebros adultos, lo que sugiere que la activación de la vía de la reelina podría ser de importancia en el cerebro adulto, a través de la acción de otros agonistas^{5,41,42}.

Un ejemplo de la posible trascendencia de la activación de la VR en el cerebro adulto es la evidencia reciente de su participación en los mecanismos celulares de memoria y aprendizaje. Se ha demostrado que la reelina induce potenciación a largo plazo en preparaciones de hipocampo y que facilita el desarrollo de dendritas *in vitro*⁴³. La complejidad dendrítica se ve severamente reducida en ratones homocigotos deficientes en activación de la vía de la reelina *in vivo* e *in vitro*. Dicho cambio también se presenta en ratones heterocigotos, aunque en ausencia de ectopia celular⁴⁴. Se ha demostrado, así mismo, que el creci-

miento de dendritas puede ser inhibido mediante el uso de anticuerpos anti-reelina, antagonistas de receptores de reelina e inhibidores de la fosforilación de Dab-1. En dichas condiciones también se logró reinducir la formación adecuada de dendritas y sinapsis mediante la adición de reelina recombinante⁴⁵. Además, los ratones con haploinsuficiencia para reelina muestran una inhibición significativa de la adquisición de miedo condicionado contextual⁴⁶. Esta evidencia sugiere que la VR afecta la morfología y la fisiología celular, tanto en el cerebro en desarrollo como en el del adulto.

Enfermedad de Alzheimer y vía de reelina

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo que se caracteriza por deterioro progresivo de la memoria y otras funciones cognitivas. La histopatología de la EA incluye una disminución en el número de sinapsis y neuronas, degeneración granulovacuolar confinada al hipocampo, angiopatía amiloide y presencia de dos lesiones características constituidas por agregados proteicos: las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares⁴⁷. Estas dos últimas han sido consideradas elementos clave en la patogenia de la EA. La VR podría tener un papel patogénico importante en la EA. La idea central de esta hipótesis, es que una activación inapropiada de la VR podría actuar en forma sinérgica con la activación de otras cascadas bioquímicas asociadas a daño celular, estrés oxidativo y excitotoxicidad, promoviendo la formación de los agregados proteicos y muerte neuronal.

La placa neurítica de beta amiloide

La placa neurítica es una estructura extracelular esférica de 50 a 200 micrómetros de diámetro, presenta un núcleo central inmunoreactivo para beta-amiloide rodeado de neuritas distróficas. Las neuritas usualmente contienen filamentos helicoidales en pares, procesos gliales y organelos anormales. Además del beta amiloide, las placas neuríticas también contienen proteína *tau*, alfa-1 antitripsina, apolipoproteína E (ApoE) y glucosaminoglucanos. En las placas neuríticas también se ha hallado reelina precipitada junto con la proteína precursora de amiloide, así como trazas de Cu, Zn y Fe^{48,49}. Algunos astrocitos reactivos y células de la microglia también pueden encontrarse en el centro de las placas o su periferia⁵⁰.

El papel de las placas neuríticas en la patogenia de la EA se ha tornado controvertido en años recientes.

Por un lado, se aceptaba en un principio que las placas de amiloide eran la causa directa de la EA, debido a su abundancia en los cerebros de pacientes con la enfermedad y a evidencia emanada de estudios *in vitro* que demostraron sus propiedades citotóxicas. De hecho, se aceptaba que la deposición de beta amiloide y formación de la placa neurítica constituían el paso inicial en la neurodegeneración^{47,51}. Sin embargo, el beta amiloide puede detectarse en el cerebro de sujetos sanos de edad avanzada y sin déficit cognitivo, algunas veces en grandes cantidades⁵². El punto más ríspido de la teoría de las placas de amiloide como agentes etiológicos de la EA es que hasta la fecha no se ha demostrado que la prevención de su formación o la de fragmentos amiloidogénicos se correlacione con mejoría conductual en modelos murinos de EA o en pacientes⁵³. Estos hallazgos contradictorios más bien sugieren que aun cuando se puede atribuir un rol etiológico a las placas de amiloide, es también posible que las mismas tan sólo exacerben o perpetúen algún otro proceso patológico causante de la neurodegeneración.

Ovillos neurofibrilares

Los ovillos neurofibrilares representan otro cambio histopatológico distintivo de la EA. Estas estructuras consisten en pares de filamentos helicoidales citoplásmicos formados por protofilamentos que contienen proteína *tau* hiperfosforilada dispuesta en forma de túbulo. *Tau* es una proteína asociada a microtúbulos de 55 kDa que se expresa abundantemente en el cerebro. Los ovillos neurofibrilares son inmunoreactivos para el antígeno A-68, la proteasa caseína cinasa 2, nexina 1, el factor de crecimiento de fibroblastos, la proteína asociada a microtúbulos 5, ubiquitina y beta amiloide⁴⁷. Las células piramidales son las neuronas más propensas a la formación de ovillos neurofibrilares, en particular aquellas con proyecciones ipsilaterales córtico-corticales de gran tamaño. Los ovillos neurofibrilares ocasionan muerte de las neuronas en las cuales se generan, aunque la muerte celular en la EA también ocurre en regiones con escasos ovillos. Se ha sugerido que los ovillos neurofibrilares son lesiones menos específicas de la EA que las placas de amiloide, las cuales son características de la misma y del envejecimiento normal, aunque esta idea es aun controvertida. En un estudio prospectivo con pacientes con EA, la presencia tanto de placas de amiloide como de ovillos neurofibrilares se correlacionaron positivamente con la duración de la enfermedad⁵⁴. Además, se ha observado que la mayoría de los indi-

viduos con capacidades cognitivas normales cerca del momento de su muerte presenta niveles mínimos de patología neurítica *tau* positiva⁵². Por otro lado, algunos hallazgos sugieren que es el número de ovillos neurofibrilares lo que se correlaciona más fuertemente con la pérdida neuronal y demencia y no el número de placas de amiloide, lo cual aumenta el debate acerca de la función real de estos dos agregados protéicos en la patogénesis de la EA⁵⁵. También es posible que, más que tener un efecto neurotóxico, las placas de amiloide y ovillos neurofibrilares podrían ser marcadores incidentales o incluso protectores en la enfermedad. A través de un mutante condicional del gen *tau*, se ha demostrado que la expresión de la proteína *tau* mutante induce neurodegeneración dependiente de la edad, además de atrofia cerebral, lesiones *tau* positivas y anomalías en la memoria espacial. Después de la desactivación del gen mutante; sin embargo, la formación de placas neurofibrilares continúa acompañada de una estabilización de la tasa de pérdida neuronal y atrofia cerebral y, sorprendentemente, mejoría de la memoria⁵⁶. Ello indica que es posible que sea un proceso aun no identificado, y no la formación de ovillos o placas, lo que inicie el proceso neurodegenerativo.

Con el paso de los años, se ha acumulado evidencia que sugiere que la disrupción de la VR podría estar asociada a la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares y procesos degenerativos. Por enfermedad de Alzheimer, Pick o demencia fronto-temporal presentan niveles elevados de reelina en el líquido cefalorraquídeo en comparación con sujetos normales⁵⁷. Así mismo, los polimorfismos genéticos en ApoER2 y VDRDLR confieren un riesgo elevado de desarrollar EA⁵⁸. Una variante específica del ligando de ApoER2, ApoE-epsilon 4, es también un factor de riesgo genético para el desarrollo de EA⁵⁹. Se ha propuesto que ApoE-epsilon-4 actúa como un chaperón molecular patológico que contribuye en la polimerización del beta amiloide en láminas plegadas beta o retarda su degradación⁶⁰. Otros elementos de la VR también han sido asociados a eventos neurodegenerativos y patogenia de la EA en estudios preclínicos. La proteína Cdk5 y su cofactor p35 son mediadores importantes de la hiperfosforilación de tau y las mutaciones en ApoER2 y VLDLR promueven un aumento sustancial en la fosforilación de tau²². La actividad aumentada de Cdk5 produce aumento en la fosforilación de tau y neurodegeneración *in vitro*⁶⁰. Otro estudio demostró que la neurotoxicidad inducida por el beta amiloide se asocia con un incremento en la actividad de Abl, lo que sugiere que el efecto proa-

poptótico del beta amiloide podría estar mediado por este componente de la VR⁶¹. Abl activa a miembros de la familia Rho de GTPasas, en particular a Rac, que es un mediador esencial de la producción de superóxido⁶². Rac también promueve la activación de la cinasa de Jun, un conocido estimulador de apoptosis neuronal⁶³. La proteína precursora de amiloide puede ligarse a Dab-1 y modular tanto su interacción con Abl como la activación de Rac y Cdk5⁶⁴. Dado que la actividad de Cdk5 se correlaciona con los niveles de fosforilación de tau, la activación de Rac podría ser un punto patogénicamente relevante, al constituir la convergencia entre la génesis de las dos lesiones histológicas características de la EA.

La vía de la reelina, estrés oxidativo y excitotoxicidad

El estrés oxidativo, mediado por las especies reactivas de oxígeno, y generado en su inicio por el envejecimiento, isquemia o disfunción mitocondrial, parece jugar un papel causal importante en la neurodegeneración. Las especies reactivas de oxígeno son generadas durante las funciones fisiológicas normales de la célula, por la interacción del oxígeno molecular con diversas metaloenzimas⁶⁵. El cerebro normalmente concentra iones metálicos, pero una disrupción en la homeostasis de los metales cerebrales podría aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno⁶⁶. Las placas de amiloide contienen altas concentraciones de metales, por lo que éstas podrían ser una fuente importante de especies reactivas de oxígeno⁶⁶. Las especies reactivas de oxígeno modifican la estructura protéica, induciendo oxidación o nitrosilación de residuos susceptibles específicos e inducen apoptosis⁶⁷. Tanto las placas de amiloide como los ovillos neurofibrilares podrían propagar la señal apoptótica mediante incrementos locales de especies reactivas de oxígeno mediadas por la presencia de iones metálicos. Así, el estrés oxidativo podría causar plegamiento anómalo de proteínas⁶⁸, degradación protéica anormal e inducir agregados protéicos. Es posible que la formación de placas de amiloide y ovillos neurofibrilares sea un fenómeno perpetuado por la misma presencia de dichas estructuras, pero inicialmente inducido por un aumento de estrés oxidativo.

La excitotoxicidad parece también ser clave en los eventos neurodegenerativos. La excitotoxicidad es ocasionada por una liberación excesiva de glutamato que ocasiona despolarización posináptica descontrolada e incremento masivo en el flujo de calcio a través de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos tipo NMDA (NMDAR). Los niveles excesivos de calcio

intracelular inducen neuroinflamación y muerte neuronal, principalmente mediante aumento de estrés oxidativo y activación de proteasas, lipasas y endonucleasas⁶⁹. Se ha demostrado que la activación de la VR aumenta potentemente la actividad de los NMDAR y modula la plasticidad sináptica y transcripción génica dependiente de la actividad neural al incrementar las corrientes en las sinapsis maduras⁷⁰. La reelina también incrementa la fosforilación de residuos de tirosina en los NMDAR mediante un mecanismo que requiere la actividad de Dab-1. La reelina potencia el influjo de calcio, fosforilación y translocación nuclear del factor de transcripción CREB⁷⁰. Estos efectos podrían ser relevantes en la modulación de los mecanismos moleculares de memoria y aprendizaje, también podrían ser relevantes en la inducción de agregación protéica y neurodegeneración mediada por excitotoxicidad. La hiperexcitación de las células CR podría producir hipersecreción de reelina, hiperactivación de la VR y el concomitante aumento en la activación de los NMDAR, excitotoxicidad, aumento en la fosforilación protéica, plegamiento anormal y agregación. Se ha descrito que aunque los ovillos neurofibrilares son ricos en proteína *tau* hiperfosforilada, edema y pérdida neuronal usualmente se colocalizan con áreas inmunorreactivas para proteína *tau* hiperfosforilada aun en ausencia de ovillos neurofibrilares⁷¹. En estos casos, la pérdida neuronal es selectiva para poblaciones celulares específicas, principalmente en corteza transentorrinal, regiones límbicas y áreas corticales. Las células de CR participan en la transducción de señales apoptóticas hacia las neuronas piramidales mediadas por el óxido nítrico, cuya producción se ha asociado a la activación de los NMDAR, neuroinflamación y apoptosis⁷². Así, el incremento en la producción de óxido nítrico por las células de CR podría reflejar un estado de hiperexcitación y neurotoxicidad crónicos originando propagación de señales apoptóticas de forma anterógrada a través de conexiones córtico-corticales, como se ha demostrado recién⁷². Este modelo predice una mayor vulnerabilidad de las neuronas corticales con conexiones recíprocas y aferentes convergentes múltiples, como es el caso de las neuronas de la corteza de asociación y corteza entorrinal, áreas preferentemente afectadas en pacientes con EA. Es posible que la reelina module estas señales excitotóxicas y promueva la muerte neuronal, independientemente de las placas de amiloide y ovillos neurofibrilares, las cuales perpetuarían daño celular y proceso neurodegenerativo, aunque esta idea requiere confirmación experimental.

CONCLUSIÓN

La evidencia disponible sugiere que los elementos moleculares de la VR podrían mediar mecanismos neurodegenerativos y cambios neuropatológicos característicos de la EA. La VR parece ser uno de los múltiples sistemas intracelulares vulnerables al resultado de la interacción de los diversos factores de riesgo asociados con la patogénesis de esta enfermedad. La caracterización de los componentes y funciones de la VR podría mejorar el entendimiento de los mecanismos neurodegenerativos, lo cual resultaría en la identificación de blancos moleculares para la aplicación de nuevas estrategias neuroprotectoras.

REFERENCIAS

- Hatten ME. Central nervous system neuronal migration. *Ann Rev Neurosci* 1999; 22: 511-39.
- del Rio JA, Martínez A, Fonseca M, Auladell C, Soriano E. Glutamate-like immunoreactivity and fate of Cajal-Retzius cells in the murine cortex as identified with calretinin antibody. *Cereb Cortex* 1995; 5: 13-21.
- Aguilo A, Schwartz TH, Kumar VS, Peterlin ZA, Tsiola A, Soriano E, et al. Involvement of cajal-retzius neurons in spontaneous correlated activity of embryonic and postnatal layer 1 from wild-type and reeler mice. *J Neurosci* 1999; 19: 10856-68.
- Radnikow G, Feldmeyer D, Lubke J. Axonal projection, input and output synapses, and synaptic physiology of Cajal Retzius cells in the developing rat neocortex. *J Neurosci* 2002; 22: 6908-19.
- H Abraham, G Meyer. Reelin-expressing neurons in the postnatal and adult human hippocampal formation. *Hippocampus* 2003; 13: 715-27.
- Marin-Padilla M. Cajal-Retzius cells and the development of the neocortex. *Trends Neurosci* 1998; 21: 64-71.
- Noctor SC, Flint AC, Weissman TA, Dammerman RS, Kriegstein AR. Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 2001; 409: 714-20.
- Wichterle H, Turnbull DH, Nery S, Fishell G, Alvarez-Buylla A. In utero fate mapping reveals distinct migratory pathways and fates of neurons born in the mammalian basal forebrain. *Development* 2001; 128: 3759-71.
- Caviness VS. Neocortical histogenesis in normal and reeler mice: a developmental study based upon [3H] thymidine autoradiography. *Brain Res* 1982; 256: 293-302.
- Caviness VS, Sidman RL. Retrohippocampal, hippocampal and related structures of the forebrain in the reeler mutant mouse. *J Comp Neurol* 1973; 147: 235-54.
- Herrup K. Roles of cell lineage in the developing mammalian brain. *Curr Top Dev Biol* 1987; 21: 65-97.
- Rice DS, Curran T. Role of the Reelin signaling pathway in central nervous system development. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 1005-39.
- Sweet HO, Bronson RT, Johnson KR, Cook SA, Davisson MT. Scrambler, a new neurological mutation of the mouse with abnormalities of neuronal migration. *Mamm Genome* 1996; 7: 798-802.
- Trommsdorff M, Gotthardt M, Hiesberger T, Shelton J, Stockinger W, Nimpf J, et al. Reeler/Disabled-like disruption of

- neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. *Cell* 1999; 97: 689-701.
15. Chae T, Kwon YT, Bronson R, Dikkes P, Li E, Tsai LH. Mice lacking p35, a neuronal specific activator of Cdk5, display cortical lamination defects, seizures, and adult lethality. *Neuron* 1997; 18:29-42.
 16. Kuo G, Arnaud L, Kronstad-O'Brien P, Cooper JA. Absence of fyn and src causes a reeler-like phenotype. *J Neurosci* 2005; 25: 8578-86.
 17. de Bergueyck V, Naerhuyzen B, Goffinet AM, Lambert de Rouvroit C. A panel of monoclonal antibodies against reelin, the extracellular matrix protein defective in reeler mutant mice. *J Neurosci Methods* 1998; 82: 17-24.
 18. D'Arcangelo G, Miao GG, Chen SC, Soares HD, Morgan JL, Curran T. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature* 1995; 374: 719-23.
 19. Lugli G, Krueger JM, Davis JM, Persico AM, Keller F, Smalheiser NR. Methodological factors influencing measurement and processing of plasma reelin in humans. *BMC Biochem* 2003; 4: 9.
 20. Utsunomiya-Tate N, Kubo K, Tate S, Kainosho M, Katayama E, Nakajima K, et al. Reelin molecules assemble together to form a large protein complex, which is inhibited by the function-blocking CR-50 antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9729-34.
 21. D'Arcangelo G, Homayouni R, Keshvara L, Rice DS, Sheldon M, Curran T. Reelin is a ligand for lipoprotein receptors. *Neuron* 1999; 24: 471-9.
 22. Hiesberger T, Trommsdorff M, Howell BW, Goffinet A, Mumby MC, Cooper JA, et al. Direct binding of Reelin to VLDL receptor and ApoE receptor 2 induces tyrosine phosphorylation of disabled-1 and modulates tau phosphorylation. *Neuron* 1999; 24: 481-9.
 23. Dulabon L, Olson EC, Taglienti MG, Eisenhuth S, McGrath B, Walsh CA, et al. Reelin binds alpha 3 beta 1 integrin and inhibits neuronal migration. *Neuron* 2000; 27: 33-44.
 24. Lambert de Rouvroit C, de Bergueyck V, Cortvrindt C, Bar I, Eeckhout Y, Goffinet AM. Reelin, the extracellular matrix protein deficient in reeler mutant mice, is processed by a metalloproteinase. *Exp Neurol* 1999; 156: 214-7.
 25. Jossin Y, Ignatova N, Hiesberger T, Herz J, Lambert de Rouvroit C, Goffinet AM. The central fragment of Reelin, generated by proteolytic processing in vivo, is critical to its function during cortical plate development. *J Neurosci* 2004; 24: 514-21.
 26. Morimura T, Hattori M, Ogawa M, Mikoshiba K. Disabled regulates the intracellular trafficking of reelin receptors. *J Biol Chem* 2005; 17: 16901-8.
 27. Howell BW, Herrick TM, Hildebrand JD, Zhang YN, Cooper JA. Dab1 tyrosine phosphorylation sites relay positional signals during mouse brain development. *Curr Biol* 2000; 10: 877-85.
 28. Grove M, Demyanenko G, Echarri A, Zipfel PA, Quiroz ME, Rodriguiz RM, et al. Disabled-deficient mice exhibit defective cell migration, aberrant dendritic spine morphogenesis, and deficits in learning and memory. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 10905-22.
 29. Zukerberg LR, Patrick GN, Nikolic M, Humbert S, Wu CL, Lanier LM, et al. Cables links Cdk5 and c-Abl and facilitates Cdk5 tyrosine phosphorylation, kinase upregulation, and neurite outgrowth. *Neuron* 2000; 26: 633-46.
 30. Nikolic M, Chou MM, Lu W, Mayer BJ, Tsai LH. The p35/Cdk5 kinase is a neuron-specific Rac effector that inhibits Pak1 activity. *Nature* 1998; 395: 194-8.
 31. Assadi AH, Zhang G, Beffert U, McNeil RS, Renfro AL, Niu S, et al. Interaction of reelin signaling and Lis1 in brain development. *Nat Genet* 2003; 35: 270-6.
 32. Li BS, Zhang L, Gu JG, Amin ND, Pant HC. Integrin alpha(1) beta(1)-mediated activation of cyclin-dependent kinase 5 activity is involved in neurite outgrowth and human neurofilament protein H Lys-Ser-Pro tail domain phosphorylation. *J Neurosci* 2000; 20: 6055-62.
 33. Alcantara S, Ruiz M, D'Arcangelo G, Ezan F, de Lecea L, Curran T, et al. Regional and cellular patterns of reelin mRNA expression in the forebrain of the developing and adult mouse. *J Neurosci* 1998; 18: 7779-99.
 34. Forster E, Tielsch A, Saum B, Weiss KH, Johanssen C, Graus-Porta D, et al. Reelin, Disabled 1, and beta 1 integrins are required for the formation of the radial glial scaffold in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13178-83.
 35. Hartfuss E, Forster E, Bock HH, Hack MA, LePrince P, Luque JM, et al. Reelin signaling directly affects radial glia morphology and biochemical maturation. *Development* 2003; 130: 4597-09.
 36. Soriano E, del Rio JA. The cells of Cajal-Retzius: Still a mystery one century after. 2005 *Neuron* 2005; 46: 389-94.
 37. Chedotal A, Del Rio JA, Ruiz M, He Z, Borrell V, de Castro F, et al. Semaphorins III and IV repel hippocampal axons via two distinct receptors. *Development* 1998; 125: 4313-23.
 38. Celio MR, Blumcke I. Perineuronal nets—a specialized form of extracellular matrix in the adult nervous system. *Brain Res Rev* 1994; 19: 128-45.
 39. Pappas GD, Kriho V, Pesold C. Reelin in the extracellular matrix and dendritic spines of the cortex and hippocampus: a comparison between wild type and heterozygous reeler mice by immunoelectron microscopy. *J Neurocytol* 2001; 30: 413-25.
 40. Martinez-Cerdeno V, Galazo MJ, Cavada C, Clasca F. Reelin immunoreactivity in the adult primate brain: intracellular localization in projecting and local circuit neurons of the cerebral cortex, hippocampus and subcortical regions. *Cereb Cortex* 2002; 12: 1298-311.
 41. Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, et al. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15718-23.
 42. Fatemi SH, Earle JA, McMenomy T. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 654-63.
 43. Weeber EJ, Beffert U, Jones C, Christian JM, Forster E, Sweatt JD, et al. Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning. *J Biol Chem* 2002; 277: 39944-52.
 44. Niu S, Renfro A, Quattrocchi CC, Sheldon M, D'Arcangelo G. Reelin promotes hippocampal dendrite development through the VLDLR/ApoER2-Dab1 pathway. *Neuron* 2004; 41: 71-84.
 45. Lacor PN, Grayson DR, Auta J, Sugaya I, Costa E, Guidotti A. Reelin secretion from glutamatergic neurons in culture is independent from neurotransmitter regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3556-61.
 46. Qiu S, Korwek KM, Pratt-Davis AR, Peters M, Bergman MY, Weeber EJ. Cognitive disruption and altered hippocampus synaptic function in Reelin haploinsufficient mice. *Neurobiol Learn Mem* 2006; 85: 228-42.
 47. Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, Khachaturian ZS. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. *Neurology* 1998; 52: S2-S17.
 48. Wirths O, Multhaup G, Czech C, Blanchard V, Tremp G, Pradier L, et al. Reelin in plaques of beta-amyloid precursor protein and presenilin-1 double-transgenic mice. *Neurosci Lett* 2001; 316: 145-8.
 49. Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WJ, Campbell JL, Markesbery WR. Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *J Neurol Sci* 1998; 158: 47-52.

50. Dickson DW. The pathogenesis of senile plaques. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56: 321-39.
51. Oddo S, Caccamo A, Kitazawa M, Tseng BP, LaFerla FM. Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24:1063-70.
52. Knopman DS, Parisi JE, Salviati A, Floriach-Robert M, Boeve BF, Ivnik RJ, et al. Neuropathology of cognitively normal elderly. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62:1087-95.
53. Rosenberg NG. The molecular and genetic basis of AD: The end of the beginning. *Neurology* 2000; 54: 2045-54.
54. Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, Morris JH, King EM, McDonald B, et al. Relative roles of plaques and tangles in the dementia of Alzheimer's disease: correlations using three sets of neuropathological criteria. *Dementia* 1995; 6: 21-31.
55. Gomez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, Petersen RC, et al. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1997; 41: 17-24.
56. Santacruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, et al. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 2005; 309: 476-81.
57. Saez-Valero J, Costell M, Sjogren M, Andreasen N, Blennow K, Luque JM. Altered levels of cerebrospinal fluid reelin in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2003; 72: 132-6.
58. Helbecque N, Berr C, Cottel D, Fromentin-David I, Sazdovitch V, Ricolfi F, et al. VLDL receptor polymorphism, cognitive impairment, and dementia. *Neurology* 2001; 56: 1183-8.
59. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Genetic dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-3.
60. Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes P, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 1999; 402: 615-22.
61. Alvarez AR, Sandoval PC, Leal NR, Castro PU, Kosik KS. Activation of the neuronal c-Abl tyrosine kinase by amyloid-beta-peptide and reactive oxygen species. *Neurobiol Dis* 2004; 17: 326-36.
62. Goldschmidt-Clermont PJ, Moldovan L. Stress, superoxide, and signal transduction. *Gene Expr* 1999; 7: 255-60.
63. Minden A, Lin A, Claret FX, Abo A, Karin M. Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell* 1995;81:1147-57.
64. Trommsdorff M, Borg JP, Margolis B, Herz J. Interaction of cytosolic adaptor proteins with neuronal apolipoprotein E receptors and the amyloid precursor protein. *J Biol Chem* 1998; 273: 33556-60.
65. Pappolla MA, Omar RA, Kim KS, Robakis NK. Immunohistochemical evidence of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1992;140:621-8.
66. Bush AI. The metallobiology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 2003; 26: 207-14.
67. Yao D, Gu Z, Nakamura T, Shi ZQ, Ma Y, Gaston B, et al. Nitrosative stress linked to sporadic Parkinson's disease: S-nitrosylation of parkin regulates its E3 ubiquitin ligase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 10810-4.
68. Forman MS, Lee VM, Trojanowski JQ. 'Unfolding' pathways in neurodegenerative disease. *Trends Neurosci* 2003;26:407-10.
69. Sattler R, Tymiansky M. Molecular mechanisms of calcium-dependent excitotoxicity. *J Mol Med* 2000; 78: 3-13.
70. Chen Y, Beffert U, Ertunc M, Tang TS, Kavalali ET, Bezprozvanny I, et al. Reelin modulates NMDA receptor activity in cortical neurons. *J Neurosci* 2005; 25: 8209-16.
71. Braak E, Braak H, Mandelkow EM. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 554-67.
72. Koliatsos VE, Dawson TM, Kecojevic A, Zhou Y, Wang YF, Huang KX. Cortical interneurons become activated by deafferentation and instruct the apoptosis of pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14264-9.