



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Possible associació entre el Bisfenol A i el desenvolupament d'Alzheimer: paper de la via de la MAPK.

Samantha Rebeca Godoy Balaguer

Grau de Bioquímica

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Ana María Proenza Arenas
Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Bisfenol A, dimorfisme sexual, estradiol, via de la MAPK, sistema nerviós central, neurulació, neurogènesi, via Wnt, plaques amiloides, agregats neurofibril·lars.

ÍNDEX

RESUM	1
ABSTRACT	1
ABREVIATURES	2
1. INTRODUCCIÓ	3
2. HIPÒTESI I OBJECTIUS	3
3. MATERIALS I MÈTODES	4
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	6
4.1 Bases moleculars del desenvolupament del sistema nerviós central (SNC). Paper de les hormones sexuals.	6
4.1.1 Formació del SNC	6
4.1.2 Neurogènesi	9
4.2 BPA en la formació del SNC i la neurogènesi.....	12
4.3 La malaltia de l'Alzheimer i el possible paper del BPA.....	14
5. CONCLUSIONS	16
6. BIBLIOGRAFIA	17

RESUM

L'Alzheimer és una malaltia neurodegenerativa que es caracteritza per la formació de plaques senils i agregats neurofibril·lars amb la conseqüent aparició de deterior cognitiu progressiu, demència, pèrdua progressiva de la memòria i independència reduïda. Hi ha nombrosos factors que poden incrementar el risc de patir Alzheimer. Concretament, en l'actualitat s'estan estudiant els efectes a nivell neurològic de les exposicions prenatales, postnatales, i a l'edat adulta a disruptors endocrins, substàncies exògenes que causen alteracions en la funció endocrina generant efectes adversos en la salut d'un individu i/o a la seva descendència. Un dels disruptors més estudiats és el Bisfenol A (BPA), un compost químic present en plàstics que poden ser emprats en l'àmbit alimentari. L'objectiu d'aquest treball és, a partir d'una recerca bibliogràfica definida, dilucidar quins són els mecanismes pels quals el disruptor pot provocar alteracions neurològiques.

El desenvolupament del sistema nerviós central (SNC) comprèn el procés de neurulació i neurogènesi (tant a una edat primerenca com a l'adulta), i aquests processos es troben regulats per estrògens de forma que són susceptibles de ser alterats per BPA. Concretament en aquest treball es descriu l'efecte del BPA sobre una via de senyalització implicada a diferents nivells en el desenvolupament del SNC i que es veu regulada pels estrògens. Es tracta de la via de la proteïna quinasa activada per mitògens (*Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK o MAPK/ERK).

Una exposició prenatal-postnatal a BPA pot tenir conseqüències a nivell de formació del SNC i neurogènesi mitjançant l'alteració de la via de la MAPK. Per altra banda, en quant a exposicions a l'edat adulta, la disrupció de la via pot predisposar a l'individu a presentar una patogènia molt similar a la de L'Alzheimer. Cal mencionar que els efectes d'aquestes exposicions a BPA seran diferents en funció del sexe a causa del dimorfisme sexual al cervell; i també en funció de l'edat.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease characterized by the formation of senile and neurofibrillary plaques with the consequent onset of progressive cognitive impairment, dementia, progressive loss of memory and reduced independence. There are numerous factors that may increase the risk of this disease. Specifically, the neurological effects on an individual or his offspring caused by a prenatal, postnatal or adult exposure to endocrine disruptors, exogenous substances that cause alterations in the endocrine function, are being studied. One of the most studied disruptor is Bisphenol A (BPA), a chemical compound present in plastics that can be used in the food field. The objective of this work is, based on a defined bibliographic research, to determine the mechanisms by which the disruptor can cause neurological disorders.

The central nervous system (CNS) development includes neurulation and neurogenesis (at an early age and adulthood), and these are regulated by estrogens, so they are susceptible to being altered by BPA. Specifically, in this work, the BPA effect on a signaling pathway involved at different levels in the development of the CNS and which is regulated by estrogens, is described. This is the mitogen-activated protein kinase (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK or MAPK / ERK) pathway.

A prenatal-postnatal exposure to BPA may have consequences for the CNS formation and neurogenesis by altering MAPK's pathway. On the other hand, an adulthood exposure, by the same way, can predispose to present a similar Alzheimer's disease pathogenesis. It should be mentioned that the BPA exposure effects will be different depending on sex because of the sexual dimorphism in the brain; and on the age.

ABREVIATURES

APC (*adenomatous polyposis coli*)

ARs (*androgen receptors*): receptors d'andrògens

A β : proteïna beta amiloide

BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*): factor neurotròfic derivat del cervell

BPA: Bisfenol A

CK1 α (*casein kinase 1 α*): caseïna quinasa 1 α

CREB (*cAMP-responsive element binding protein*): proteïna d'unió a l'element de resposta a cAMP

DLHP (*dorsolateral hinge points*): punts bisagra dorsolaterals

Dvl: proteïna Dishevelled

E₂: 17 β -estradiol

EMT (*epithelial-mesenchymal transition*): transició epiteli-mesènquima

EREs (*estrogen response elements*): elements de resposta a estrògens

ERs (*estrogen receptors*): receptors d'estrògens

Fzd: receptor Frizzled

GSK3 β (*glycogen synthase kinase-3 β*): quinasa de la glucogen sintasa-3 β

MAPK o MAPK/ERK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*): proteïna quinasa activada per mitògens

MHP (*medium hinge point*): punt bisagra mitjà

NRF1 (*nuclear respiratory factor 1*): factor respiratori nuclear 1

SNC: sistema nerviós central

β -APP (*β -amyloid precursor protein*): proteïna precursora β -amiloide

β -TrCP (*β -transducin repeat-containing protein*)

1. INTRODUCCIÓ

El Bisfenol A (BPA) és un compost químic estructura del qual es compon de dos grups fenols connectats per un pont de metils (veure [Figura 1](#)).

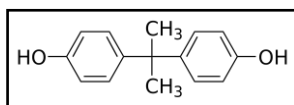


Figura 1. Estructura química del BPA.

En l'actualitat s'empra per a la fabricació de plàstics de policarbonat i resines epòxiques als quals l'ésser humà s'hi exposa, entre altres vies, a través dels envasos de diferents aliments o begudes, que puguin haver estat fabricats amb dit material. Per tant, la principal font d'exposició a BPA és la dieta. Una vegada ingerit, es metabolitza a altres composts menys actius com el glucurònid-BPA i el sulfat-BPA [1]–[3]. De la mateixa forma que qualsevol xenobiòtic, els seus efectes a l'organisme depenen de la dosi, via i durada d'exposició. Així, estudis de toxicologia *in vivo* amb models animals han determinat que una dosi d'entre 20-400 ug/kg/dia és capaç d'interferir en la secreció hormonal [2].

Se'l considera un disruptor endocrí per la seva capacitat d'unió a receptors d'hormones com els receptors d'estrògens (*estrogen receptors*, ERs) presents, entre altres zones, al cervell; generant una resposta alterada de dites hormones sexuals així com dels processos que regulen. Part de dita regulació es duu a terme mitjançant l'activació de vies de senyalització com la de la proteïna quinasa activada per mitògens (*Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK o MAPK/ERK). És a dir, s'associa els estrògens i, per tant a dita via de senyalització, amb processos com la formació del sistema nerviós central (SNC), neurogènesi i neuroprotecció. Pel que fa a aquest darrer terme, fa referència a la protecció que exerceixen els estrògens front la formació de plaques amiloides i fibres neurofibril·lars, dos signes característics de la malaltia de l'Alzheimer. Es tracta d'una malaltia neurodegenerativa que cursa amb deterior cognitiu progressiu, demència, pèrdua progressiva de la memòria i independència reduïda; amb una prevalença a nivell mundial estimada en uns 24 milions de casos que s'incrementa any rere any. El risc de patir la malaltia s'incrementa a partir dels 65 anys d'edat i és més freqüent en dones, fent notable la presència del dimorfisme sexual al cervell [3]–[9].

Per tant, tot plegat indica que els estrògens exerceixen un important paper regulador i protector sobre el sistema nerviós i a partir de la seva alteració per BPA es poden provocar greus conseqüències en el desenvolupament de dit sistema.

2. HIPÒTESI I OBJECTIUS

En aquest treball es planteja la hipòtesi de que una exposició prenatal, postnatal i a l'edat adulta a BPA puguin alterar la via de senyalització de la MAPK i predisposar a l'individu a presentar una patogènia similar a la malaltia de l'Alzheimer.

Per a confirmar la hipòtesi es fa necessari establir els següents objectius:

1. Comprendre els mecanismes moleculars implicats en la formació del SNC i la neurogènesi indicant el paper específic de les hormones sexuals.
2. Conèixer les bases moleculars del desenvolupament de l'Alzheimer.
3. Proposar mecanismes a través dels quals el BPA pot interferir en el desenvolupament del SNC i predisposar a presentar una patogènia similar a la de l'Alzheimer.

3. MATERIALS I MÈTODES

A partir de les idees exposades a l'apartat anterior es defineixen una sèrie de paraules clau que es requeriran en les diferents fases de recerca per a obtenir tota la informació necessària per respondre i resoldre la hipòtesi i objectius definits. Aquestes paraules, indicades en les **Taules 1 i 2**, s'han introduït als següents cercadors: Pubmed, Google, DuckDuckGo, Google Imágenes, Google Académico, Biblioteca virtual de la Universitat de les Illes Balears.

A continuació es procedirà a descriure el procediment que s'ha seguit per a la recerca bibliogràfica d'aquest treball.

En primer lloc, a finals de l'any 2018 (novembre-desembre) i principis del 2019 (gener-febrer) es van cercar publicacions que aportessin informació sobre les següents relacions temàtiques, que foren de rellevant importància per ajudar a resoldre la hipòtesi plantejada:

- Mecanismes d'acció del BPA i efectes sobre el cervell.
- Implicació de les hormones sexuals i de la via de la MAPK sobre el funcionament cerebral.

Els resultats que s'obtingueren en aquesta primera recerca bibliogràfica s'exposen a la **Taula 1**.

A partir de la informació obtinguda en l'anterior recerca aparegueren conceptes com l'alteració de la neurogènesi (tant a edats primerenques com a l'edat adulta) que conduïren a platejar-se noves relacions i a aprofundir més en les ja establertes prèviament, en la segona recerca que es va duu a terme entre abril i juny del 2019. De forma que en aquesta segona fase de recerca es pretenia obtenir informació en relació als següents aspectes:

- Desenvolupament del SNC, regulació endocrina i disrupció per BPA.
- Elements implicats en la senyalització de la MAPK que puguin estar regulats per hormones sexuals i, per tant, ser susceptibles de disrupció per BPA.
- Bases moleculars de la malaltia de l'Alzheimer i el paper de les hormones sexuals en la seva evolució.
- BPA en la patogènia de dita malaltia.

Els resultats que s'obtingueren en aquesta segona recerca bibliogràfica s'exposen a la **Taula 2**.

Taula 1: S'observa una classificació per color segons el cercador emprat. Així verd: Pubmed, i blau: Google. En aquests cercadors s'han introduït les diferents paraules clau que s'indiquen a la taula i s'han obtingut una sèrie de resultats, dels quals s'ha escollit la bibliografia desitjada per tal d'obtenir informació de les relacions establertes. L'enumeració que apareix com el resultat escollit es correspon amb la de l'apartat de Bibliografia d'aquest treball.

Paraules clau	Resultats totals	Resultat escollit
endocrine disruptors and neurogenesis	33	4
BPA NIH	737000	1
BPA	7184	2
bisphenol a and cell signaling	459	3
human exposure to bisphenol a and brain	187	19
EMT and ERK signaling	625	5
estrogens and neural disease	182	21
bisphenol A and memory impairment	40	17
Bibliografia recomanada de l'assignatura de Bioquímica i Biologia Molecular del Desenvolupament		10

Taula 2: S'observa una classificació per color segons el cercador emprat. Així verd: Pubmed, blau: Google, taronja: DuckDuckGo, rosa: Google Imágenes, groc: Google Académico, lila: Biblioteca virtual UIB. En aquests cercadors s'han introduït les diferents paraules clau que s'indiquen a la taula i s'han obtingut una sèrie de resultats, dels quals s'ha escollit la bibliografia desitjada per tal d'obtenir informació de les relacions establertes. L'enumeració que apareix com el resultat escollit es correspon amb la de l'apartat de Bibliografia d'aquest treball.

Paraules clau	Resultats totals	Resultat escollit
A partir de l'article: <i>"Impairment of learning and memory performances induced by BPA: Evidences from the literature of a MoA mediated through an ED"</i>		6
estrogens and Wnt	313	14
neural tube closure mechanism	142	11
wnt and erk signaling		12
ERK and Wnt signaling	681000	13
sex hormones and neruogenesis	325	15
		16
erk and bdnf		18
A partir de l'article: "Bisphenol A (BPA) and cell signaling pathways"		20
protein aggregation in alzheimer	587000	9
estrogen and Alzheimer	1227	7
molecular mechanism of Alzheimer disease	1170000	8
MAPK and alzheimer	21	22
bdnf and alzheimer	772	23

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

El cervell és un òrgan molt complex que, per presentar un correcte funcionament, requereix d'una molt fina regulació. Es parla del paper fonamental que tenen determinades hormones sexuals, com són els estrògens; i del dimorfisme sexual present en el SNC. Per tant, el factor hormonal serà important tant a nivell de desenvolupament del sistema com a nivell de resposta d'aquest a diferents estímuls (endògens o exògens).

4.1 Bases moleculars del desenvolupament del sistema nerviós central (SNC). Paper de les hormones sexuals.

4.1.1 Formació del SNC

La formació del SNC s'inicia a partir de la neurulació o formació del tub neural i del seu posterior tancament. Ambdós són processos que es troben finament regulats i que impliquen la participació de nombroses vies de regulació i senyalització cel·lulars. Entre elles es destaquen la senyalització Wnt i la transició epiteli-mesènquima, (*epithelial-mesenchymal transition*, EMT). Es tracta d'un procés que es divideix en dues fases: neurulació primària i neurulació secundària. En aquest cas s'explicarà només la primera ja que és durant aquesta fase quan la via Wnt i la EMT tenen major rellevància.

Així, durant la neurulació primària les cèl·lules que envolten la placa neural dirigeixen a les cèl·lules de la placa per a que proliferin, invaginïn i es separin de la superfície per formar un tub buit. Procés que forma la part anterior del tub neural. És un procés en el qual l'ectoderma es divideix en tres tipus de cèl·lules diferents: les del tub neural, de la cresta neural i de l'epidermis (**Figura 2**); i es compon de quatre etapes: formació, modelatge i flexió de la placa neural i tancament del solc neural per formar el tub neural. Durant la formació i modelatge de la placa neural el mesoderma dorsal subjacent envia senyals a l'ectoderma que es troba per sobre d'ell per a que es doni un allargament propi de les cèl·lules de la placa neural. Així, la placa neural s'estén al llarg de l'eix anteroposterior i s'aprima per poder permetre la posterior flexió. En l'etapa de flexió, la placa neural interacciona amb teixits propers mitjançant la formació de regions bisagra. En aquestes regions hi trobem les cèl·lules del punt bisagra mitjà (*medium hinge point*, MHP), les quals queden ancorades a la notocorda (que tenen sota elles) que les induirà a disminuir la seva altura i a adquirir una forma de "V". A continuació, dues regions formen solcs propers a la zona on la placa neural connecta amb la resta de l'ectoderma, són els punts bisagra dorsolaterals (*dorsolateral hinge points*, DLHP), que estan ancorats a l'ectoderma. Les cèl·lules d'aquestes regions incrementen la seva altura i també adquireixen forma de "V" (veure **Figura 3**).

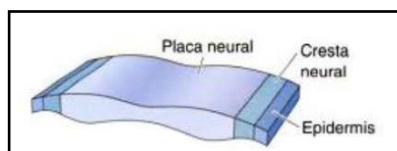
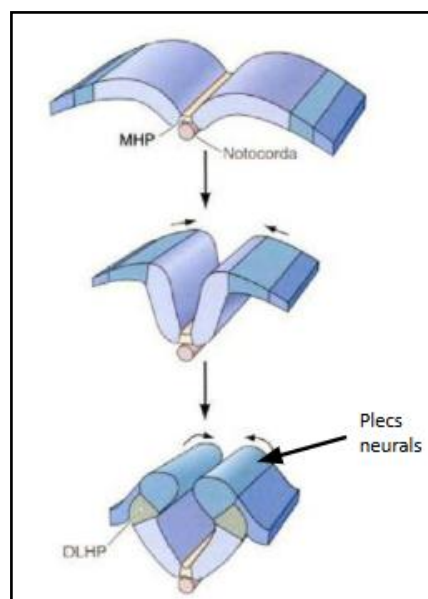


Figura 2. Neurulació primària en model de pollastre.

Extret de: S. F. Gilbert, *Developmental Biology*, 10th ed. Sinauer Associates, 2014.

Figura 3. Neurulació primària en model de pollastre.

Extret de: S. F. Gilbert, *Developmental Biology*, 10th ed. Sinauer Associates, 2014.



Una vegada s'ha format el solc, aquest es corba al voltant de les regions bisagra, cadascuna de les quals actua com eix de rotació per a dirigir les cèl·lules de la placa neural al seu voltant. A més, l'ectoderma de superfície genera uns moviments que proporcionen la força motriu per a la flexió de la placa. Tot plegat, la formació del solc i els moviments de la capa externa suposen la formació dels plecs neurals [10]. Finalment té lloc el tancament del solc neural al llarg de l'eix anteroposterior, gràcies a que els plecs s'adhereixen entre si, les cèl·lules queden fusionades, les cèl·lules de la cresta neural deixen d'expressar cadherina E i sofreixen una pèrdua de polaritat per poder migrar; és a dir, té lloc la EMT i d'aquesta forma es pot donar la formació del tub neural que és l'estructura prèvia al SNC [11]. Pel que fa a la regulació de la EMT, es parla del paper que té la via de la MAPK. Cal mencionar el paper dels estrògens, concretament del 17 β -estradiol (E₂), en l'estimulació de dita via (veure **Figura 4**). El qual indica que la formació del SNC i la regulació exercida per la MAPK tindran un component hormonal.

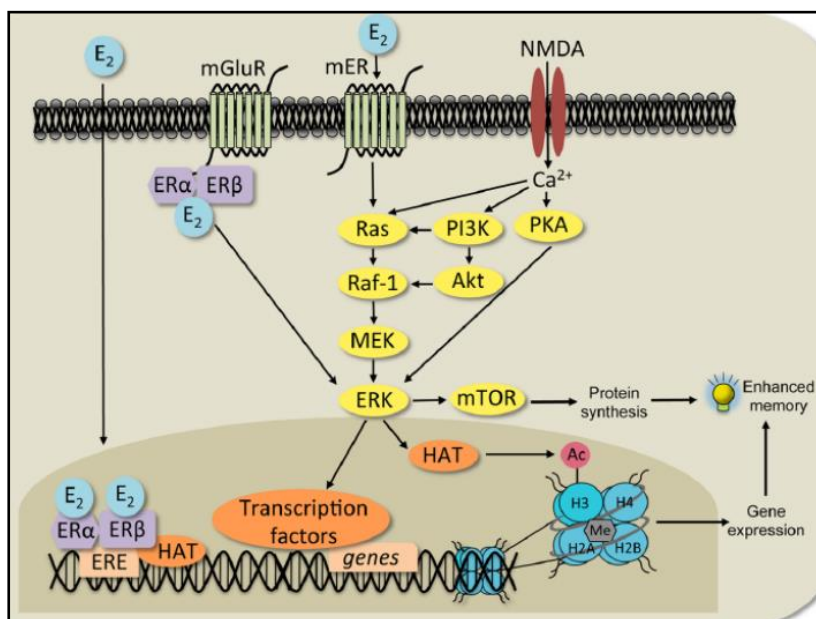


Figura 4. Mecanisme de senyalització del E₂

Extret de : A. M. Fortress and K. M. Frick, "Hippocampal Wnt Signaling: Memory regulation and hormone interactions," *Neuroscientist*, vol. 22, no. 3, pp. 278–294, 2016.

Estudis recents amb cultius cel·lulars tractats amb un inhibidor de dita via (UO126) han obtingut resultats de disminució en l'expressió de molècules d'adhesió importants en l'EMT tals com les cadherines E i N (pròpies de cèl·lules epitelials i mesenquimàtiques, respectivament) [5] (veure **Figura 5**).

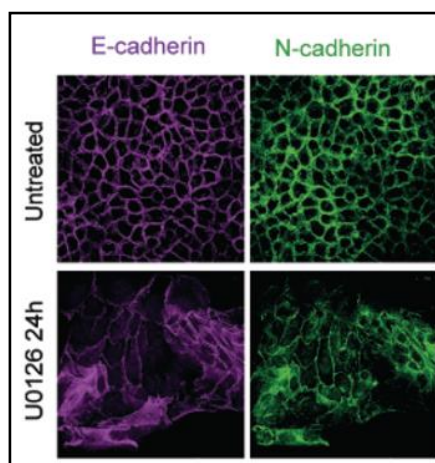


Figura 5. Cèl·lules marcades amb immunofluorescència vistes al microscopi.

Extret de: S. Schick, S. K. Sahu, V. K. Tiwari, A. Pataskar, A. Garding, and M. Navandar, "ERK signalling modulates epigenome to drive epithelial to mesenchymal transition," *Oncotarget*, vol. 8, no. 17, pp. 29269–29281, 2017.

Per altra banda, en la darrera etapa de la neurulació primària, la senyalització Wnt hi té un paper important ja que participa en la diferenciació i especificació de l'ectoderma neural i ectoderma de superfície. Cal recordar que dita senyalització es pot donar per dues vies: la via canònica o la no canònica. En aquest treball s'explicarà la primera. Així, aquesta consisteix en la unió de Wnt al receptor Frizzled (Fzd) i al co-receptor LRP5/6. Aquesta unió lligand-receptor permet l'activació de la proteïna Dishevelled (Dvl), la qual ara pot fosforilar la quinasa de la glucogen sintasa-3 β (*glycogen synthase kinase-3 β* , GSK3 β) inactivant-la. Si dita quinasa està inactivada, ja no pot fosforilar i, per tant tampoc inhibir, l'activador transcripcional anomenat β -catenina. D'aquesta forma la proteïna podrà traslocar-se al nucli i exercir la funció de regulació transcripcional (veure [Figura 6](#)).

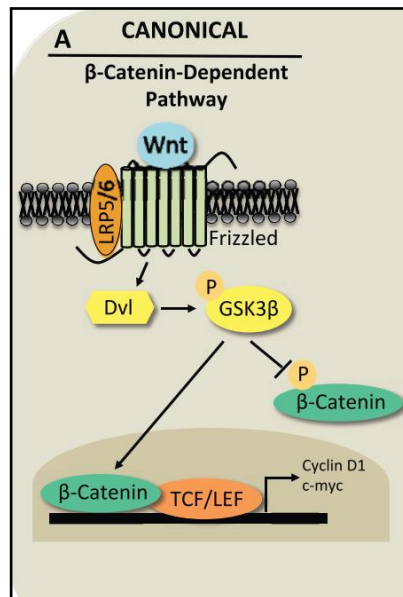


Figura 6. Via de senyalització canònica de Wnt i els elements que hi intervenen.

Extret de: A. M. Fortress and K. M. Frick, "Hippocampal Wnt Signaling: Memory regulation and hormone interactions," *Neuroscientist*, vol. 22, no. 3, pp. 278–294, 2016.

Així, a més de participar en la neurulació, s'ha relacionat la via Wnt amb l'estimulació de la via de la MAPK i, conseqüentment, de tots els elements implicats en dita senyalització. És a dir, en absència de Wnt (veure situació **a** de la [Figura 7](#)) es forma un complex de destrucció de la β -catenina compost per les proteïnes axina, APC (*adenomatous polyposis coli*), caseïna quinasa 1 α (*casein kinase 1 α* , CK1 α) i GSK3 β . Les fosforilacions de la β -catenina que duen a terme aquestes darreres quinases permeten reclutar una ubiquitina lligasa, la *β -transducin repeat-containing protein* (β -TrCP) que reconeix i marca per a la degradació la catenina via ubiquitina-proteosoma. Així mateix, la GSK3 β pot fosforilar RAS (component de la senyalització de la MAPK), marcant-la per a que la ubiquitina lligasa la reconegui i es produeixi la seva degradació. Si, per altra banda, la via Wnt està activa (veure situació **b** de la [Figura 7](#)), la formació i activació del complex de destrucció no són possibles de forma que tant la β -catenina com RAS poden exercir les seves funcions [12], [13].

Estudis recents indiquen que existeix una relació entre l'activitat neuronal, els nivells de les hormones sexuals i la regulació de la via Wnt. Concretament la bibliografia parla del paper de l'E₂. És a dir, s'ha vist que l'estrogen indueix una reducció en l'activitat de la GSK3 β i en la fosforilació de les proteïnes tau en neurones de l'hipocamp [14]. Per tant, la informació exposada en aquest apartat estableix una relació entre la via Wnt i la de la MAPK; ambdues implicades en la formació del SNC i regulades per l'E₂, el qual fa que aquesta hormona tingui un paper regulador i protector sobre les cèl·lules cerebrals.

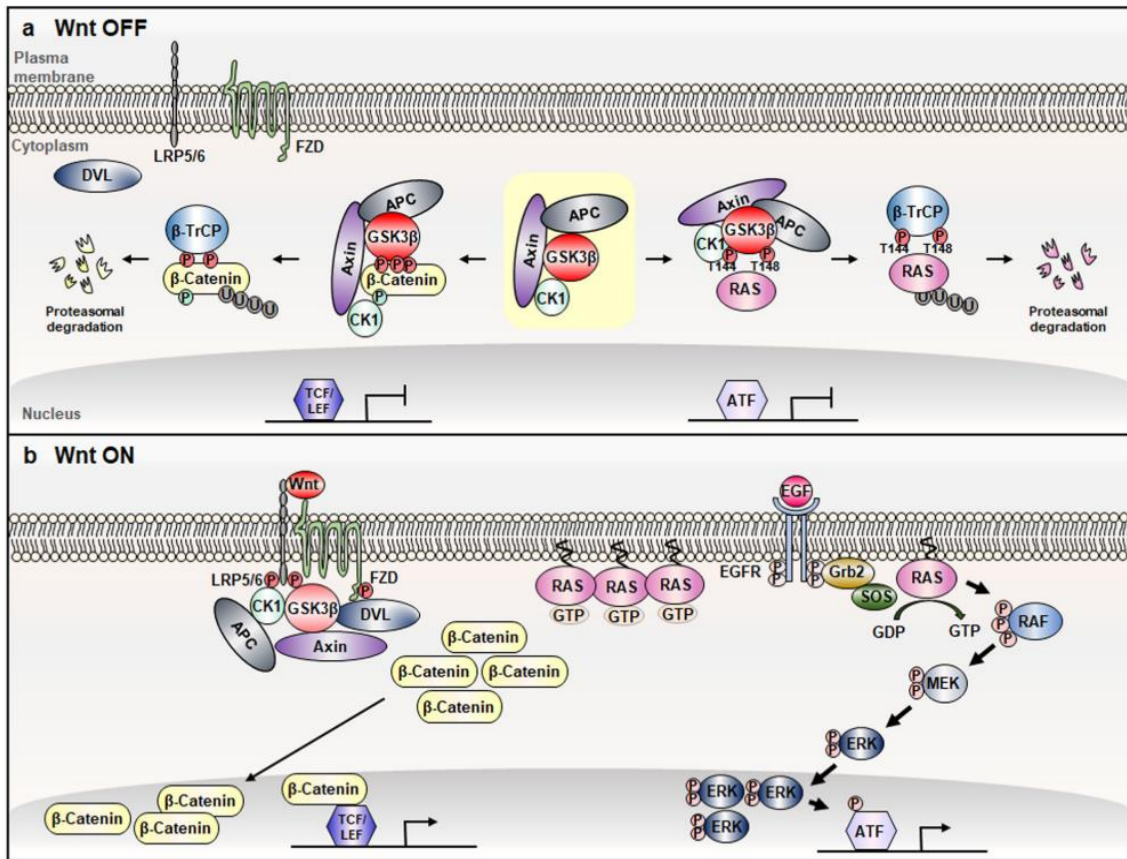


Figura 7. Associació entre la via Wnt i la de la MAPK.

Extret de: W.-J. Jeong, E. J. Ro, and K.-Y. Choi, "Interaction between Wnt/ β -catenin and RAS-ERK pathways and an anti-cancer strategy via degradations of β -catenin and RAS by targeting the Wnt/ β -catenin pathway," *npj Precis. Oncol.*, vol. 2, no. 1, p. 5, Dec. 2018.

4.1.2 Neurogènesi

La neurogènesi és el procés pel qual es formen totes les neurones de l'organisme durant l'embriogènesi i, al mateix temps, és un esdeveniment que també permet la renovació neuronal a l'edat adulta. Així, s'inicia amb la diferenciació de les cèl·lules progenitores neuronals. És un procés en el que es donen una sèrie de canvis dinàmics i adaptatius per promoure dita diferenciació de forma que aquestes cèl·lules proliferen i es diferencien a cèl·lules de la glia i neurones; les quals migraran des de la zona proliferativa ventricular al seu lloc destinat. Durant aquesta diferenciació, els canvis epigenètics són molt importants així com també ho és la regulació hormonal. És a dir, la influència de les hormones sexuals al llarg de les diferents etapes del desenvolupament és d'important rellevància en la funció cognitiva i en la formació de cèl·lules neuronals [15], [16].

Durant la neurogènesi es generen d'entre 250.000 i 500.000 neurones per minut, un procés que està regulat de forma molt important pels estrògens (que també són sintetitzats a les neurones i cèl·lules de la glia mitjançant l'aromatització de la testosterona), de forma que una alteració en dita regulació endocrina podria alterar la neurogènesi, la transmissió neuronal, afavorint una situació de desordres neurològics [4]. Així es parla del paper regulador de l'E₂. En el procés de formació de noves neurones hi actuen unes proteïnes anomenades neurotrofines que participen en la diferenciació i supervivència neuronals, concretament es parlarà del factor neurotròfic derivat del cervell (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF), expressió del qual es veu

incrementada en resposta a l'E₂ promovent així la neurogènesi i sinaptogènesi. És a dir, l'E₂ indueix l'activació de la via de la MAPK [6] (veure **Figura 4**), que ara pot traslocar-se al nucli i fosforilar la proteïna d'unió a l'element de resposta de cAMP (*cAMP-responsive element binding protein*, CREB). Una vegada s'ha fosforilat a CREB, aquesta indueix la transcripció de gens com el de BDNF afavorint la sinaptogènesi [17], [18] (veure **Figura 8**).

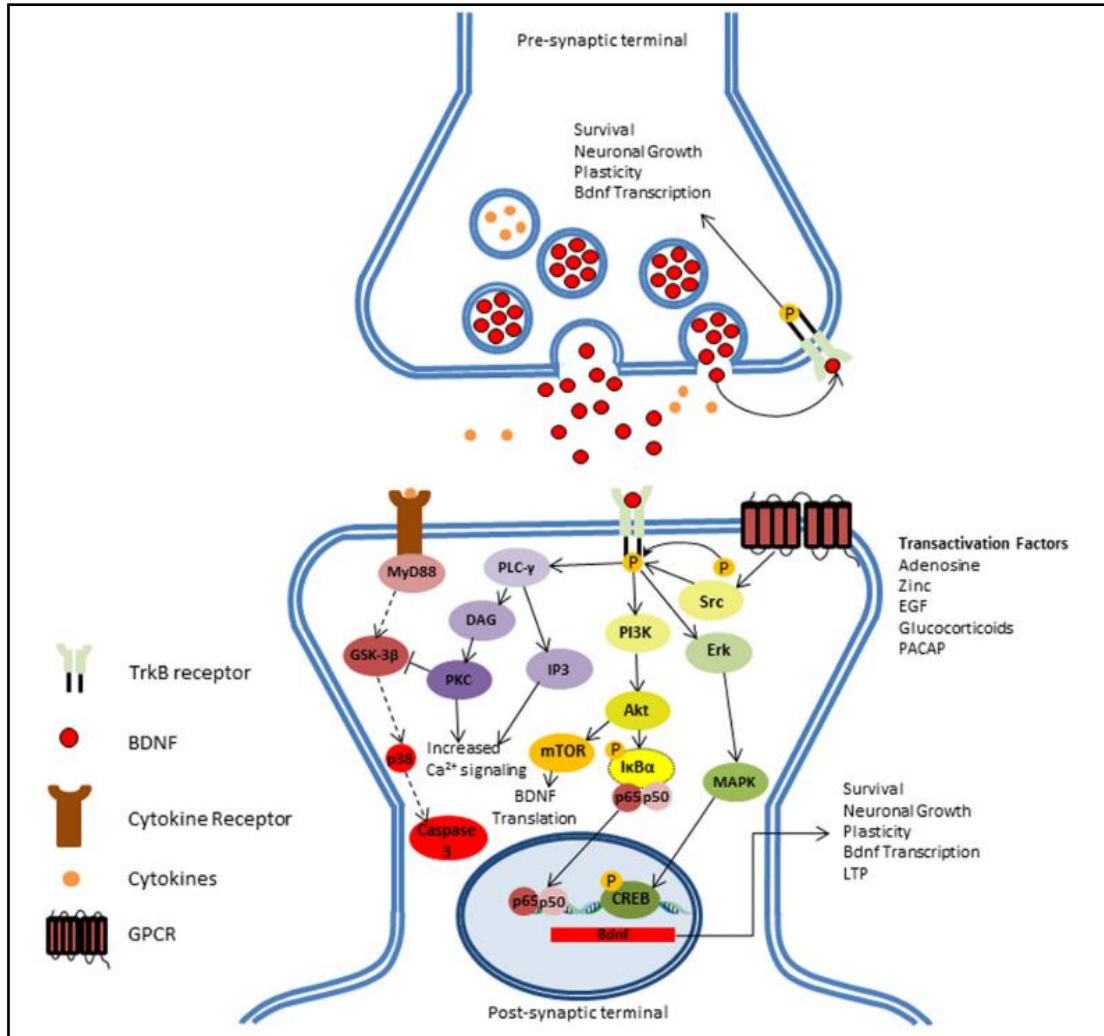


Figura 8. Via de senyalització induïda per l'alliberació pre-sinàptica de BDNF. S'observa com la unió del BDNF amb el seu receptor indueix la supervivència, creixement i plasticitat neuronal en la pròpia cèl·lula secretora (pre-sinàptica) i en la post-sinàptica.

Extret de : B. Lima Giacobbo, J. Doorduyn, H. C. Klein, R. A. J. O. Dierckx, E. Bromberg, and E. F. J. de Vries, "Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation," *Mol. Neurobiol.*, vol. 56, no. 5, pp. 3295–3312, May 2019.

A més, la via de la MAPK, una vegada activada, pot fosforilar altres proteïnes com és el cas del factor de transcripció respiratori nuclear 1 (*nuclear respiratory factor 1*, NRF1). Dit factor participa en la regulació de l'expressió de gens implicats en la neuroplasticitat, diferenciació neuronal, neurotransmissió, creixement i supervivència neuronals, neurogènesi, sinaptogènesi i funció cognitiva. Estudis recents han proposat una possible associació entre el NRF1 i el desenvolupament del cervell fetal. Pel que fa al paper regulador de les hormones sobre aquestes vies de senyalització, s'ha vist que l'E₂ també pot incrementar l'expressió de NRF1 mitjançant la inducció de la via de la MAPK (veure [Figura 9](#)) [4].

A partir de la informació presentada en aquest apartat es pot concloure que el procés de la neurogènesi també està regulat per l'E₂ el qual, al seu torn, regula la via de la MAPK. I aquesta via regula processos de supervivència i proliferació neuronals, plasticitat sinàptica, sinaptogènesi i funció cognitiva mitjançant l'activació dels factors BDNF i NRF1.

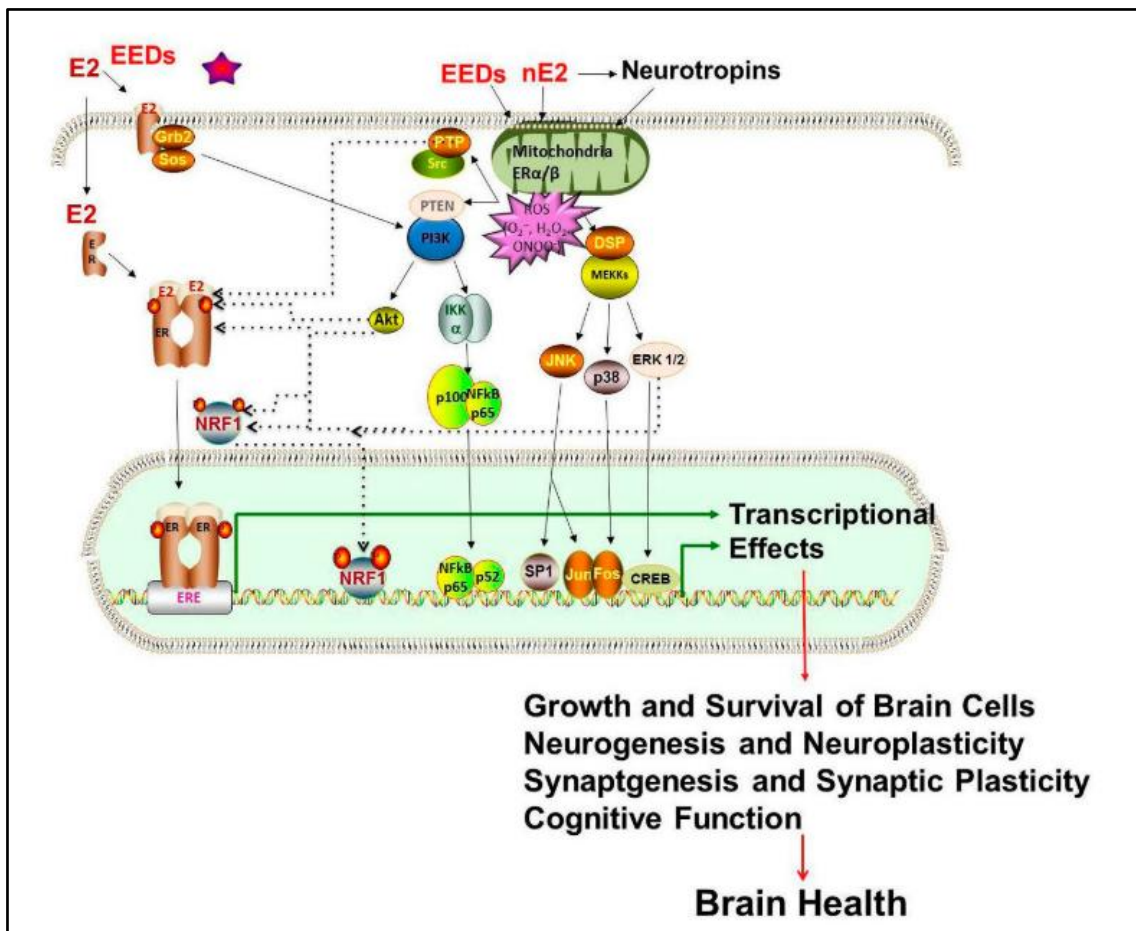


Figura 9. Possibles mecanismes d'acció dels disruptors endocrins sobre diverses vies de senyalització cel·lular.

Es destaca el paper de la via de la MAPK, aquí indicada com via ERK, sobre CREB i NRF1 per a promoure un estat cerebral saludable.

Extret de : B. M. Preciados, C. Yoo, and D. Roy, "Estrogenic endocrine disrupting chemicals influencing NRF1 regulated gene networks in the development of complex human brain diseases," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 12. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 13-Dec-2016.

4.2 BPA en la formació del SNC i la neurogènesi

El BPA pot alterar el desenvolupament del SNC a nivell de formació del mateix i de la neurogènesi actuant en les vies que es veuen regulades pels estrògens i que han estat detallades anteriorment. El fet que el disruptor actui en el lloc de dites hormones sexuals implica que el sexe de l'individu serà un factor a tenir en compte ja que influirà en el nivell d'afectació d'una exposició a BPA. Així, és important parlar del terme dimorfisme sexual al cervell.

En les primeres etapes del desenvolupament, el cervell té les mateixes possibilitats de seguir un fenotip femení que masculí. El que determinarà el camí a seguir serà el *pool* d'hormones a les que el cervell estigui exposat durant una etapa perinatal anomenada "finestra sensible crítica". Aquesta etapa comprèn el període d'entre la setmana 8 i la 24 de gestació, durant el qual tindran lloc nombroses modificacions morfològiques i en el nombre de cèl·lules a l'hipotàlem. Es generaran, per tant, connexions neuronals concretes que provocaran que a l'edat adulta la resposta a estímuls endocrins i ambientals sigui diferent [19].

A continuació es presenta un model de diferenciació sexual al cervell on s'exposa que els cromosomes sexuals de l'embrió determinarien el desenvolupament d'ovaris o testicles. En el cas dels ovaris, l'absència de secreció d'hormones gonadals dirigiria el cervell al fenotip femení (feminització). Per altra banda, els testicles secretarien testosterona que tindria efectes de masculinització i defeminització del cervell masculí (veure [Figura 10](#)) [19].

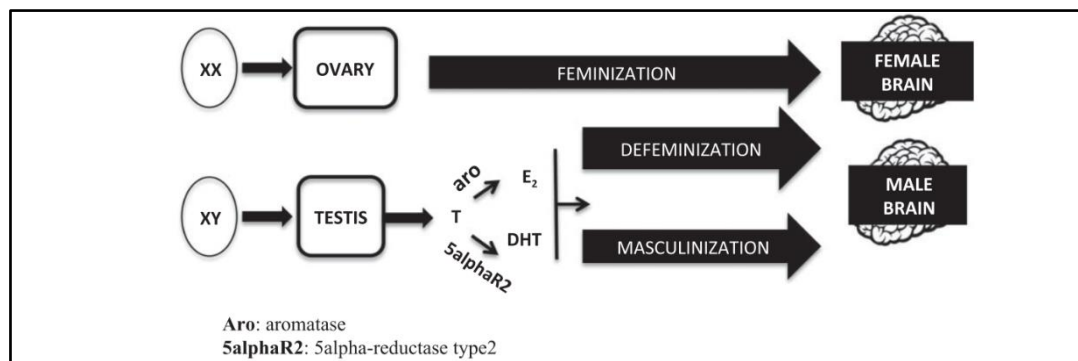


Figura 10. Model de diferenciació sexual del cervell. S'observa com una manca de secreció d'hormones sexuals per part dels ovaris ja és suficient per a la diferenciació a cervell femení. Per altra banda, quan es secreta testosterona pels testicles, és necessari que aquesta es transformi en E₂ per l'aromatasa i en dihidrotestosterona per la 5 α -reductasa. D'aquesta forma s'activarien els ERs i els receptors d'andrògens (*androgen receptors*, ARs), respectivament.

Extret de: P. Negri-Cesi, "Bisphenol A Interaction With Brain Development and Functions.," *Dose Response.*, vol. 13, no. 2, p. 1559325815590394, 2015.

A més, hi ha altres factors que intervenen en la diferenciació sexual del cervell. Es tracta del grau de metilació dels promotors de receptors d'hormones sexuals esteroides, de la remodelació de la cromatina en els promotors de l'aromatasa, ERs i ARs; i la metilació i acetilació d'histones. Tot plegat suposa un dimorfisme en el transcriptoma de les cèl·lules de determinades zones cerebrals [19]. Aquesta diferenciació i dimorfisme sexuals fan que el cervell respongui de forma diferent als estrògens en funció del sexe de forma que, front una exposició a BPA, la resposta també serà diferenciable. Per altra banda, l'edat també influirà, es diferenciarien els efectes a una edat primerenca i a l'edat adulta d'una exposició prenatal-postnatal i a l'edat adulta a BPA, respectivament.

En el cas d'una exposició prenatal a BPA, aquest pot arribar al nadó a través de la placenta i una vegada allà es pot incrementar la seva concentració per un dèficit de la UDP

glucuroniltransferasa, enzim encarregat d'eliminar els xenobiòtics transformant-los en composts inactius; a causa de la seva estructura química que li facilita travessar les barreres hematoencefàlica i placentària possibilitant així la seva acumulació al cervell i exerció dels seus efectes durant llargs períodes de temps [4], [19].

La neurulació serà un dels processos afectats front una exposició prenatal al disruptor endocrí ja que no es podrà donar una correcta diferenciació de l'ectoderma i, per tant, una correcta formació del SNC. Ja s'ha detallat anteriorment la regulació que exerceix la via de Wnt sobre la de la MAPK. Per tant, sabent que el BPA pot exercir una disrupció sobre la via Wnt [3], conseqüentment es veurà afectada la via de la MAPK. S'estaria afavorint la situació **a** de la **Figura 7**, idea que troba suport en un estudi del 2015 on s'empraren cultius cel·lulars control i cultius tractats amb BPA per determinar quins eren els efectes sobre els elements de la via Wnt [20]. Els resultats, per tant, foren que un tractament amb BPA provocava un major nivell d'expressió de β -catenina fosforilada, forma inactiva i que permet el reclutament de β -TrCP, que la marca per a la degradació. També s'obtingueren uns nivells superiors de GSK3 β no fosforilada, la forma activa que fosforila la β -catenina i RAS, marcant-les reclutament de β -TrCP, que les marca per a la degradació (veure **Figura 10**). En tenir uns nivells baixos de RAS, la via de la MAPK es veurà alterada i, amb ella, processos com la EMT. Per tant es provocaria una disrupció en una de les etapes més importants de la neurulació, el tancament del tub neural

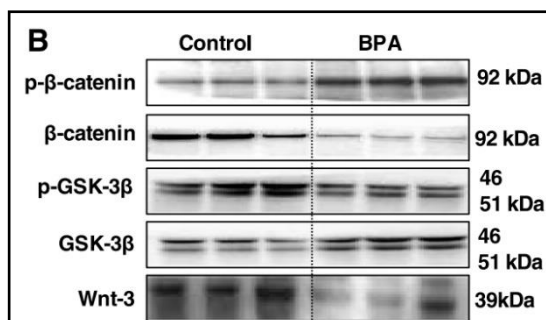


Figura 10. Resultats de Western Blot de proteïnes de la via Wnt en línia cel·lular control i tractada amb BPA.

Extret de : S. K. Tiwari *et al.*, "Inhibitory Effects of Bisphenol-A on Neural Stem Cells Proliferation and Differentiation in the Rat Brain Are Dependent on Wnt/ β -Catenin Pathway," *Mol. Neurobiol.*, vol. 52, no. 3, pp. 1735–1757, 2015.

Per altra banda, un segon procés també afectat per una exposició tant prenatal com postnatal (aquí referida a edats primerenques) serà la neurogènesi. El BPA, com ja s'ha vist en la neurogènesi, pot alterar la via Wnt i, conseqüentment, la de la MAPK. Però també pot actuar directament sobre aquesta segona via. En termes de neurogènesi i regulació de la mateixa es parla del paper dels factors BDNF i NRF1. Aquests dos factors regulats per la via de la MAPK no podrien exercir els seus efectes (de plasticitat neuronal, proliferació i supervivència neuronals, entre altres) en el cas que tingués lloc una exposició a BPA ja que aquest actuaria ocupant el lloc de l'E₂ en la regulació de la via de la quinasa.

Així, en quant als efectes de BPA sobre la neurogènesi, s'han publicat nombrosos resultats d'estudis on s'ha mesurat el nivell d'afectació nerviosa en models animals (en ambdós sexes) sota una administració de BPA. Un d'ells indicà que rates joves (tant mascles com femelles), nascudes de mares exposades a BPA, presentaren dèficits en BDNF i CREB (provocant una disminució de la plasticitat sinàptica i processament de la memòria), així com un menor grau de neurogènesi [4]. Aquest deterior cognitiu també s'ha vist en estudis que empraren el test de Morris i el de T-maze sobre rates joves (ambdós sexes), a les quals se'ls va administrar una mateixa dosi de BPA via oral en períodes prenatals o postnatales. S'observà que presentaren problemes en la memòria espacial [17]. Els factors edat i sexe són determinants, per tant, del grau d'afectació d'una exposició a BPA.

Per tant, ja sigui mitjançant l'activació d'elements de regulació negativa o inactivació dels de regulació positiva de Wnt, o per reducció directa de la via MAPK; el BPA és capaç d'alterar

aquesta darrera via de senyalització i, per tant, els mecanismes de regulació del desenvolupament del SNC, observant-se efectes diferents en funció de l'edat i el sexe.

4.3 La malaltia de L'Alzheimer i el possible paper del BPA

Una vegada s'han explicat les vies per les quals una exposició prenatal o postnatal (en les primeres etapes de la vida, encara no adulta) a BPA pot provocar alteracions en el SNC, cal explicar quins efectes podria tenir una exposició al disruptor ja a l'edat adulta i la seva possible relació amb l'Alzheimer.

L'Alzheimer és una malaltia neurodegenerativa que es caracteritza per l'aparició de deterior cognitiu progressiu, demència, pèrdua progressiva de la memòria i independència reduïda. És freqüent entre la fracció femenina de la població, majors de 65 anys. Aquesta simptomatologia és deguda a la formació de depòsits de plaques o fibres amiloides i agregats neurofibril·lars de proteïna tau en determinades zones cerebrals com el còrtex frontotemporal i l'hipocamp (importants en processos de cognició, aprenentatge i memòria). Les fibres estan composades, principalment, per la proteïna beta amiloide ($A\beta$), la qual deriva de la proteòlisi de la proteïna precursora β -amiloide (*β -amyloid precursor protein*, β -APP) duta a terme per unes proteases anomenades β i γ -secretases. En primer lloc actua la β -secretasa i, depenent de la zona de tall de la γ -secretasa es genera una forma o una altra d' $A\beta$, de 40 o 42 residus ($A\beta_{40}$ o $A\beta_{42}$, respectivament). La forma de major longitud és la que està més associada a la formació de les plaques amiloides. Així, mitjançant l'acció de dits enzims s'obtenen monòmers d' $A\beta$ que es poden agregar i formar petits oligòmers que evolucionaran a fibril·les i s'acumularan a les neurones. Per altra banda, pel que fa als agregats neurofibril·lars, aquests es componen principalment per la forma hiperfosforilada de la proteïna associada a microtúbuls o proteïna tau. Així, un conjunt de proteïnes tau hiperfosforilades es poden agregar per parells i formar filaments helicoidals que generaran els depòsits intracel·lulars. Existeix una relació entre la formació dels oligòmers d' $A\beta$ i les alteracions de les proteïnes tau. És a dir, dits oligòmers poden alterar la regulació de l'expressió gènica de dites proteïnes (veure [Figura 11](#)) [7]–[9].

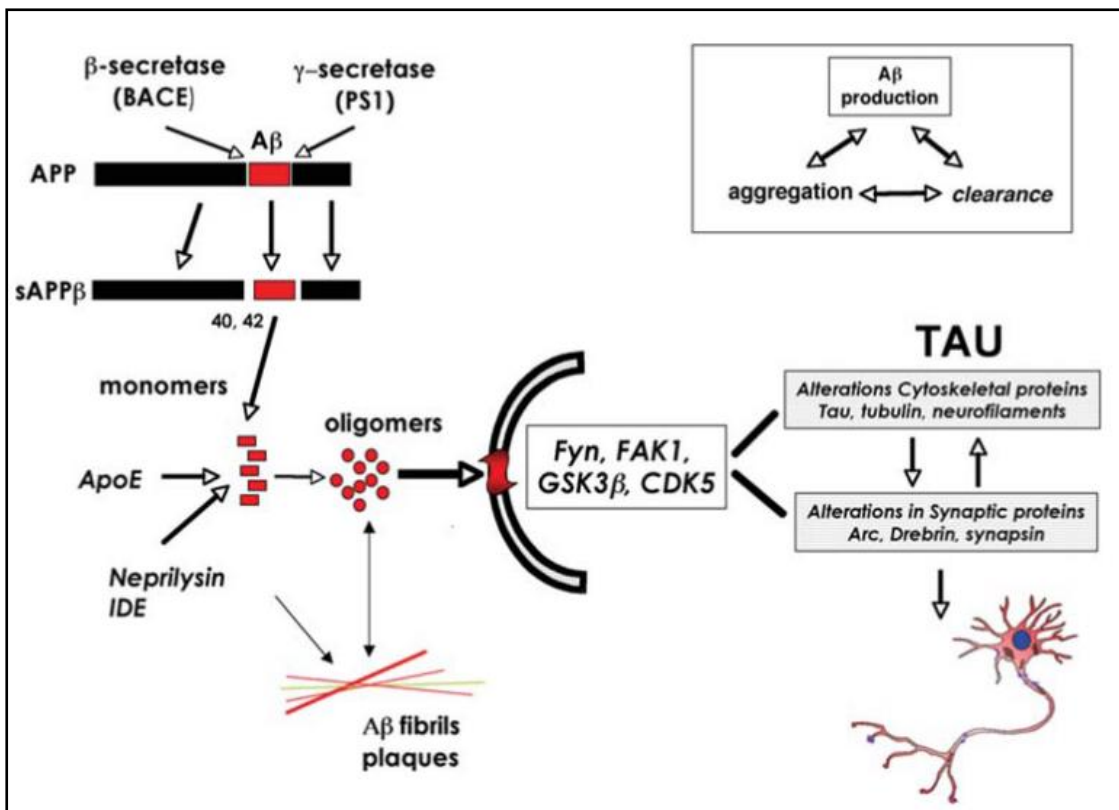


Figura 11. Metabolisme de l'APP, oligomerització d'A β i senyalització implicada en el deterior sinàptic en la malaltia de l'Alzheimer.

Extret de : L. Crews and E. Masliah, "Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease.," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 19, no. R1, pp. R12-20, Apr. 2010.

Aquesta patogènia és contrarestada per l'efecte de determinades hormones sexuals com és l'E₂. És a dir, s'ha vist que els estrògens actuen a diferents nivells per poder reduir la formació tant d'A β com de la forma hiperfosforilada de la proteïna tau: poden estimular la formació de vesícules a l'aparell de Golgi que contenguin β -APP de forma que es redueix la seva disponibilitat per a la formació d'A β , regulen l'expressió de determinats enzims que degraden o clarifiquen l'A β com les metaloproteases 2 i 9; promouen la desfosforilació de la proteïna tau així com la reducció de l'activitat de GSK3 β , quinasa de la via Wnt implicada en la fosforilació de tau i regulen l'expressió i metabolisme de l'apoproteïna E3, una variant associada a malalties neuronals ja que se l'associa amb la deposició anòmala amiloide [7], [14], [21]. És per aquest motiu que la malaltia de l'Alzheimer es desenvolupa sobretot en dones adultes i en una forma d'evolució més ràpida que en homes, ja que les dones post-menopàusiques tenen uns nivells inferiors d'estrògens de forma que els mecanismes de neuroprotecció anteriorment esmentats no actuen de la mateixa forma.

Aquest paper neuroprotector front malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer es veuria alterat en cas d'una exposició a BPA a causa del seu mecanisme d'acció com antagonista dels estrògens, de forma que s'estaria afavorint una predisposició a patir-ne o al manco a presentar una patogènia similar i manifestacions clíniques semblants tals com falta de plasticitat sinàptica o dèficit cognitiu, respectivament [4], [21]. Com ja s'ha mencionat amb anterioritat, dita disrupció en la senyalització dels estrògens afecta a vies com Wnt i la de la MAPK, ambdues relacionades. Aquestes es veuen alterades en determinades patologies neurodegeneratives com és l'Alzheimer. S'ha relacionat la via Wnt amb el correcte funcionament neuronal en un cervell ja

format i amb la protecció front una toxicitat amiloide, tant és així que s'ha associat la disfunció de la via Wnt amb una mala formació de la memòria a nivell de l'hipocamp i amb el desenvolupament de malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer [14]. Així, en aquesta malaltia els nivells de β -catenina es veuen disminuïts, l'expressió de GSK3 β es veu incrementada de forma que s'afavoreix la hiperfosforilació de la proteïna tau [14]. Aquesta situació és molt similar a la que es presenta en la **Figura 10** quan es tracten cultius cel·lulars amb BPA. També en relació als canvis en el nivell de fosforilació de la proteïna tau s'hi troba la via de la MAPK. En models animals i pacients amb Alzheimer s'ha vist una funcionalitat anormal de dita via a causa de la formació de A β ₄₂, la qual provoca l'activació de la via MAPK i conseqüent hiperfosforilació de tau [22].

Per tant, el BPA és capaç d'alterar tant directa com indirectament (via Wnt) la via de la MAPK ja que aquesta té una relació clara amb E₂. Llavors, si la via de la MAPK està alterada, els seus gens diana, als que regula l'expressió es veuran alterats. Com es veia a la **Figura 8**, l'activació de la MAPK condueix a l'expressió de BDNF. En l'Alzheimer dit factor veu la seva expressió reduïda. Front una exposició a BPA, en veure's truncada la via de la MAPK, també ho estaria l'expressió del factor de forma que la plasticitat sinàptica i supervivència neuronal es veuen alterades en les dues circumstàncies [23]. Per altra banda, el BPA, en alterar dita via de les quinases, afectarà al grau d'activació del factor NRF1 el qual està relacionat amb les respostes cel·lulars a l'estrès oxidatiu. Analitzant mostres de teixit cerebral d'autòpsies de pacients amb Alzheimer s'ha observat que els nivells de NRF1 així com dels gens que regula estan reduïts [4].

A partir de dites observacions es podria pensar que, front una exposició prolongada de BPA a l'edat adulta s'arribaria a una situació tal que la senyalització MAPK es truncaria, bé per via Wnt o bé directament, provocant una situació que, si bé no està clar que es pogués classificar com a malaltia d'Alzheimer, tindria una patogènia molt similar degut a les alteracions en BDNF i NRF1 que serien comuns en Alzheimer i en exposició a BPA.

5. CONCLUSIONS

A partir de la informació extreta de la bibliografia s'ha arribat a les conclusions que s'expliquen a continuació.

Els efectes que pugui tenir el BPA dependran, a més de la dosi, temps i via d'exposició, del sexe i edat de l'individu. Tant es així que molts dels estudis realitzats actualment amb animals indiquen que mascles i femelles joves es veurien afectats de forma similar mentre que a l'edat adulta serien les femelles les més perjudicades degut al menor nivell d'estrògens que presenten.

Aquestes hormones sexuals han mostrat ser un element clau en la regulació del correcte funcionament del SNC, tant a nivell de formació del mateix com de generació de noves neurones a una edat primerenca i adulta. Això fa que aquests processos siguin susceptibles de veure's alterats per disruptors endocrins com el BPA durant exposicions prenatales i/o postnatales. Ja hi ha evidències en la bibliografia actual de que el BPA podria exercir dita disrupció mitjançant el truncament de la via de la MAPK que participa en diversos processos del desenvolupament del SNC. Així, la relació entre la regulació per E₂ de la via de la MAPK i d'aquesta amb l'EMT (neurulació), BDNF, NRF1 (neurogènesi) fan d'aquests uns elements alterables per BPA.

Per altra banda, els estrògens també han demostrat tenir un paper important en la protecció front el desenvolupament de plaques amiloides i agregats neurofibril·lars característics de malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer. Per tant, aquesta barrera de defensa també es veuria afeblida front una exposició a BPA a l'edat adulta i s'activarien diversos processos cel·lulars que conduirien a presentar una patogènia similar a la de dita malaltia neurodegenerativa.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] "Bisphenol A (BPA)." [Online]. Available: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/sya-bpa/index.cfm>. [Accessed: 25-Feb-2019].
- [2] F. Acconcia, V. Pallottini, and M. Marino, "Molecular Mechanisms of Action of BPA.," *Dose Response.*, vol. 13, no. 4, p. 1559325815610582, 2015.
- [3] M. Murata and J. H. Kang, "Bisphenol A (BPA) and cell signaling pathways," *Biotechnol. Adv.*, vol. 36, no. 1, pp. 311–327, 2018.
- [4] M. Preciados, C. Yoo, and D. Roy, "Estrogenic endocrine disrupting chemicals influencing NRF1 regulated gene networks in the development of complex human brain diseases," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 12. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 13-Dec-2016.
- [5] S. Schick, S. K. Sahu, V. K. Tiwari, A. Pataskar, A. Garding, and M. Navandar, "ERK signalling modulates epigenome to drive epithelial to mesenchymal transition," *Oncotarget*, vol. 8, no. 17, pp. 29269–29281, 2017.
- [6] K. Mizuno and K. P. Giese, "Towards a molecular understanding of sex differences in memory formation," *Trends Neurosci.*, vol. 33, no. 6, pp. 285–291, 2010.
- [7] S. Merlo, S. F. Spampinato, and M. A. Sortino, "Estrogen and Alzheimer's disease: Still an attractive topic despite disappointment from early clinical results," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 817, pp. 51–58, 2017.
- [8] L. Crews and E. Masliah, "Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease.," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 19, no. R1, pp. R12-20, Apr. 2010.
- [9] G. B. Irvine, O. M. El-Agnaf, G. M. Shankar, and D. M. Walsh, "Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's diseases.," *Mol. Med.*, vol. 14, no. 7–8, pp. 451–64, 2008.
- [10] S. F. Gilbert, *Developmental Biology*, 10th ed. Sinauer Associates, 2014.
- [11] E. Nikolopoulou, G. L. Galea, A. Rolo, N. D. E. Greene, and A. J. Copp, "Neural tube closure: cellular, molecular and biomechanical mechanisms.," *Development*, vol. 144, no. 4, pp. 552–566, Feb. 2017.
- [12] R. K. Bikkavilli and C. C. Malbon, "Mitogen-activated protein kinases and Wnt/beta-catenin signaling: Molecular conversations among signaling pathways.," *Commun. Integr. Biol.*, vol. 2, no. 1, pp. 46–9, 2009.
- [13] W.-J. Jeong, E. J. Ro, and K.-Y. Choi, "Interaction between Wnt/ β -catenin and RAS-ERK pathways and an anti-cancer strategy via degradations of β -catenin and RAS by targeting the Wnt/ β -catenin pathway," *npj Precis. Oncol.*, vol. 2, no. 1, p. 5, Dec. 2018.
- [14] A. M. Fortress and K. M. Frick, "Hippocampal Wnt Signaling: Memory regulation and hormone interactions," *Neuroscientist*, vol. 22, no. 3, pp. 278–294, 2016.
- [15] L. A. M. Galea, S. R. Wainwright, M. M. Roes, P. Duarte-Guterman, C. Chow, and D. K. Hamson, "Sex, hormones and neurogenesis in the hippocampus: Hormonal modulation of neurogenesis and potential functional implications," *J. Neuroendocrinol.*, vol. 25, no. 11, pp. 1039–1061, 2013.
- [16] C. Heberden, "Sex steroids and neurogenesis," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 141, no. May, pp. 56–62, 2017.
- [17] S. Mhaouty-Kodja, L. P. Belzunces, M. C. Canivenc, H. Schroeder, C. Chevrier, and E. Pasquier, "Impairment of learning and memory performances induced by BPA: Evidences from the literature of a MoA mediated through an ED," *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 475, no. July 2017, pp. 54–73, 2018.
- [18] B. Lima Giacobbo, J. Doorduyn, H. C. Klein, R. A. J. O. Dierckx, E. Bromberg, and E. F. J. de Vries, "Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation," *Mol. Neurobiol.*, vol. 56, no. 5, pp. 3295–3312, May 2019.
- [19] P. Negri-Cesi, "Bisphenol A Interaction With Brain Development and Functions.," *Dose Response.*, vol. 13, no. 2, p. 1559325815590394, 2015.
- [20] S. K. Tiwari *et al.*, "Inhibitory Effects of Bisphenol-A on Neural Stem Cells Proliferation and Differentiation in the Rat Brain Are Dependent on Wnt/ β -Catenin Pathway," *Mol. Neurobiol.*, vol. 52, no. 3, pp. 1735–1757, 2015.
- [21] L. M. Garcia-Segura, I. Azcoitia, and L. L. DonCarlos, *Neuroprotection by estradiol*, vol. 63, no. 1. 2001.
- [22] N. Origlia, O. Arancio, L. Domenici, and S. S. Yan, "MAPK, β -amyloid and synaptic dysfunction: the role of RAGE," *Expert Rev. Neurother.*, vol. 9, no. 11, pp. 1635–1645, Nov. 2009.
- [23] M. F. Iulita *et al.*, "Differential deregulation of NGF and BDNF neurotrophins in a transgenic rat model of Alzheimer's disease," *Neurobiol. Dis.*, vol. 108, no. February, pp. 307–323, 2017.