

# ACTUALIZACIÓN SOBRE NEURODEGENERACIÓN

Laboratorio de Fisiología de la Conducta  
Febrero-Marzo 2005

# SERIES

1. INTRODUCCIÓN

2. **PATOGENIA MOLECULAR**  
continuación 1era. Parte...

3. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

4. FUTURO EN PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y  
TERAPÉUTICA

## BIBLIOGRAFÍA:

- \* Series Neurodegeneration  
*J. Clinical Investigation* 111, Jan-Mar 2003
- \* Special Section: Brain Disease  
*Science* 302, 31 Oct 2003
- \* Neurodegeneration  
*Nature Medicine* 10, Jul 2004  
*Nature Reviews Neuroscience* 6, Jan 2005
- \* Genomic Medicine. Mechanisms of Disease  
*NEJM* 348, 3 April 2003
- \* *Encyclopedia of Life Sciences* 2000

# III

## MECANISMOS PATOGENICOS MOLECULARES

continuación 1era. Parte...

# Neurodegeneración

DISFUNCIÓN  
MITOCONDRIAL

ESTRÉS OXIDATIVO

apoptosis



microglia

agregación de  
proteínas

degradación de  
proteínas

necrosis

Inflamación

Excitotoxicidad

Metales

1. MUERTE NEURONAL

2. ESTRÉS OXIDATIVO Y NITRATIVO

3. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

4. AGREGACIÓN DE PROTEINAS

5. DISFUNCIÓN DEL SISTEMA  
UBIQUITIN-PROTEOSOMA

6. OTROS

**ESTRÉS OXIDATIVO  
Y LA  
ENFERMEDAD NEURODEGENERATIVA**

# ESTRÉS OXIDATIVO EN EL CEREBRO NORMAL

1. Alto metabolismo
2. Alta producción diaria de ROS y RNS
3. Alto nivel de ácidos grasos insaturados
4. Bajo nivel de antioxidantes

Cuando la generación de ROS y RNS **excede** a los mecanismos antioxidantes hay deterioro de macromoléculas que lleva a muerte neuronal



**EL CEREBRO  
ES  
MUY  
VULNERABLE  
AL  
ESTRÉS OXIDATIVO**

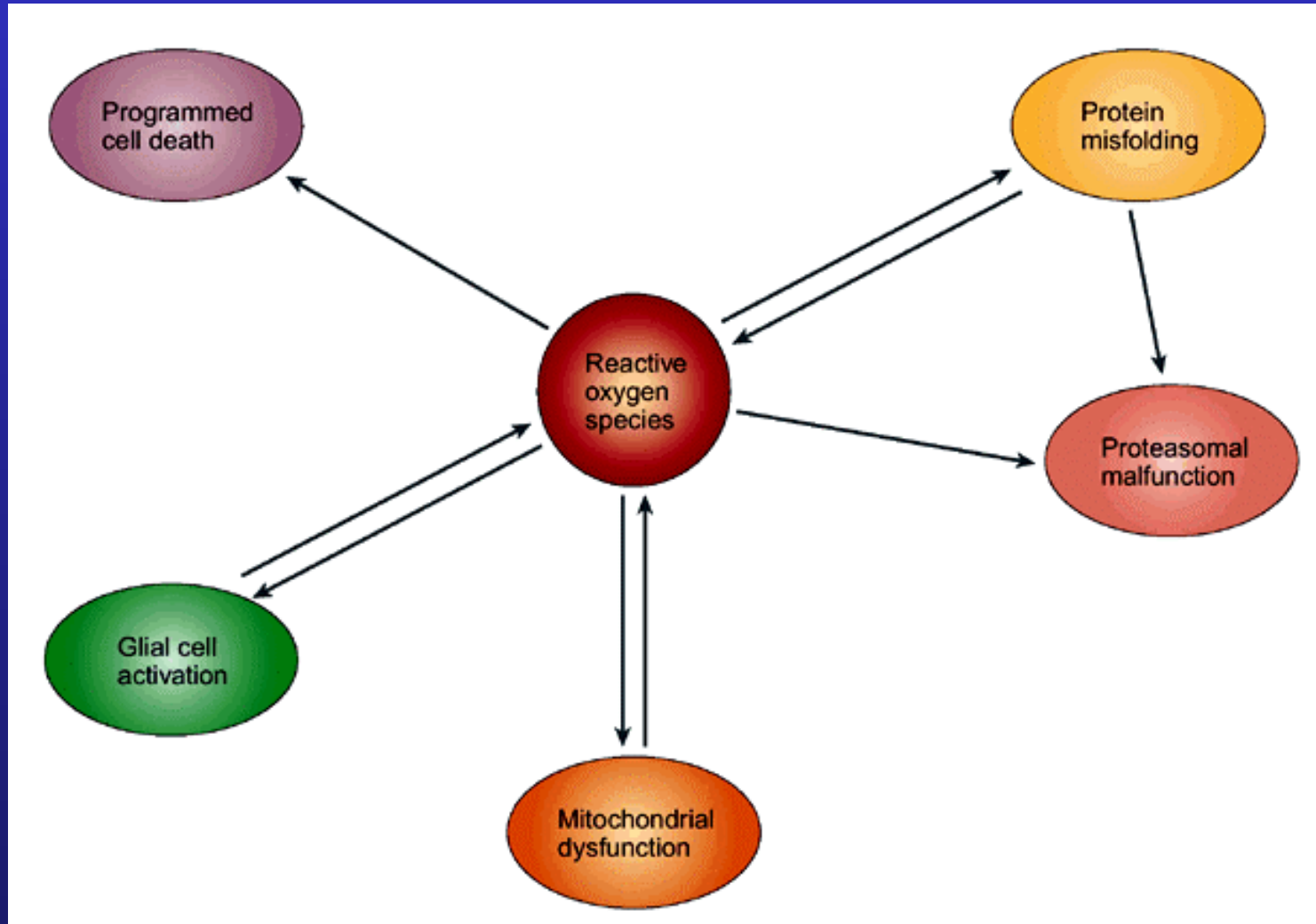
**Sobre todo + 65 años!!**

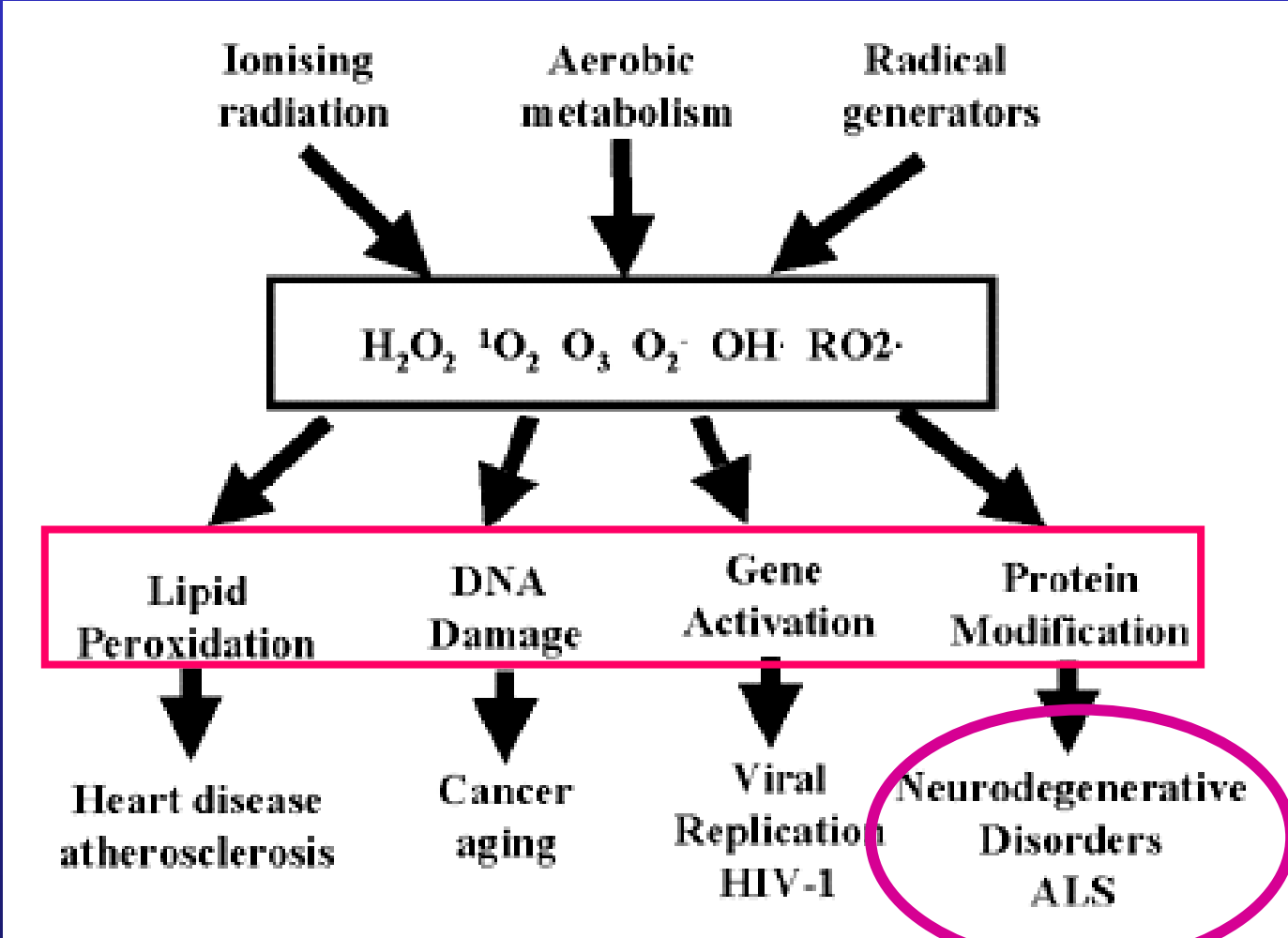
# ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

- \* NO se sabe si el Estrés Oxidativo es el evento **inicial**
- \* Pero hay evidencias de su implicación en daño celular
- \* El Estrés Oxidativo está en el centro de un **ciclo de eventos**



## PRODUCCIÓN DE ROS EN LOS EVENTOS QUE LLEVAN A ND





- \* Hay **MARCADORES de estrés oxidativo** (4-HNE, MDA) en áreas cerebrales de ND:

Sustancia negra - Parkinson

Cortex, hipocampo - Alzheimer

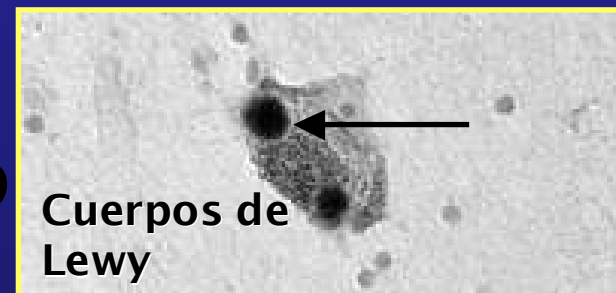
LCR - ALS

- \* ROS aumenta alteraciones de proteínas aberrantes:

$\beta$  amiloide en AD

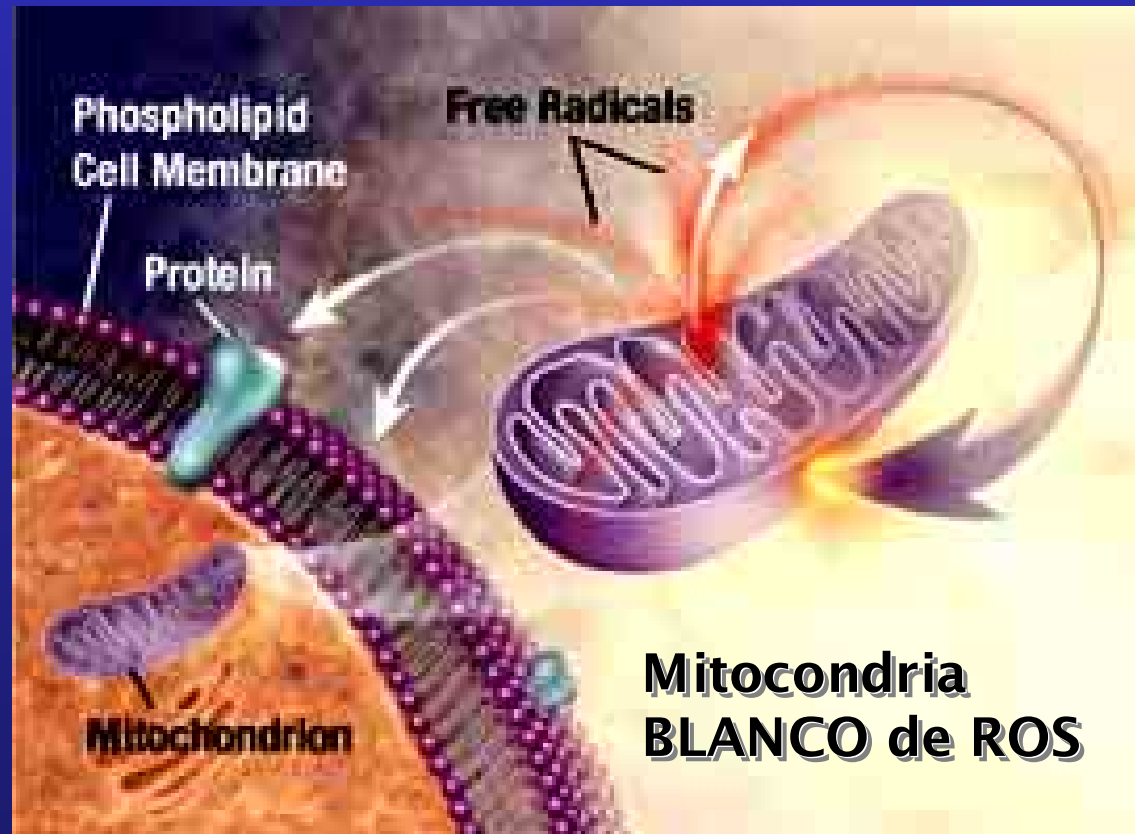
$\alpha$  synucleina en PD

SOD1 en ALS



## DAÑO OXIDATIVO PRODUCIDO POR RADICALES GENERADOS EN MITOCONDRIA

- \* Lípidos
- \* Proteínas
- \* ADN



# Mitocondria BLANCO de daño oxidativo

1. No hay reparación de ADN mt
2. ADN mt no está protegido por histonas
3. ADN mt está cerca de donde se produce ROS
4. El número de mitocondrias defectuosas se acumula con el envejecimiento



- Disminución de ATP
- Aumento de ROS
- Disfunción mitocondrial

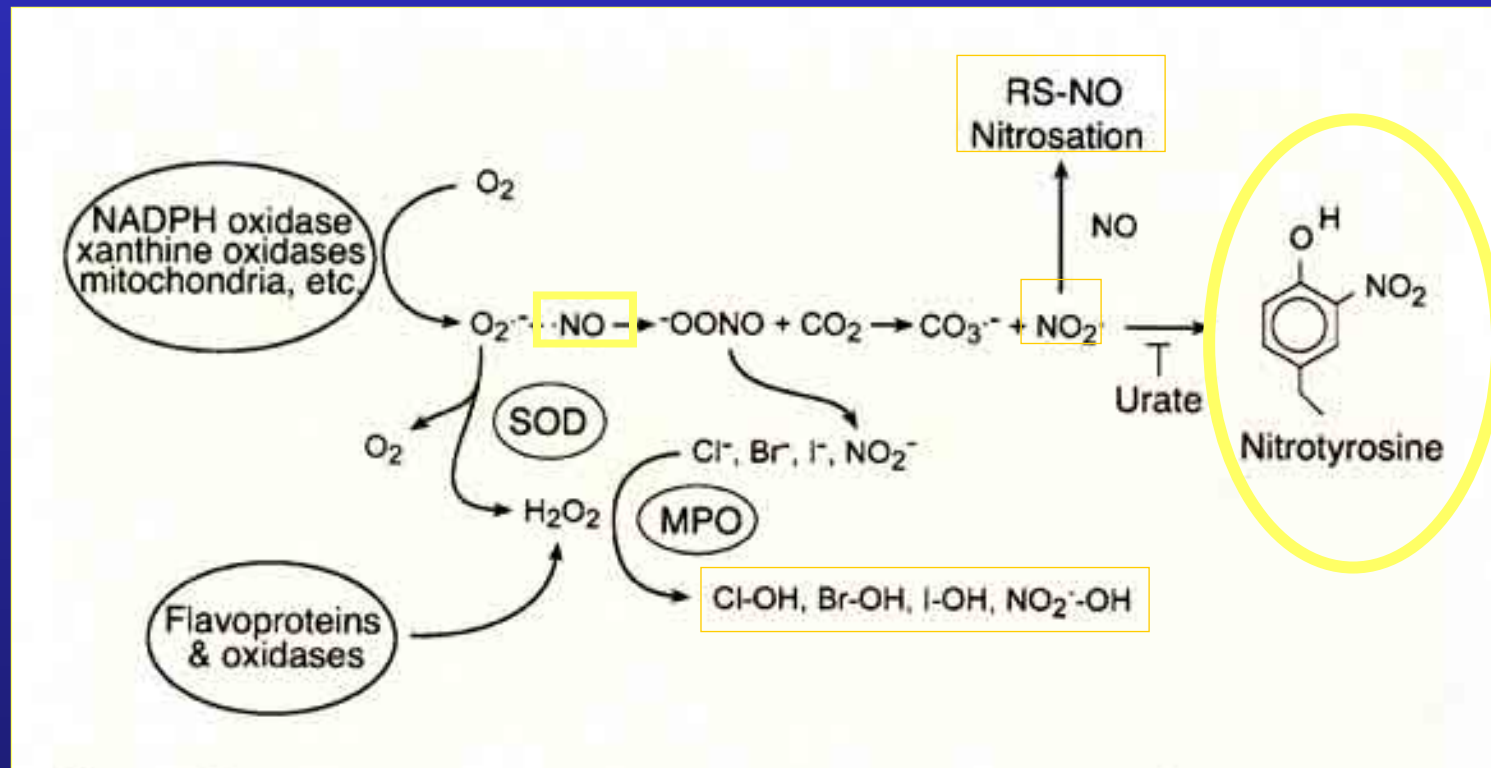
- Las **macromoléculas** dañadas deterioran arquitectura celular y llevan a la muerte
- Se ha demostrado que Vit C y E, y quelación de metales protegen al SNC



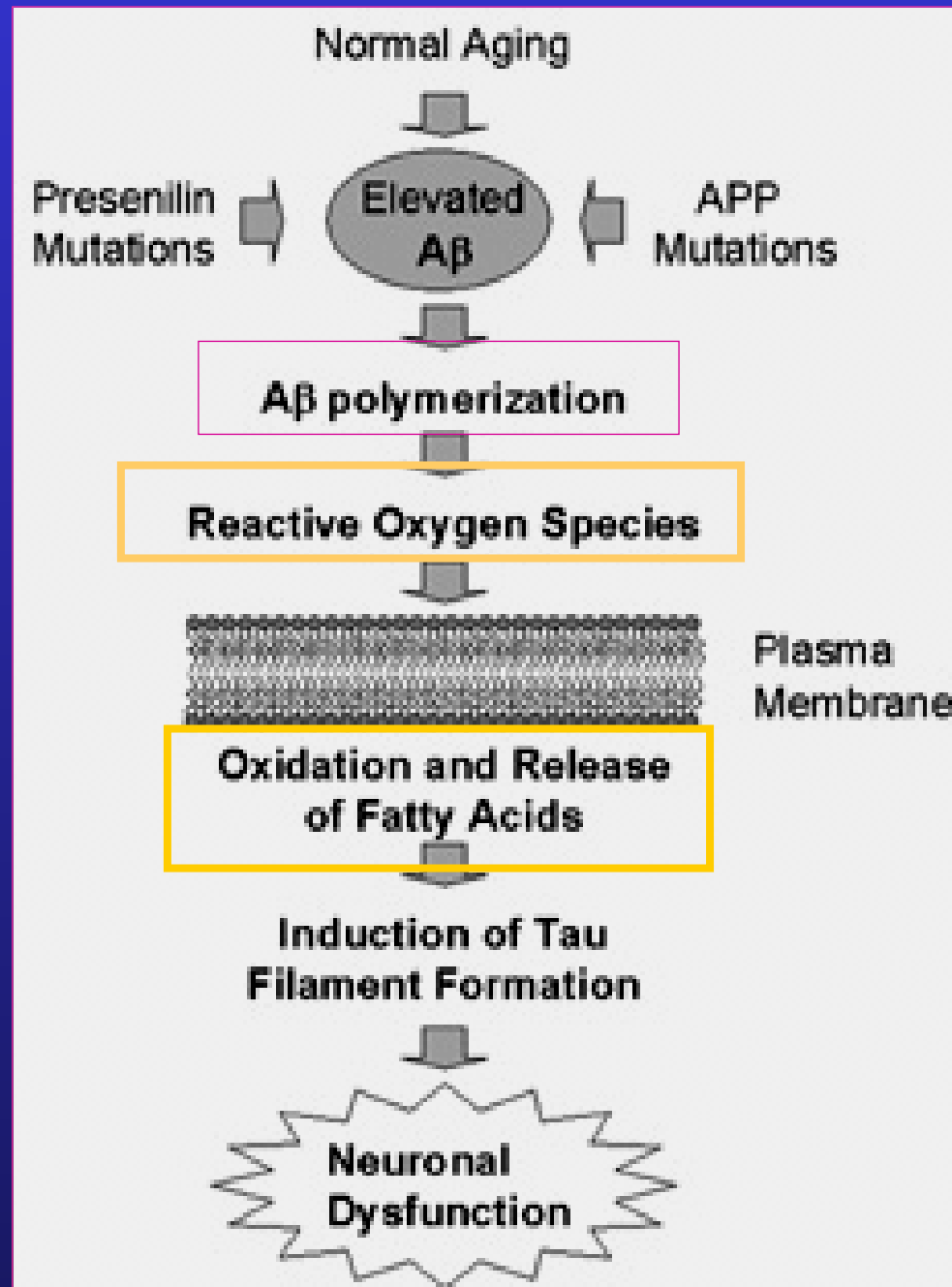
# ESTRÉS OXIDATIVO EN ALZHEIMER

- \* Reducción de ENZ. ANTIOXIDANTES
- \* Disminución de ÁCIDO ÚRICO  
Aumenta la Nitración de Tyr
- \* Aumento de ROS aumenta:
  - Peroxidación de lípidos
  - Acumulación de Zn
  - Agregados de A $\beta$  rápido
  - Apoptosis

# NITRACIÓN de TYR marcador precoz en Alzheimer, Parkinson y ALS



Hay nitrotirosina en tau y  $\alpha$  synuclín  
Ratones SIN iNOS son más resistentes  
a toxicidad por NMDA y MPTP



# ESTRÉS OXIDATIVO Y PARKINSON

La Sustancia Negra esta sometida **normalmente** a **Estrés Oxidativo** y deterioro del mecanismo antioxidante

## 1. AUTOXIDACIÓN DE DA

Presencia de neuromelanina

Formación de **DA quinonas** y ROS

## 2. DEGRADACIÓN DE DA POR MAO

Producción de **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** y **GSSH** (disminuye **GSH**)

## 3. AUMENTO DE HIERRO

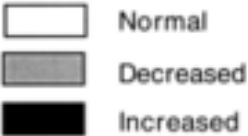



La reacción de Fenton produce **radical °OH**

- \* La vía DA nigro-estriatal es particularmente sensible a tóxicos:  
6-OHDA, MPTP que producen ROS
- \* La L-DOPA produce ROS **adicional** al existente  
En modelos animales L-DOPA aumenta la toxicidad de 6-OHDA y de MPTP!!!

*L-DOPA espada de doble filo*

# ENFERMEDAD DE PARKINSON

## PÉRDIDA DE NEURONAS Y CUERPOS DE LEWY

Healthy individuals	Incidental Lewy body disease (presymptomatic PD)	Advanced PD
	Lewy bodies Some cell loss Normal dopamine concentrations Glutathione Complex I Iron	Lewy bodies Severe cell loss Reduced dopamine concentrations Glutathione Complex I Ferritin Iron MDA formation Lipid hydroperoxides 8-Hydroxydeoxyguanosine SOD 5-S-cysteinyl dopamine Ascorbic acid $\alpha$ -tocopherol Catalase Glutathione peroxidase $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase
 <p>  Normal   Decreased   Increased                 </p>		

### INICIO

Disminución GSH

### TARDE

Disminución de DA

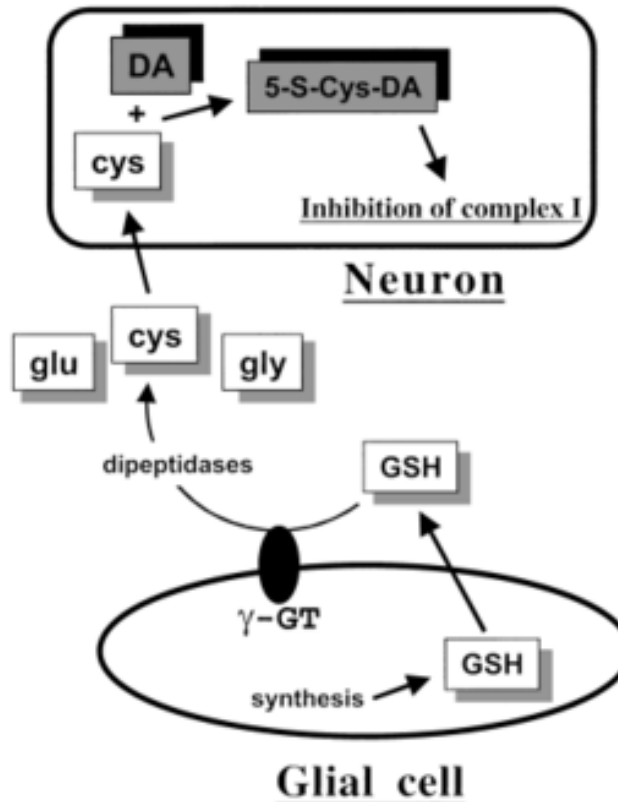
Daño de Complejo I

Aumento de Hierro

Macromoléculas dañadas

## Compuestos derivados de oxidación de DA que Inhiben el Complejo Enzimático Mitocondrial I

Possible neurotoxic action of (excessive) extracellular cystein in dopaminergic neurons:

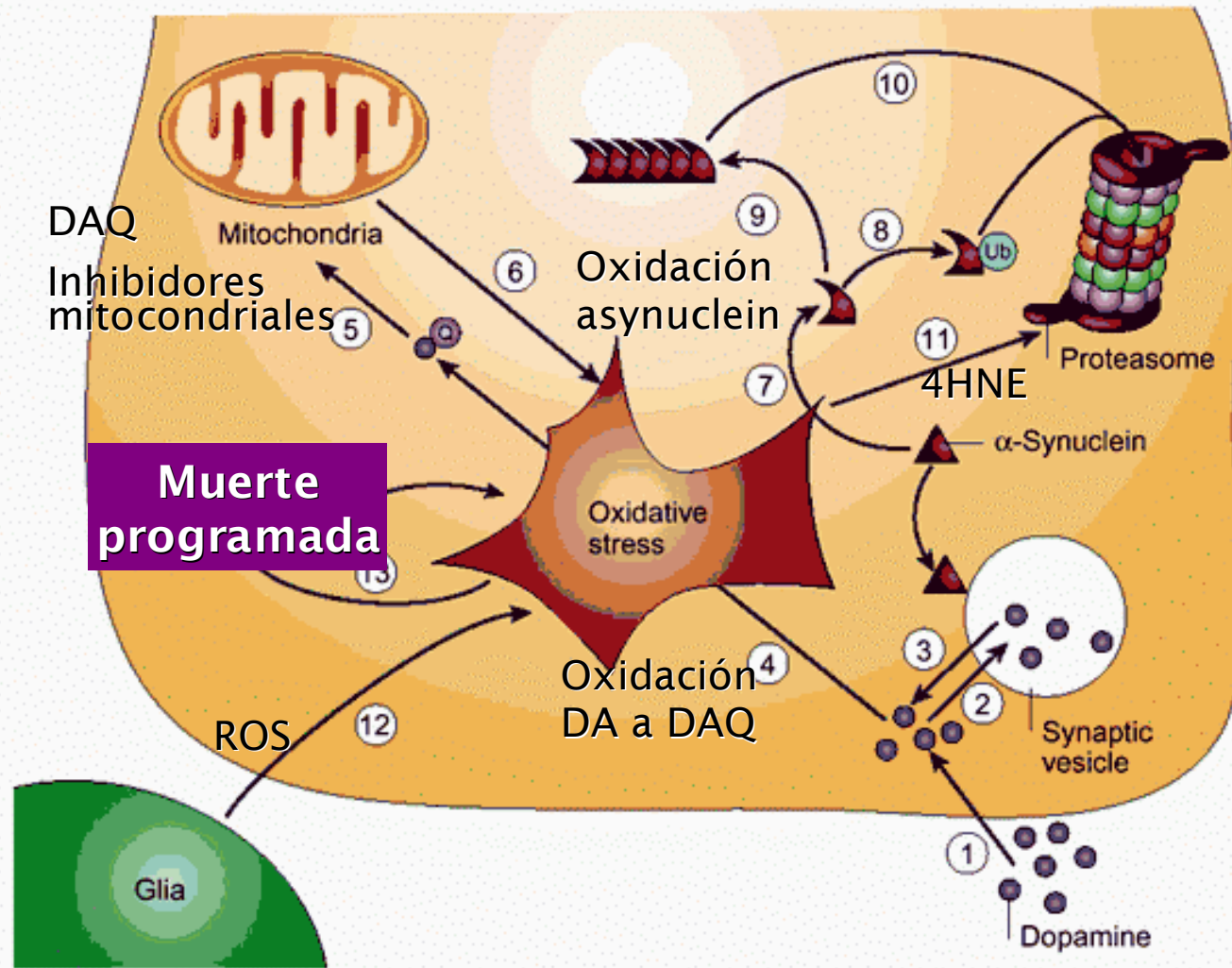


## ESTRÉS OXIDATIVO EN PARKINSON

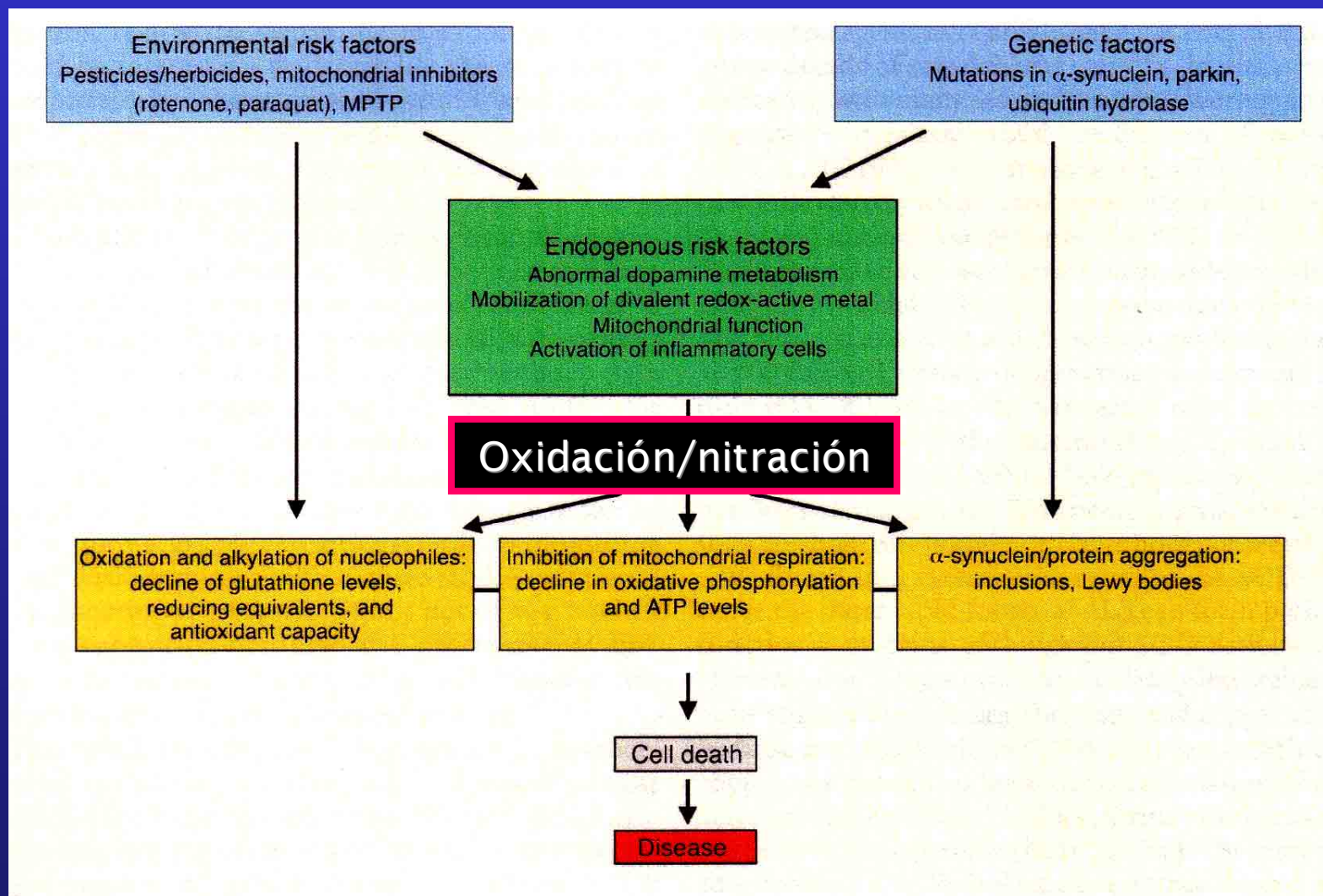
- \* La oxidación de DA, y el hierro libre pueden estar implicados en **oxidación de  $\alpha$  synuclein**
- \*  $\alpha$  synuclein oxidada libera DA al citoplasma lo que aumenta la **oxidación de DA**
- \*  $\alpha$  synucleina oxidada no es reconocida por el sistema de degradación de proteínas, se acumula y agrega en **Cuerpos de Lewy**



# Consecuencias de OXIDACIÓN en una neurona DOPAMINÉRGICA



# ROL CENTRAL PERO **NO INICIAL** DE PROCESOS OXIDATIVOS



EN LA PATOGÉNESIS DE PARKINSON

# ESTRÉS OXIDATIVO EN ALS

- \* En modelos de ALS SOD1 hay peroxidación de lípidos, oxidación de ADN y nitración de proteínas
- \* Parece ser por “ganancia tóxica” de SOD1, la cual actúa como peroxidasa y superóxido reductasa aumentando **peroxinitrito** (forma más agresiva)



\* La expresión de **iNOS** en la glia **aumenta** la **ND**  
La **MINOCICLINA** bloquea **iNOS**, disminuye  
**NO**, disminuye **ROS** y previene el daño en  
modelos de **ALS** y **MPTP**

# **ESTRÉS OXIDATIVO (ROS y RNS)**

**y**

**Disfunción mitocondrial,**

**Mal plegamiento de proteínas,**

**Deterioro de la degradación de proteínas**

# TERAPIA RACIONAL DE ESTRÉS OXIDATIVO

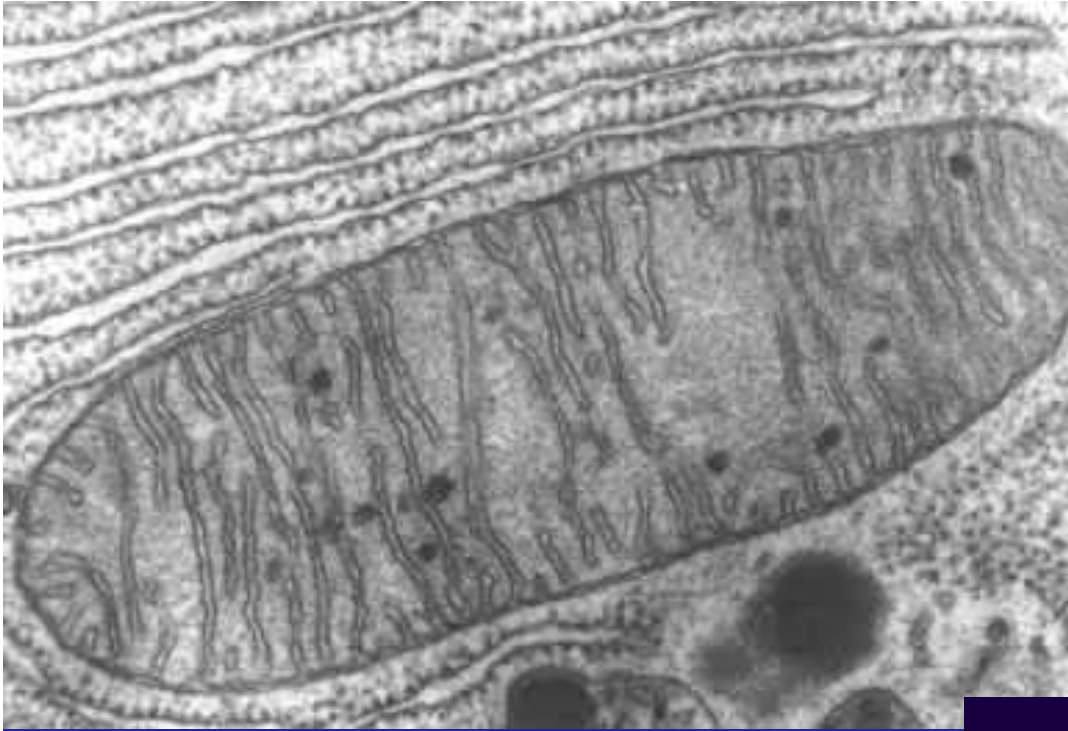
- \* Aumentar antioxidantes

- \* Reducir ROS

  - Quelantes

  - Inhibidores de iNOS

**DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL  
Y  
NEURODEGENERACIÓN**

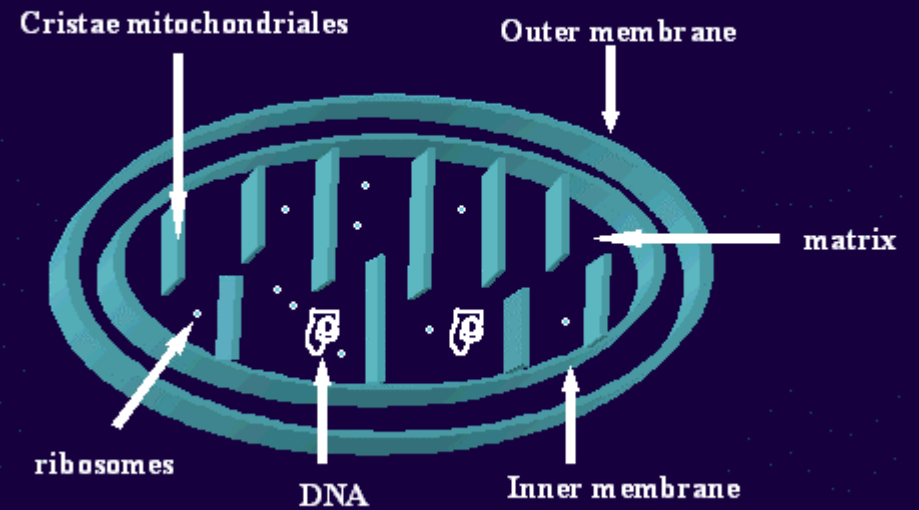


# MITOCONDRIA

Organelo que genera energía para la célula

## FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

### Mitochondrial Compartments





Oxidación:

Remoción de  $H^+$  o  $e^-$  de una molécula

Reducción:

Adición de  $H^+$  o  $e^-$  a una molécula

Fosforilación

Aporte de fosfato a una molécula

# FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

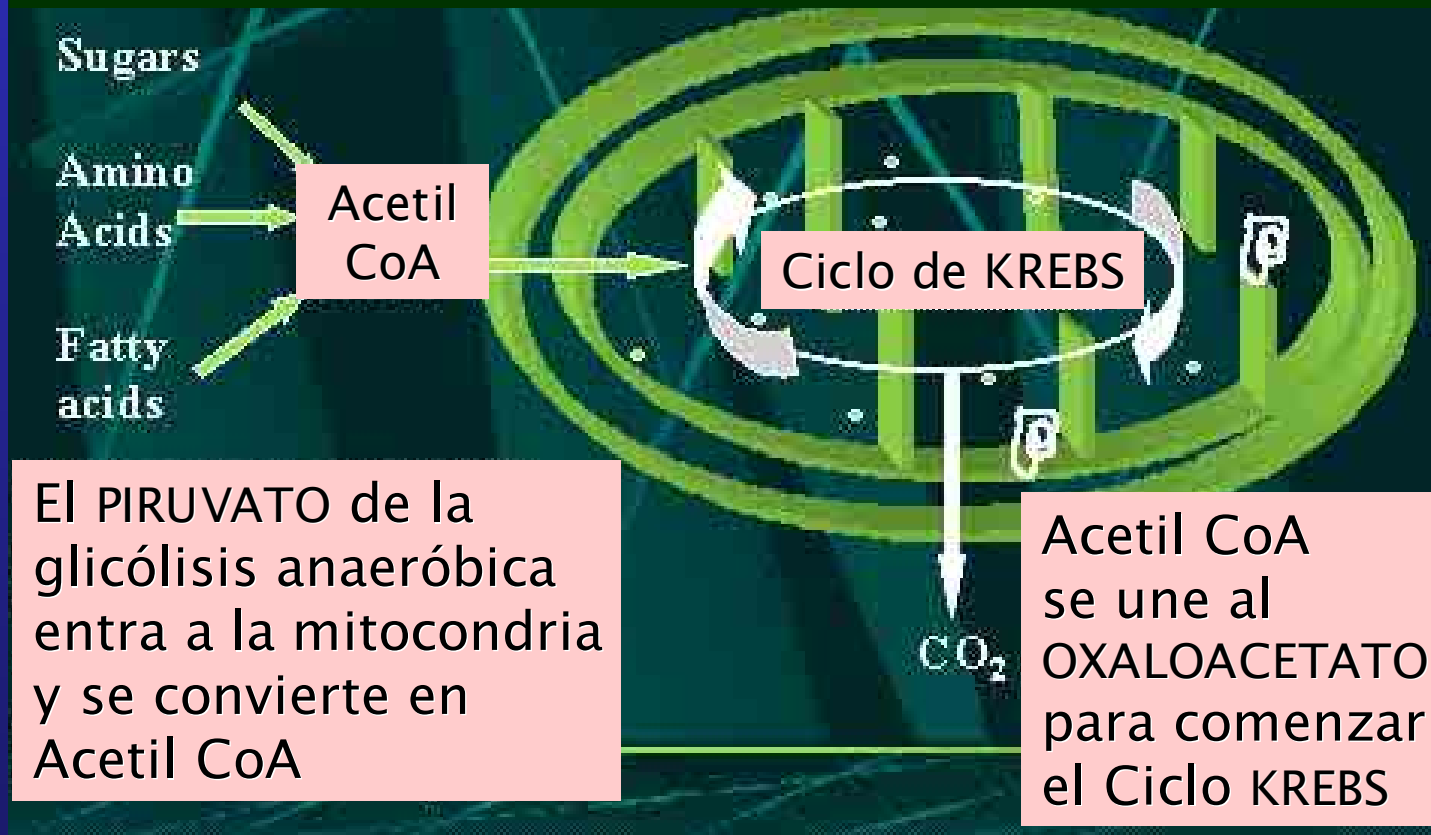
Acoplamiento de:

1. remoción de  $H^+$  de una molécula y
2. aporte de fosfato a otra

**1. OXIDACIÓN de NADH o FADH**  
a  **NAD o FAD**

**2. FOSFORILACIÓN de ADP**  
a  **ATP**

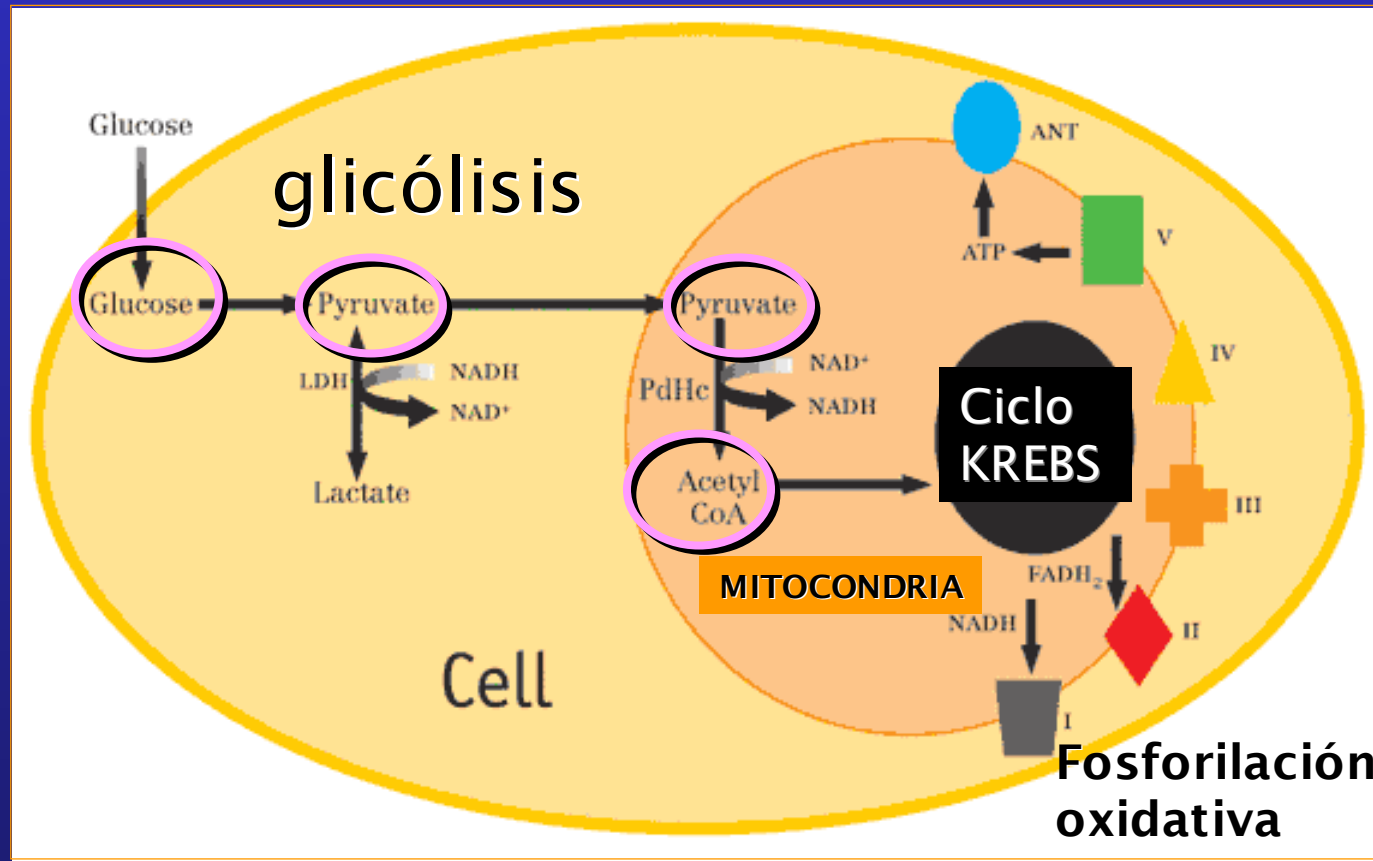
## ¿CÓMO ESTÁN ORGANIZADAS LAS MITOCONDRIAS PARA SER GENERADORES DE ENERGÍA?



El PIRUVATO de la glicólisis anaeróbica entra a la mitocondria y se convierte en Acetil CoA

Acetil CoA se une al OXALOACETATO para comenzar el Ciclo KREBS

# Metabolismo energético



¿De DÓNDE vienen los H<sup>+</sup> para la cadena de transporte de e-?

- \* Los  $H^+$  se producen en el Ciclo de KREBS (matríz mitocondrial)
- \* NAD o FAD toman los  $H^+$  (NADH y FADH)
- \* NADH y FADH se dirigen hacia los Complejos Enzimáticos Mitocondriales (repliegues de membrana interna mitocondrial)

# CADENA RESPIRATORIA

5 complejos enzimáticos:

- I **NADH ubiquinona oxidoreductasa**
- II Succinato ubiquinona oxidoreductasa
- III Ubiquinona Citocromo c reductasa
- IV Citocromo c oxidasa
- V ATP sintetasa

2 transportadores de electrones:

Ubiquinona o Coenzima Q  
Citocromo C

**Los IONES HIDRÓGENO dan:**

**Protones para las bombas  $H^+$**

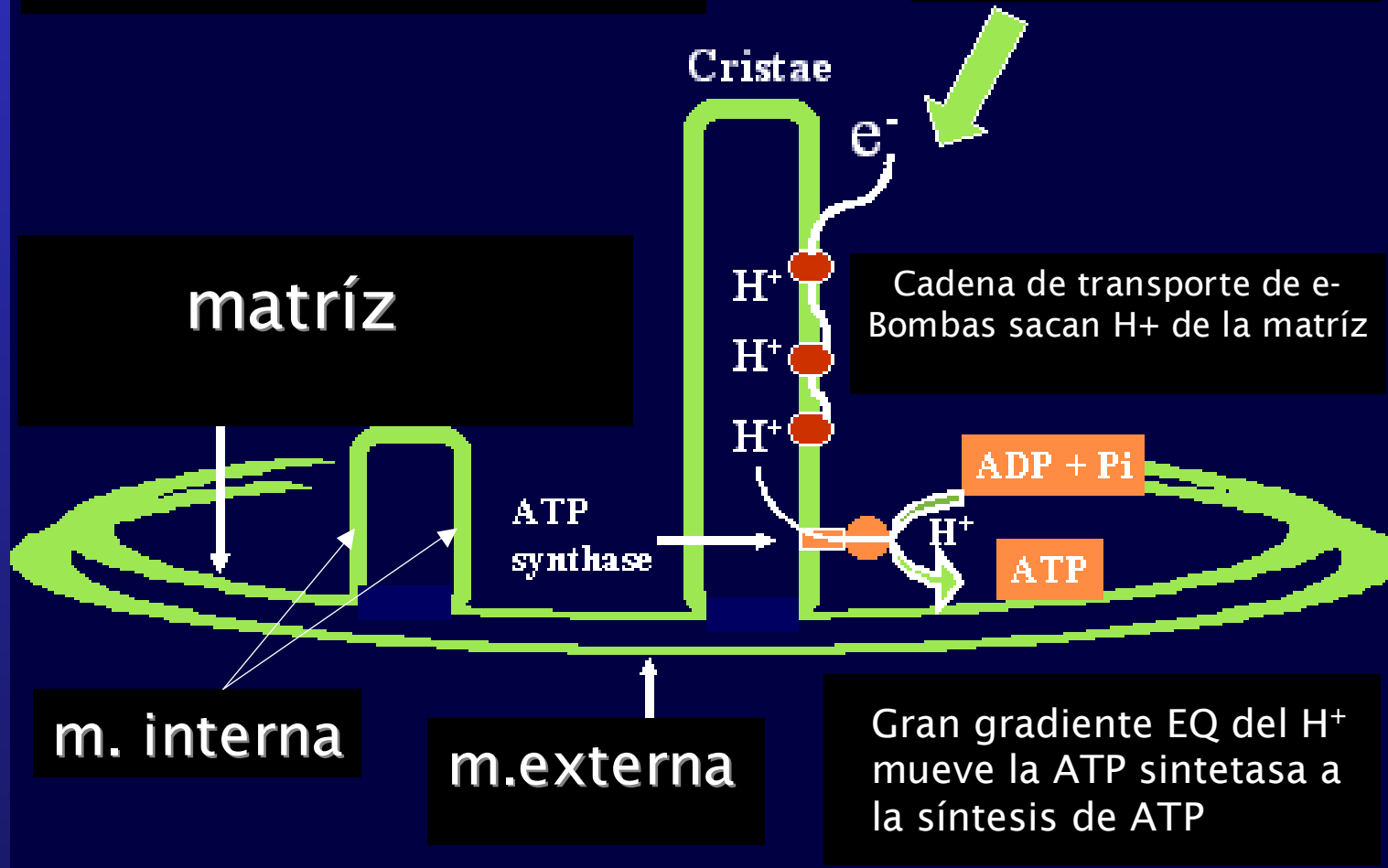
**y**

**Electrones  $e^-$  para la cadena  
respiratoria**



Cadena de transporte de e<sup>-</sup>

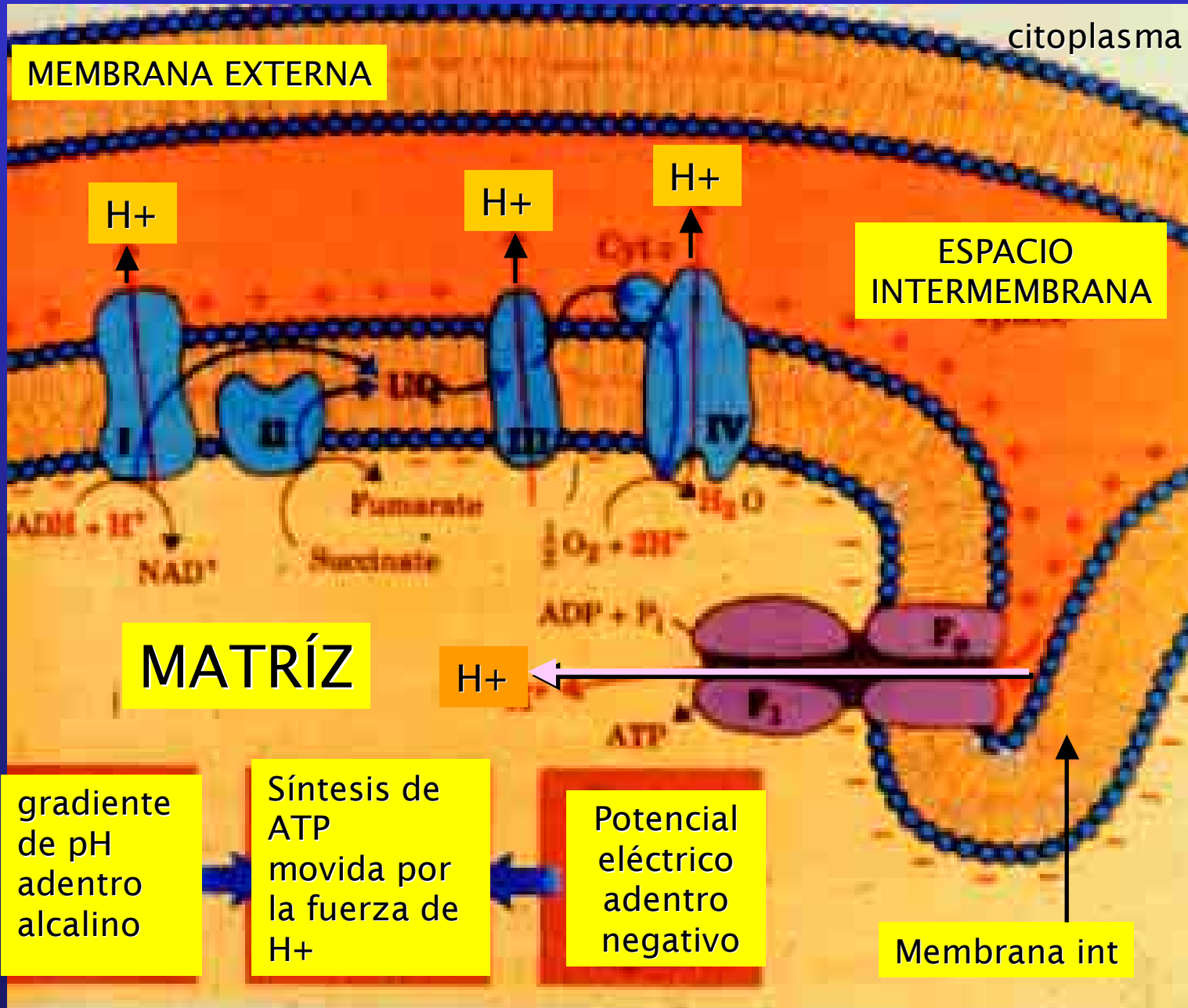
NADH y FADH<sub>2</sub> del Ciclo de Krebs



**1. NADH y FADH AL PERDER H<sup>+</sup>**

**SE  
OXIDAN**

**ESTÁN LISTOS PARA  
ACEPTAR H<sup>+</sup> NUEVAMENTE**



**GRAN  
GRADIENTE ELECTROQUÍMICO  
H<sup>+</sup>**

**Desde el espacio  
intermembrana a la matriz**

## 2. FOSFORILACIÓN DE ADP

Gradiente EQ  $H^+$

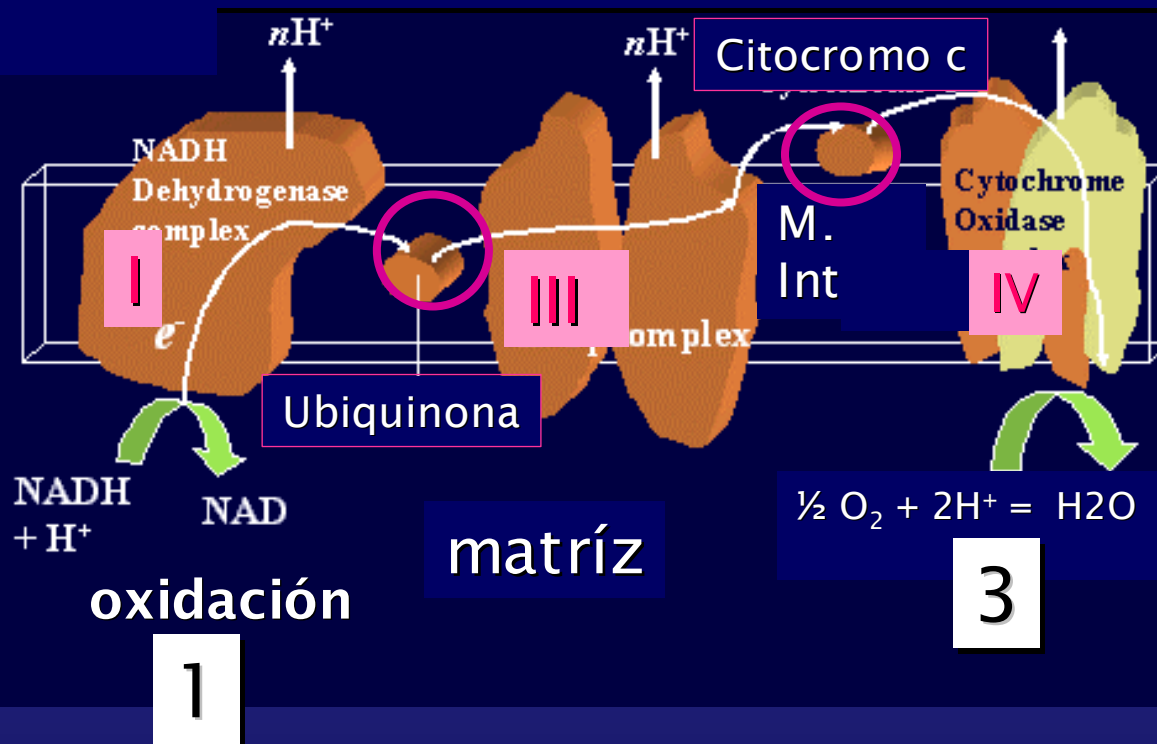


ATP  
sintetasa

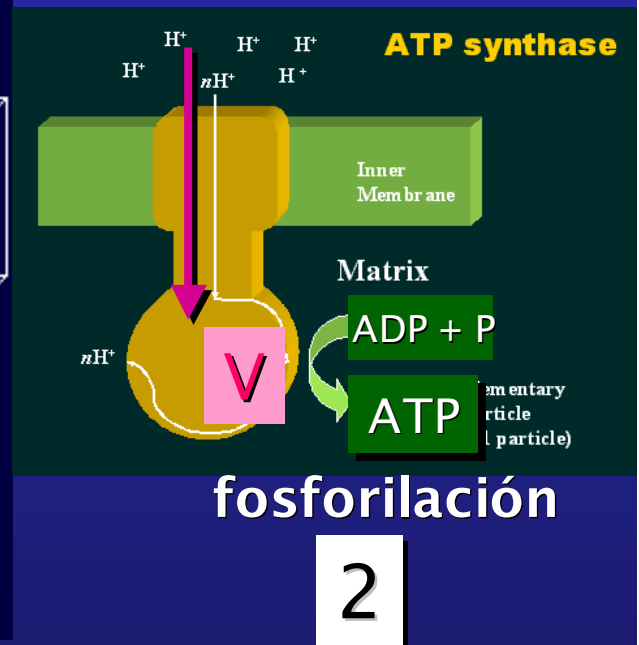


# FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

CADENA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES  
Establecimiento de gradiente de H<sup>+</sup>



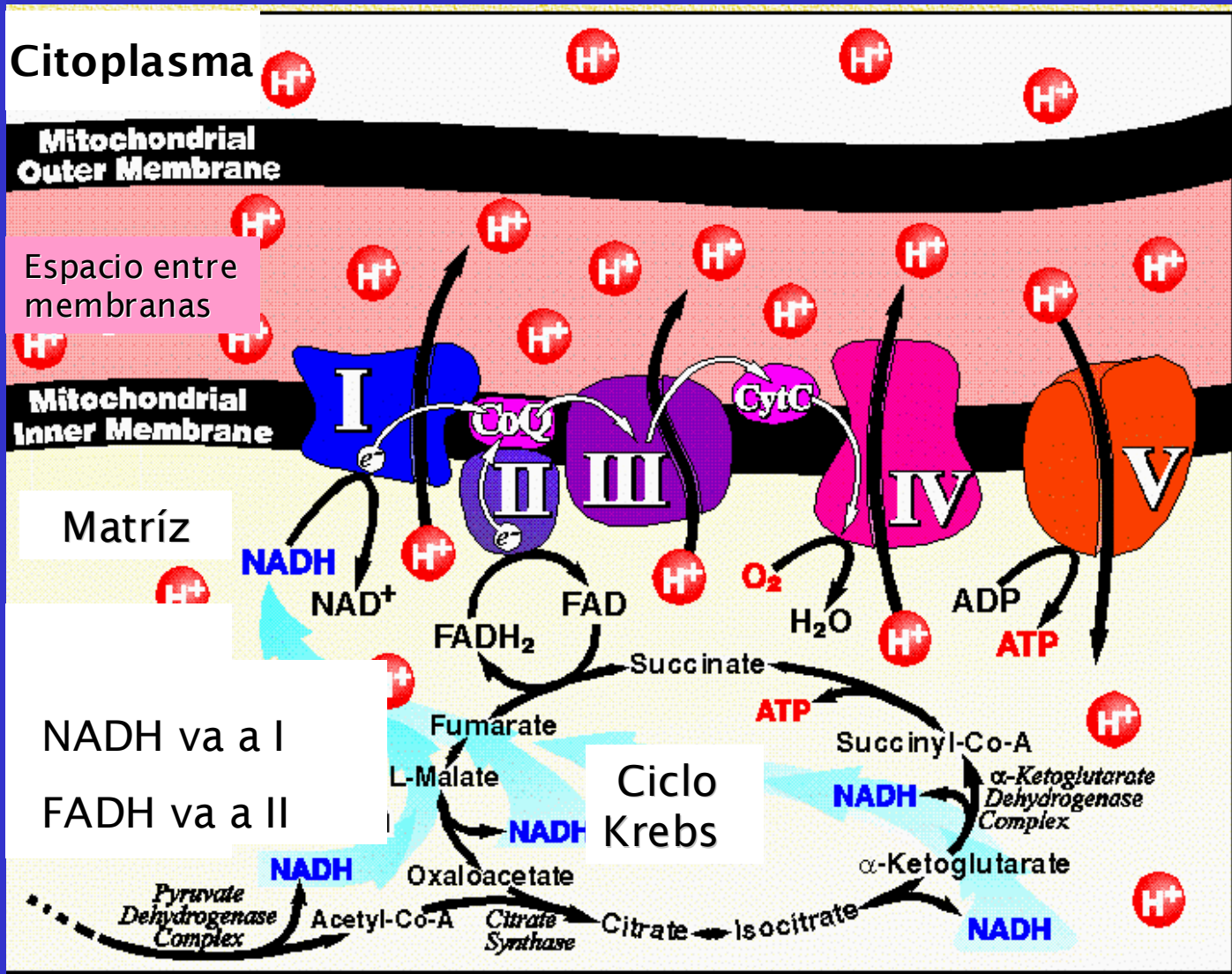
## SÍNTESIS de ATP



### **3. REDUCCIÓN FINAL DE OXÍGENO PARA FORMAR AGUA**



**PARA MANTENER EL GRADIENTE DE H<sup>+</sup>  
Y PODER FORMAR ATP**



Citoplasma

Mitochondrial Outer Membrane

Espacio entre membranas

Mitochondrial Inner Membrane

Matríz

NADH va a I

FADH va a II

Ciclo Krebs

Pyruvate Dehydrogenase Complex

α-Ketoglutarate Dehydrogenase Complex

Citrate Synthase



**El CEREBRO necesita:**

**Glucosa  
Oxígeno  
Mitocondrias**



**ATP**



**Alto consumo energético  
de las  
neuronas**

- \* Las Neuronas son altamente dependientes del metabolismo energético oxidativo
- \* Se ha propuesto a la **Disfunción mitocondrial** como mecanismo patogénico unificador para ND

## **La FOSFORILACIÓN OXIDATIVA genera la mayor parte de ATP**

**El deterioro para producir energía puede tener consecuencias catastróficas:**

- 1. Disminuye ATP**
- 2. Aumentan ROS**
- 3. Se altera homeostasis del calcio**

## LA MITOCONDRIA ES EL ÚNICO ORGANELO CON PROPIO GENOMA (ADN mt)

- \* El ADN mt codifica para un pequeño número de proteínas para Respiración Celular  
-algunos ARN ribosómicos y ARN transportadores-
- \* El ADN mt sólo se hereda de la madre, se divide y replica independientemente del ciclo celular y se distribuye al azar
- \* Las mutaciones en ADN mt tiene que afectar alto porcentaje para causar alteraciones funcionales pues la mayoría de las Enf. Mitocondriales por mutaciones son recesivas

## ENF. ND POR DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

- \* Mutaciones de ADN mitocondrial

Típicamente heterogéneas y multisistémicas  
Encefalocardiomiopatías (tej. dependen energía)

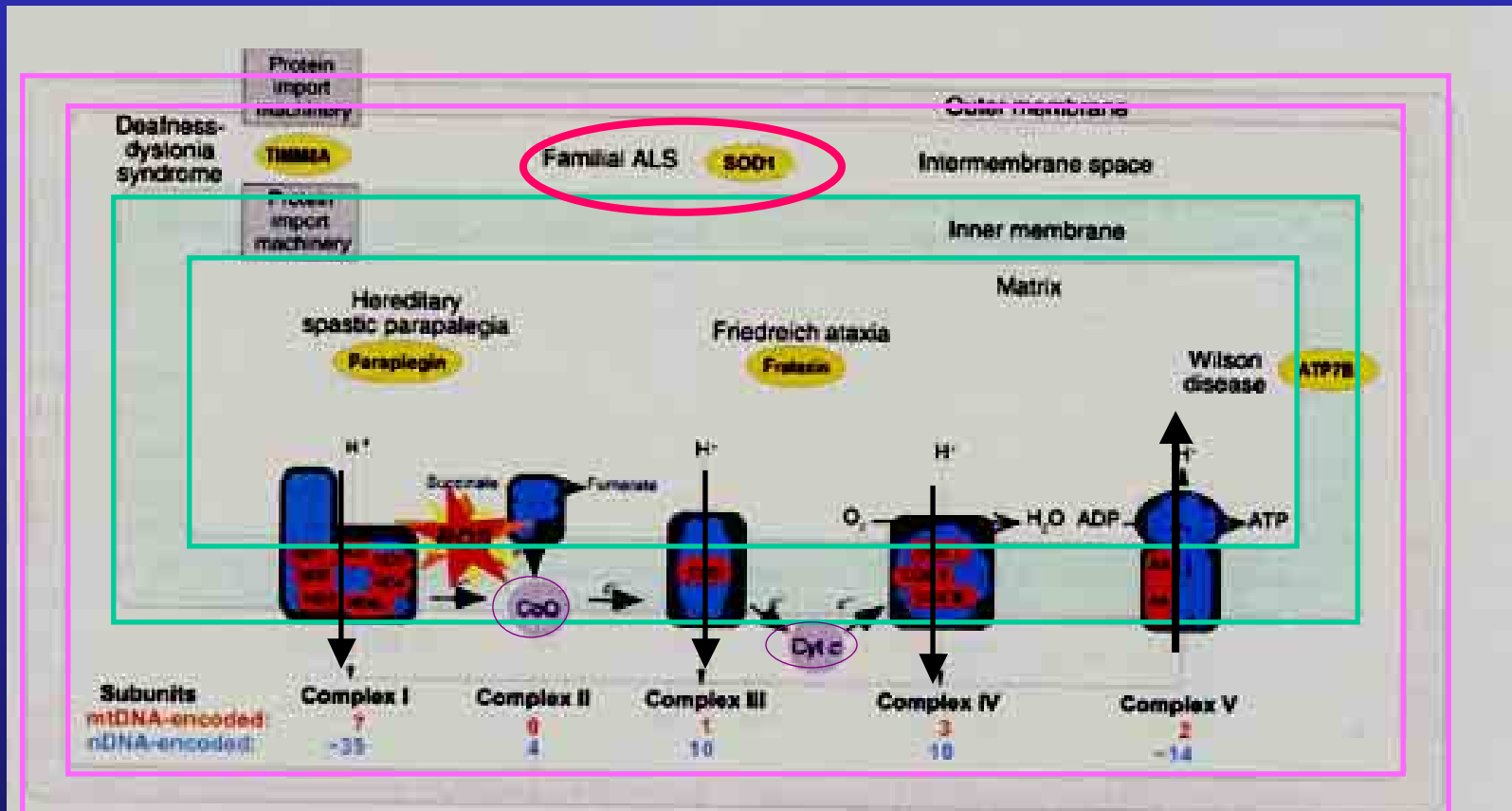
- \* Mutaciones ADN nuclear

cuyos productos van a la mitocondria  
Ataxia Friederich  
Enf. Wilson

- \* De causa desconocida y asociadas a mutaciones no mitocondriales

La **MAYORÍA** de las Enf. ND

# ENF. NEURODEGENERATIVAS UBICACIÓN INTRAMITOCONDRIAL DE PROTEÍNAS MUTADAS



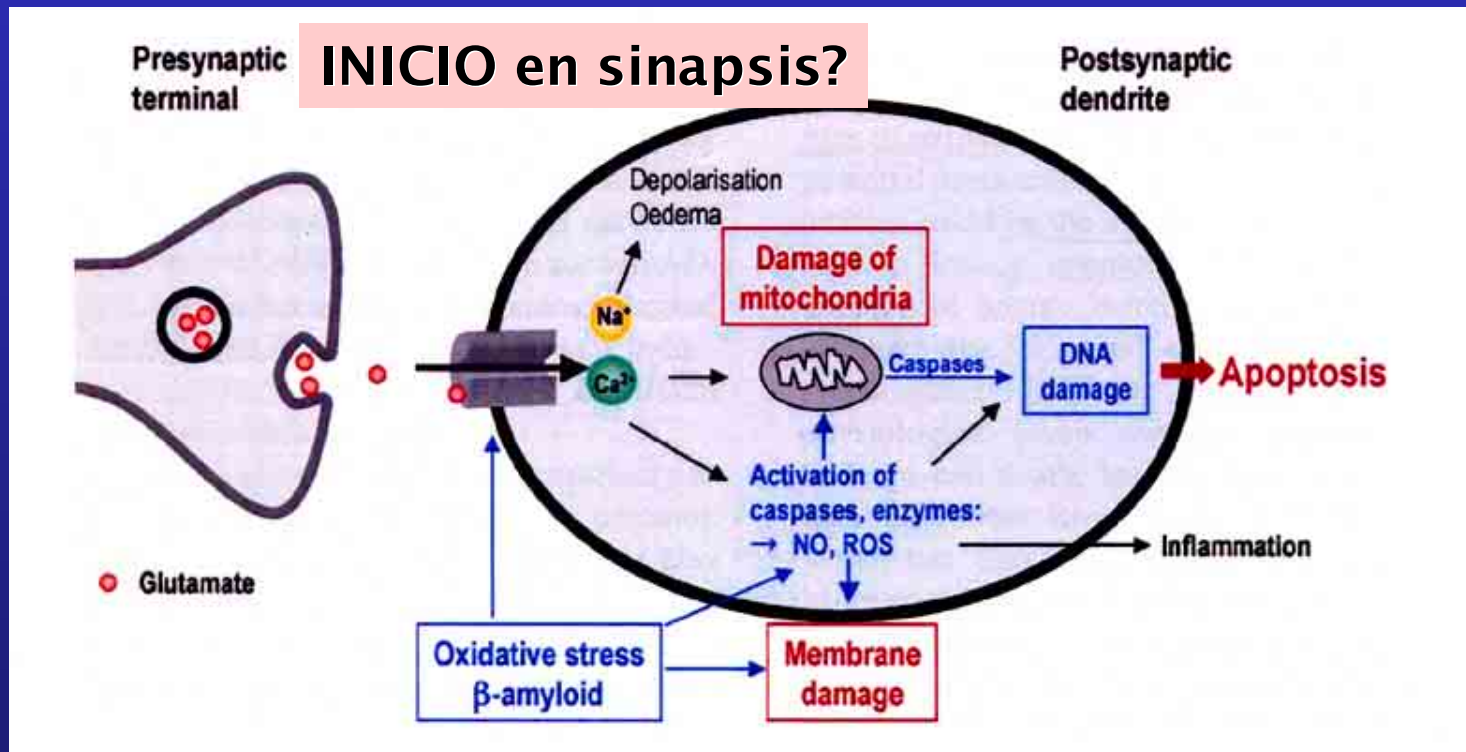
**DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL  
Y  
ENFERMEDAD NEURODEGENERATIVA**

## DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ALZHEIMER

- \* En la Hipótesis Amiloide el péptido **amiloide beta ( $A\beta$ )** derivado de APP se considera el centro de la patogenia
- \* En AD familiar hay evidencia de disfunción mitocondrial,  **$A\beta$  inhibe cadena respiratoria.** En trisomía 21 hay aumento de  **$A\beta$**  y alteración de Vm mt
- \* Para algunos ND comienza en la **sinapsis** donde hay más mitocondrias



# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ALZHEIMER



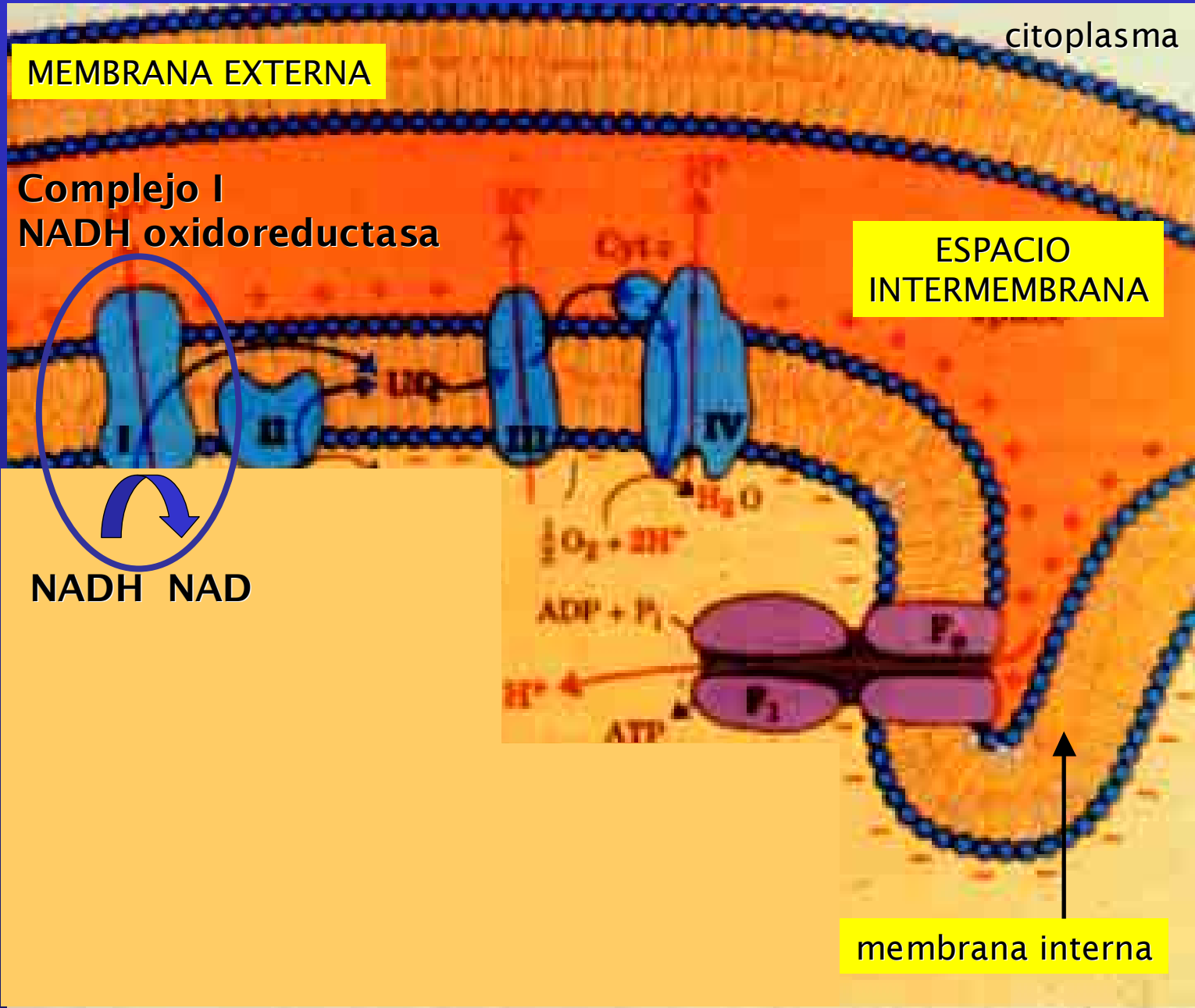
Exposición a  $\beta$  amiloide: disregula calcio, activa caspasas, genera ROS y NO, reduce  $V_m$  mt, apoptosis

# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN PARKINSON

\* **Falla del Complejo I**  
(NADH oxidoreductasa)



Disminución de ATP  
Aumento de ROS  
Apoptosis



# INHIBICIÓN DEL COMPLEJO I

1. Disminuye función mitocondrial (**disminuye ATP**)
2. Aumenta el estrés oxidativo (**aumenta ROS**)
3. Aumento de DA en citoplasma porque no es cargada dentro de la vesícula (se necesita ATP)
4. Se generan más productos de **oxidación de DA**
5. Se **oxida  $\alpha$  synuclein**, se agrega y aumentan Cuerpos de Lewy

# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN PARKINSON

## \* Factores ambientales tóxicos inhibidores selectivos Complejo I

MPTP (MPP<sup>+</sup>)

ROTENONE

PARAQUAT

Producen:

- Inclusiones con  $\alpha$  synuclein
- Muerte Neuronas DA

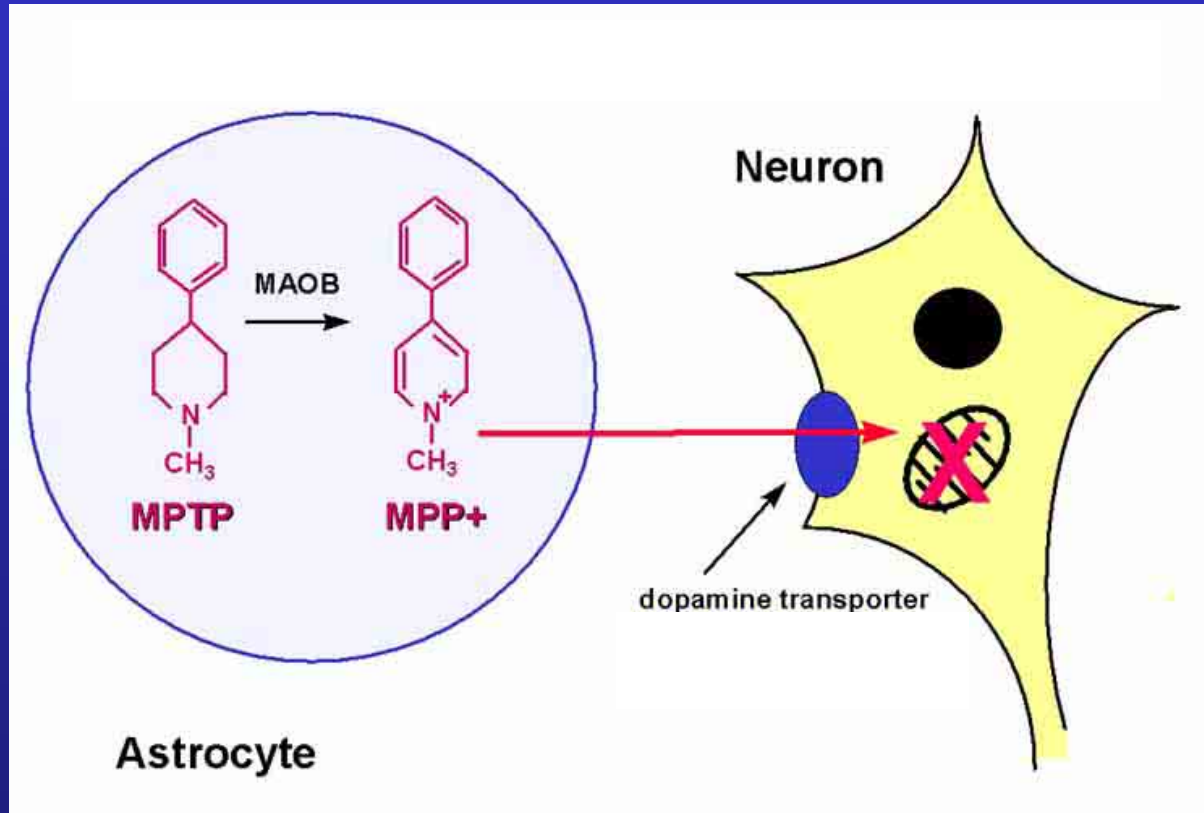


Cuerpos  
de Lewy

**¿Defecto en Complejo I  
es central en la patogénesis  
de Parkinson?**

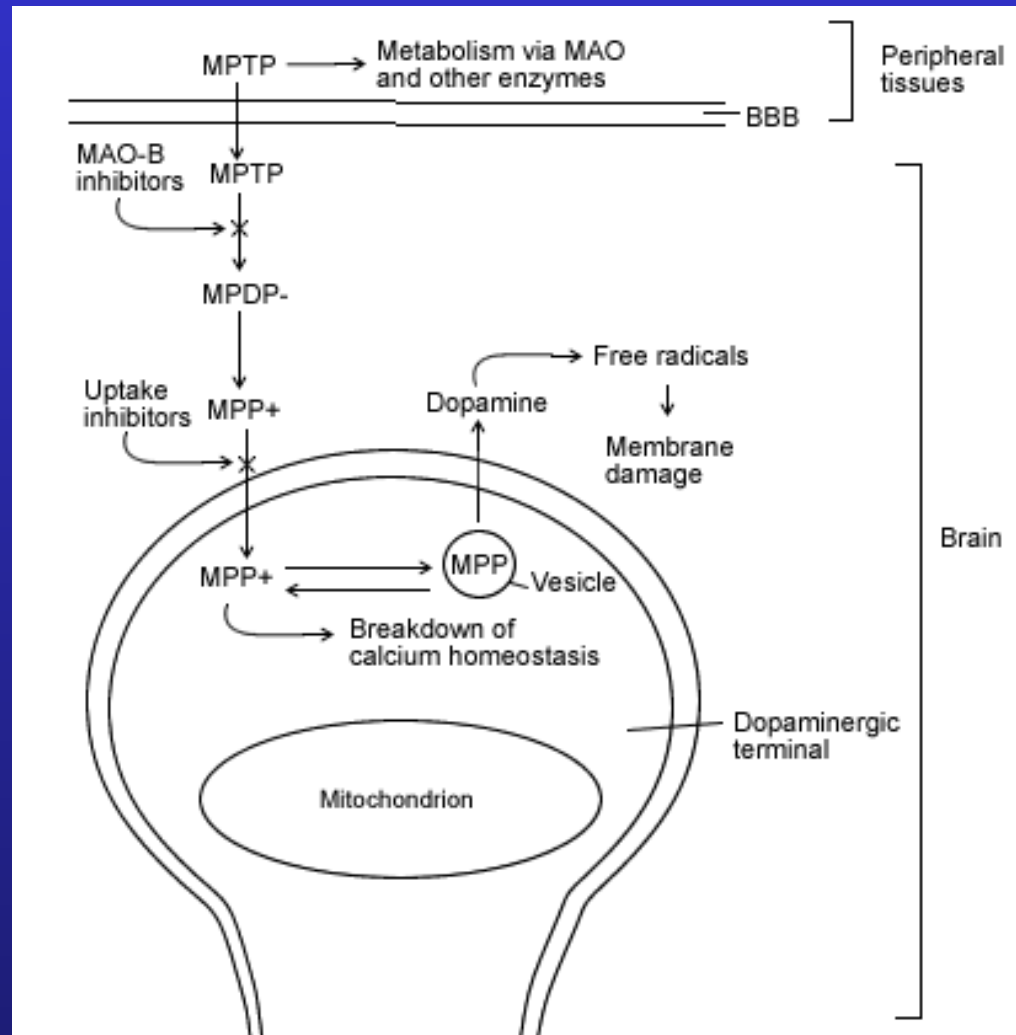
**MPTP** (1metil4 fenil1,2,3,6 tetrahidropiridina)

- \* Al inicio de los años 80 adictos a narcóticos súbitamente se volvieron parkinsonianos!!!
- \* El responsable fue MPTP un intermediario en síntesis de meperidina  
El metabolito activo es MPP<sup>+</sup>  
(1metil4fenilpiridium)



MPP+ es selectivamente tomado en N. DA  
No hay defecto sistémico de complejo I por lo que  
se considera no es buen modelo de Parkinson



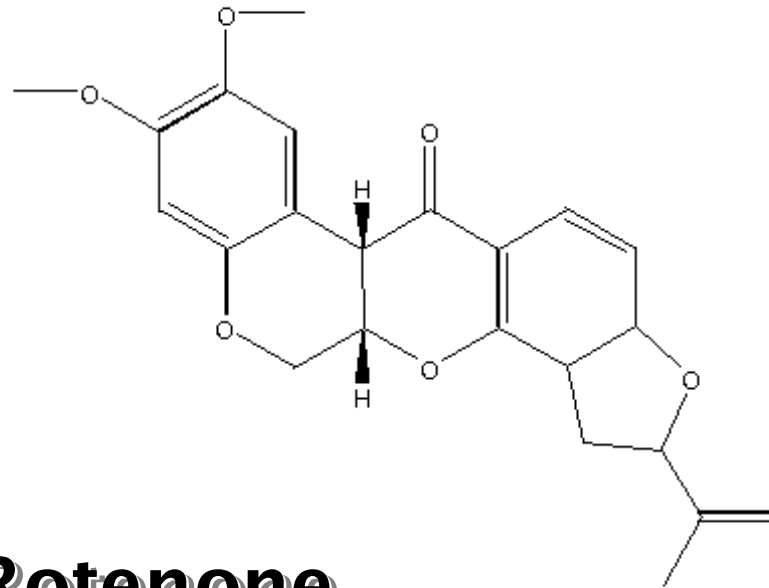


Aumenta ROS, disminuye ATP, aumenta DA en citoplasma, aumentan productos oxidados de DA que se unen a GSH y dan GSH-DAQ que inhiben Complejo I

## ROTENONE

- \* Es un insecticida y veneno para peces, causa parkinsonismo en ratas por administración crónica iv
- \* Produce inhibición sistémica de complejo I Bloquea transferencia de e<sup>-</sup> en la NADH reductasa, previene su uso como sustrato para la fosforilación oxidativa
- \* Es considerado un mejor modelo de Parkinson

## Estructura diferente a MPTP

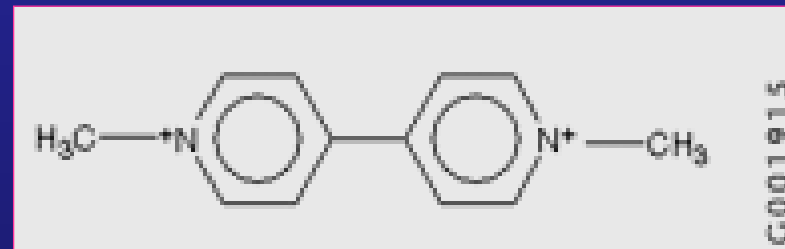
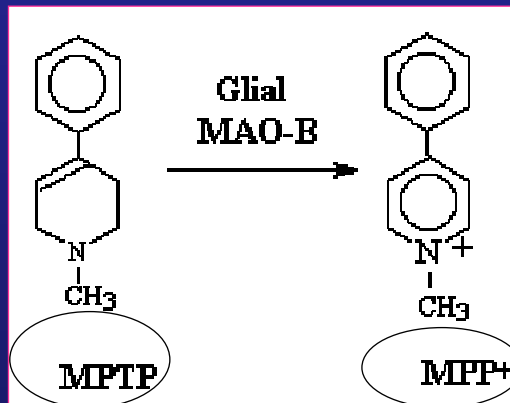


**Rotenone**

Pero, ¿por qué sólo daña N. DA nigroestriatales si su acción es sistémica?

# PARAQUAT

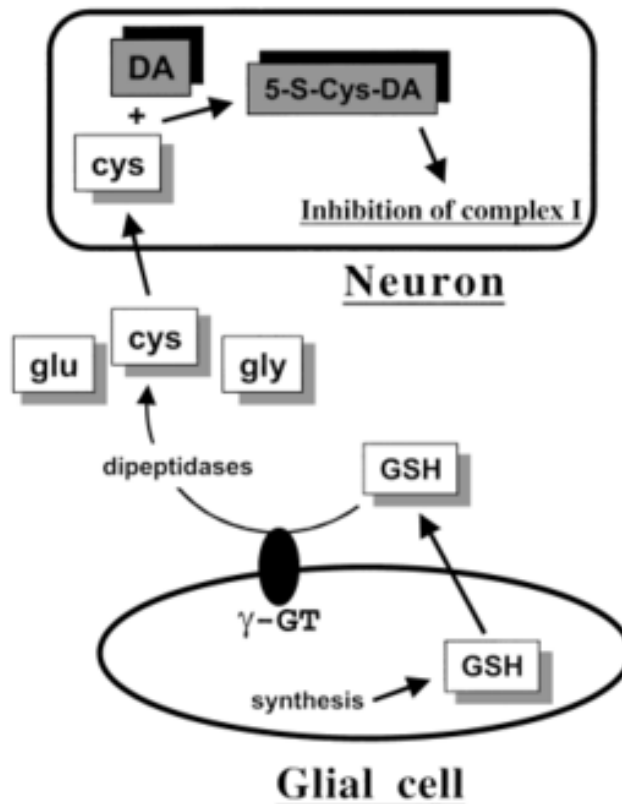
- \* Herbicida común que causa intoxicación inadvertida mortal y también es agente en suicidios, no hay tratamiento antídoto. Muerte horrible por falla sistémica de órganos!!!
- \* Tiene estructura similar a MPTP  
Afecta también a neuronas DA



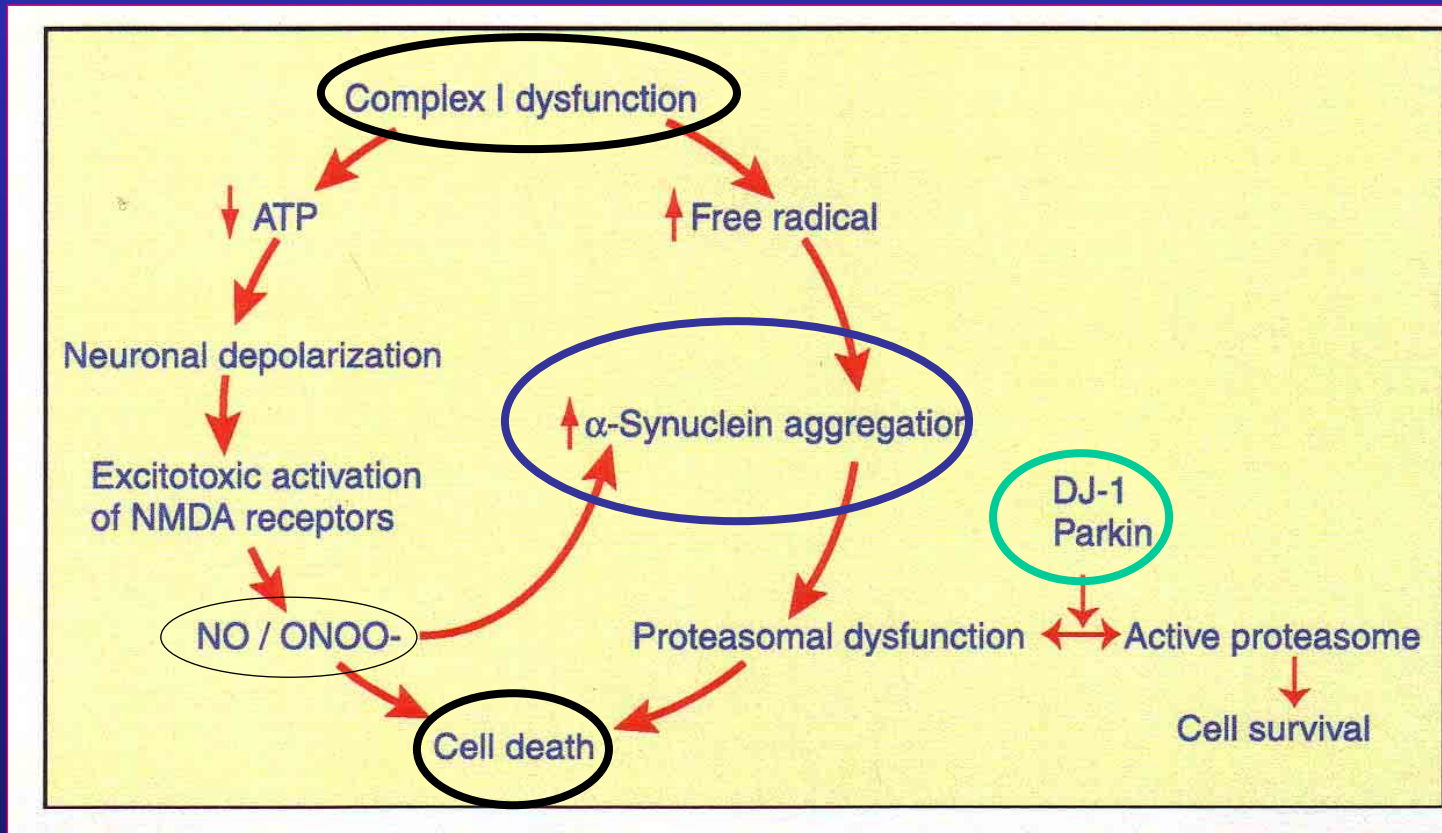
Paraquat

5-Cys-DA es un derivado del metabolismo de DA que **inhibe** al Complejo I Mitocondrial

Possible neurotoxic action of (excessive) extracellular cystein in dopaminergic neurons:



# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN PARKINSON



# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ALS

## MODELO DE ALS SOD1

- \* Motoneuronas con **degeneración mitocondrial masiva**, daño oxidativo y apoptosis vía mitoc
- \* La **Cu-Zn SOD** está en citosol y en el espacio intermembranas mitocondriales, la SOD podría **dañar directamente** la mitocondria
- \* Acumulación de **mitocondrias anormales** en motoneuronas en pacientes ALS

**MINOCICLINA** inhibe directamente permeabilidad mitocondrial, evita apoptosis y aumenta sobrevivencia de los animales

# DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN HUNTINGTON

MODELO DE HUNTINGTON (huntingtin mutada Htt )

- \* Htt mutada se ha encontrado en membrana mitocondrial
- \* Mitocondrias cerebrales tienen un bajo potencial de  $V_m$  mt y tendencia a despolarizarse a bajos niveles de calcio y vulnerabilidad a excitotox.
- \* Htt mutada interacciona con factores de transcripción críticos en el metabolismo energético mitocondrial y en la apoptosis vía mitocondrial

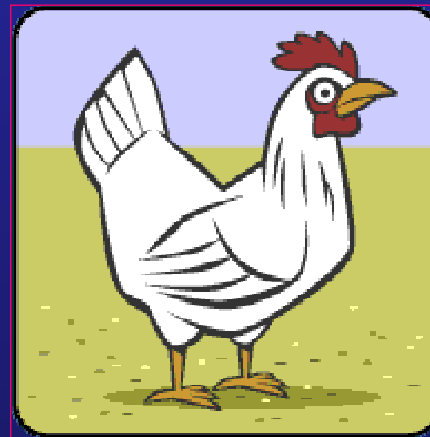


A pesar de muchas evidencias del daño funcional mitocondrial en estas enfermedades, todavía hoy continua el dilema:

QUIEN ES PRIMERO



?

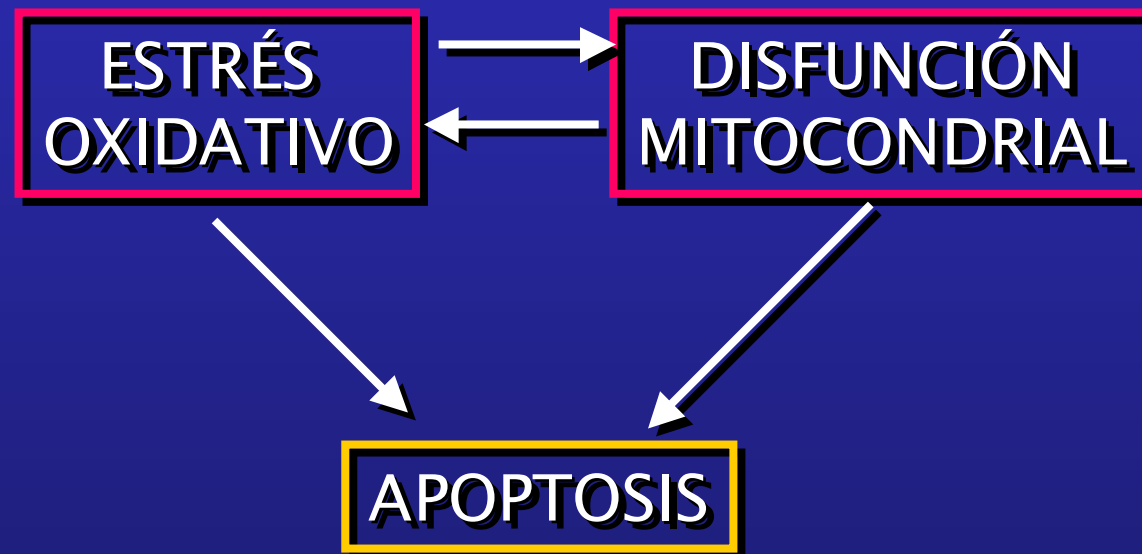


En las  
**ENF. NEURODEGENERATIVAS**

hay  
**APOPTOSIS**

e  
implicación de:

**ESTRÉS OXIDATIVO**  
**DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL**



**sigue...**

**2da. parte**  
**Mecanismos Patogénicos**  
**Moleculares**