

ACTUALIZACIÓN SOBRE NEURODEGENERACIÓN

Laboratorio de Fisiología de la Conducta
Febrero 2005

SERIES

I. INTRODUCCIÓN

II. PATOGENIA MOLECULAR

III. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

**IV. 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

1era parte

Neurodegeneración

ESTRÉS OXIDATIVO

agregación de
proteínas

apoptosis

DISFUNCIÓN
MITOCONDRIAL



necrosis

Excitotoxicidad

degradación de
proteínas

Inflamación

metales

muerte neuronal

1. MUERTE NEURONAL

2. ESTRÉS OXIDATIVO Y NITRATIVO

3. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

4. AGREGACIÓN DE PROTEINAS

**5. DISFUNCIÓN DEL SISTEMA
UBIQUITIN-PROTEOSOMA**

6. OTROS

**Muerte neuronal
en
Neurodegeneración**

- * **PÉRDIDA LOCAL DE NEURONAS Y GLIOSIS REACTIVA**
- * **NEURONAS SOBREVIVIENTES**
 - forma y tamaño alterados
 - reducción de prolongaciones
 - fragmentación de organelos
 - vacuolización y condensación de cromatina
- * **INCLUSIONES INTRANEURONALES**

MUERTE NEURONAL DISCRIMINADA

- **Poblaciones** neuronales específicas
- **Áreas** específicas funcional y anatómicamente conectadas aunque estén separadas

Ej. Degeneración Transneuronal
en ALS: motoneuronas de corteza y
médula espinal

¿Por qué?

UBICACIÓN Y EXTENSIÓN DEL DAÑO

En la mayoría de las Enf. ND
se conoce la localización, pero NO
la extensión de la lesión

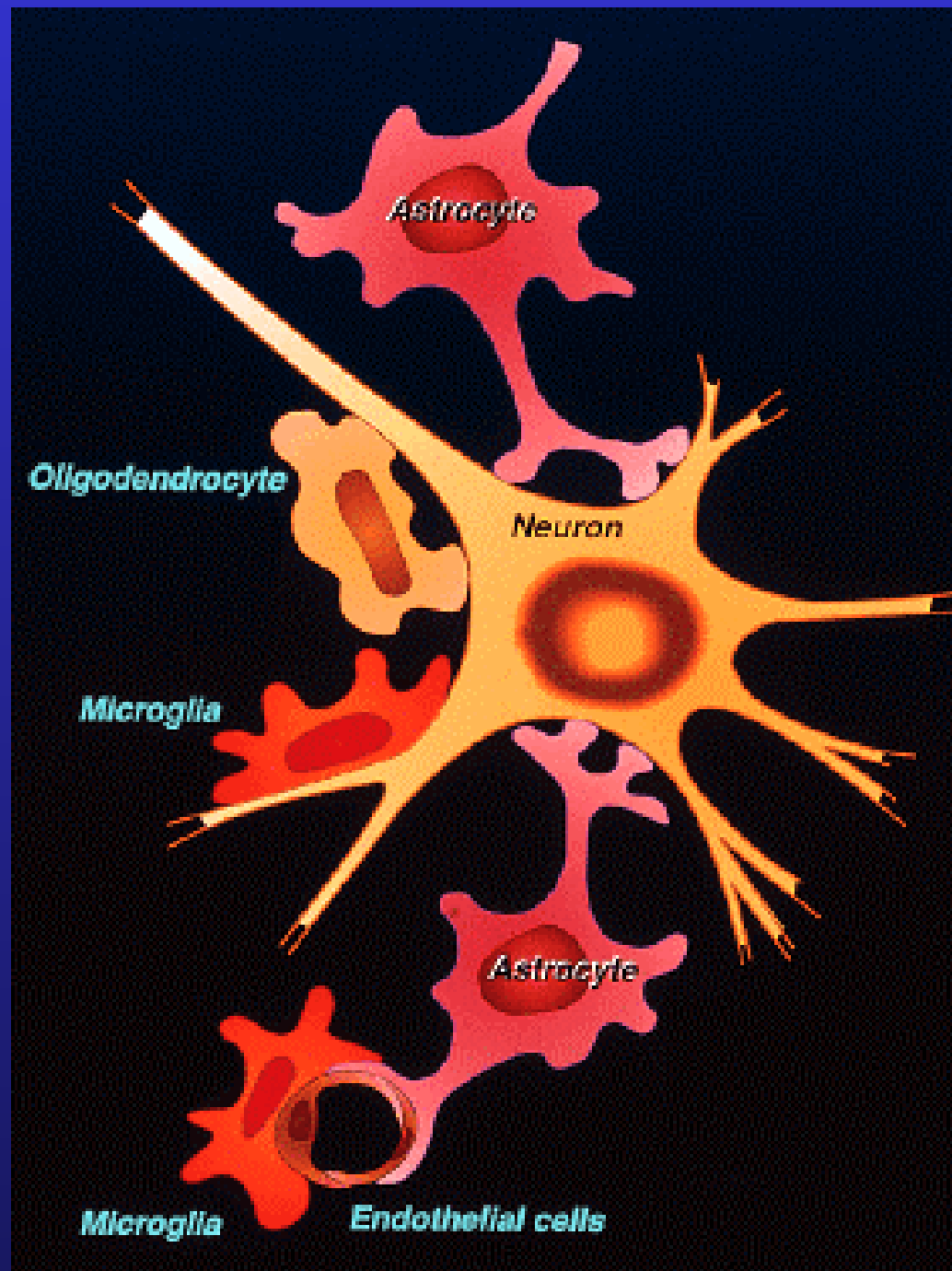
Establecer la **EXTENSIÓN** ha sido difícil

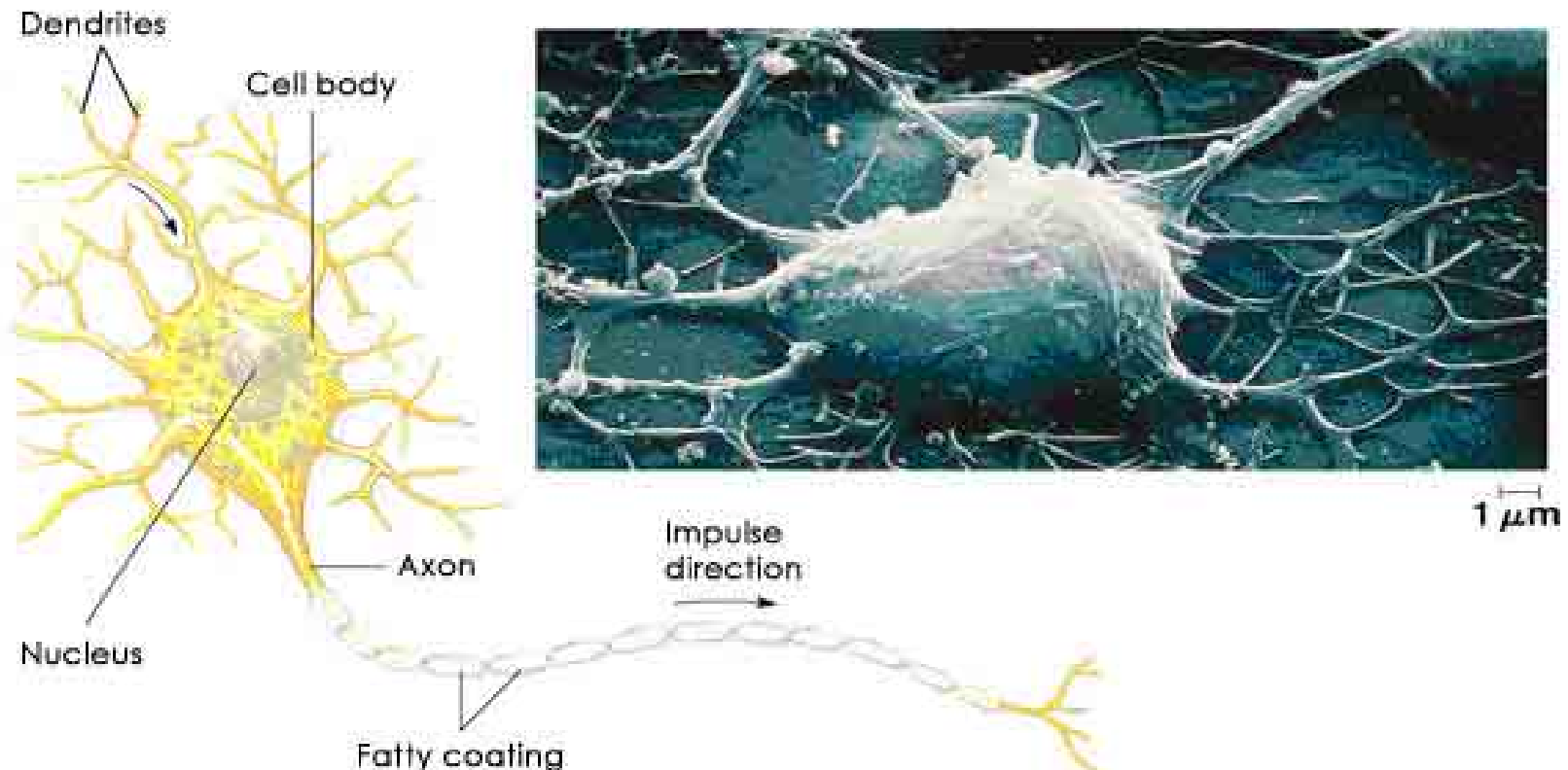
- examen incompleto,
- cuantificación no rigurosa
- las neuronas enfermas pueden perder marcadores usados para identificarlas y contarlas

Estimación de **DISTRIBUCIÓN Y MAGNITUD**
de muerte debe hacerse con cuidado

MUERTE NEURONAL

Tipos de células en el cerebro





Una neurona !

¿POR QUÉ MUEREN LAS NEURONAS?

- * En una enfermedad particular
NO se conoce QUÉ lleva a la muerte
- * No se sabe si la DIVERSIDAD de
DISFUNCIONES celulares son
PRIMARIAS O SECUNDARIAS

El proceso de MUERTE en la célula ocurre porque:

- Se dispara un programa autodestructor
- Es dañada por otras células
- Es dañada por neurotóxicos

FACTORES QUE CONTRIBUYEN A LA MUERTE NEURONAL

- **Estrés oxidativo**: aumenta ROS y/o disminuyen antioxidantes
- **Disfunción mitocondrial**/falla metabólica
- **Sobrecarga de calcio** intracelular
- **Excitotoxicidad**

TIPOS DE MUERTE NEURONAL

- * Muerte celular programada o

 - Apoptosis

 - caspasa dependiente

 - caspasa independiente (AIF)

- * Necrosis

APOPTOSIS vs. NECROSIS

APOPTOSIS

“Proceso de autodestrucción celular determinado **genéticamente**, caracterizado por fragmentación del ADN nuclear, que elimina ADN dañado o superfluo y células dañadas, no queridas o no necesarias”

“Serie **normal** de eventos en una célula que lleva a su muerte”

“Parte normal del **desarrollo**,
las células mueren en respuesta a
una serie de estímulos, de manera
regulada, ordenada”

“La célula tiene papel activo en su
propia muerte” (**suicidio** celular)

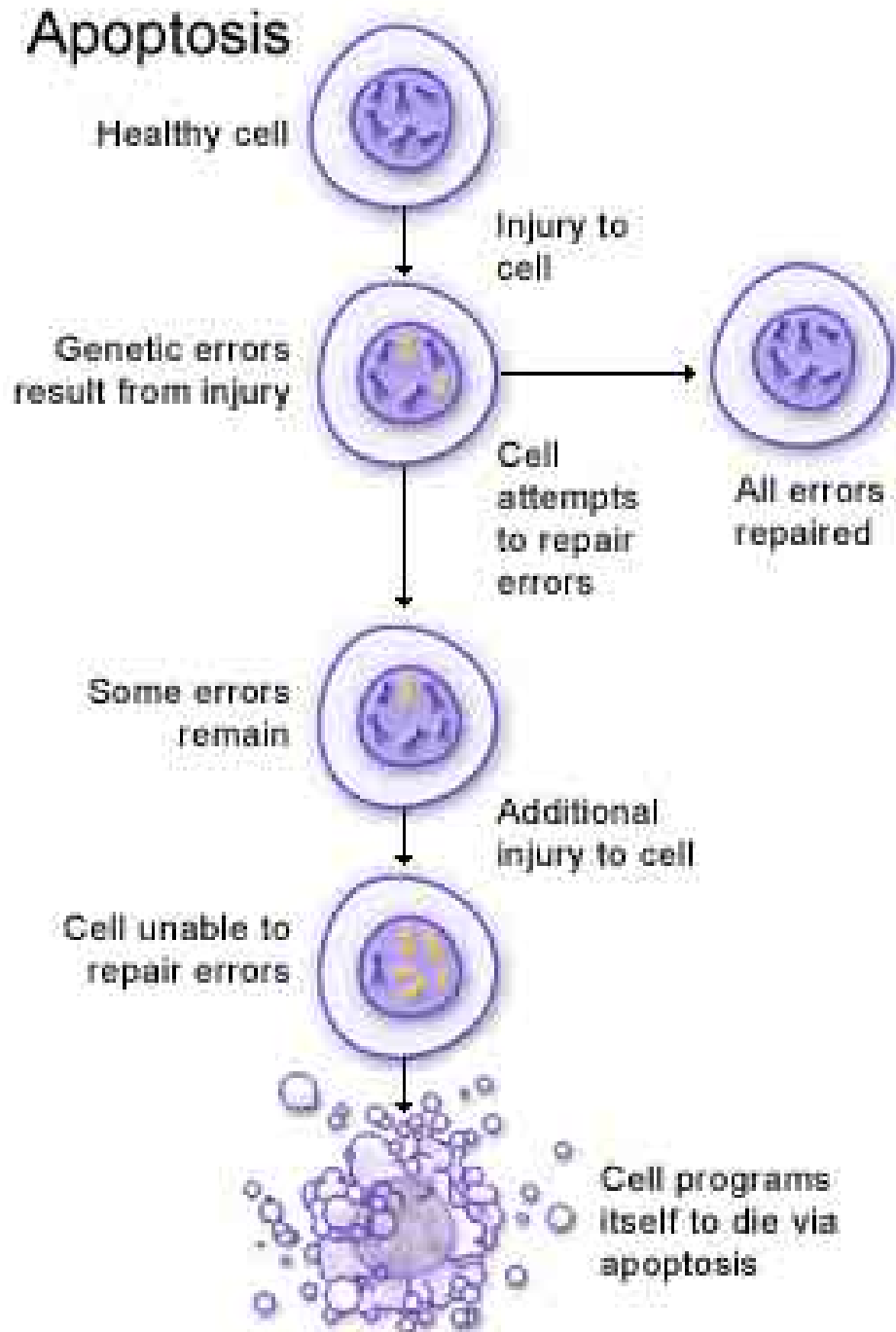
*La célula quiere o necesita
morirse...*

Algo anda mal y no se puede reparar



La célula programa eliminarse

Apoptosis



NECROSIS

“Proceso **patológico** causado por acción degradativa enzimática, asociado con severo trauma celular. Hay edema mitocondrial, floculación nuclear, **lisis** celular **descontrolada**, respuesta inflamatoria y muerte”

“Muere una porción de
tejido afectado por:
pérdida de aporte sanguíneo,
corrosión, quemadura o
lesión local por enfermedad”

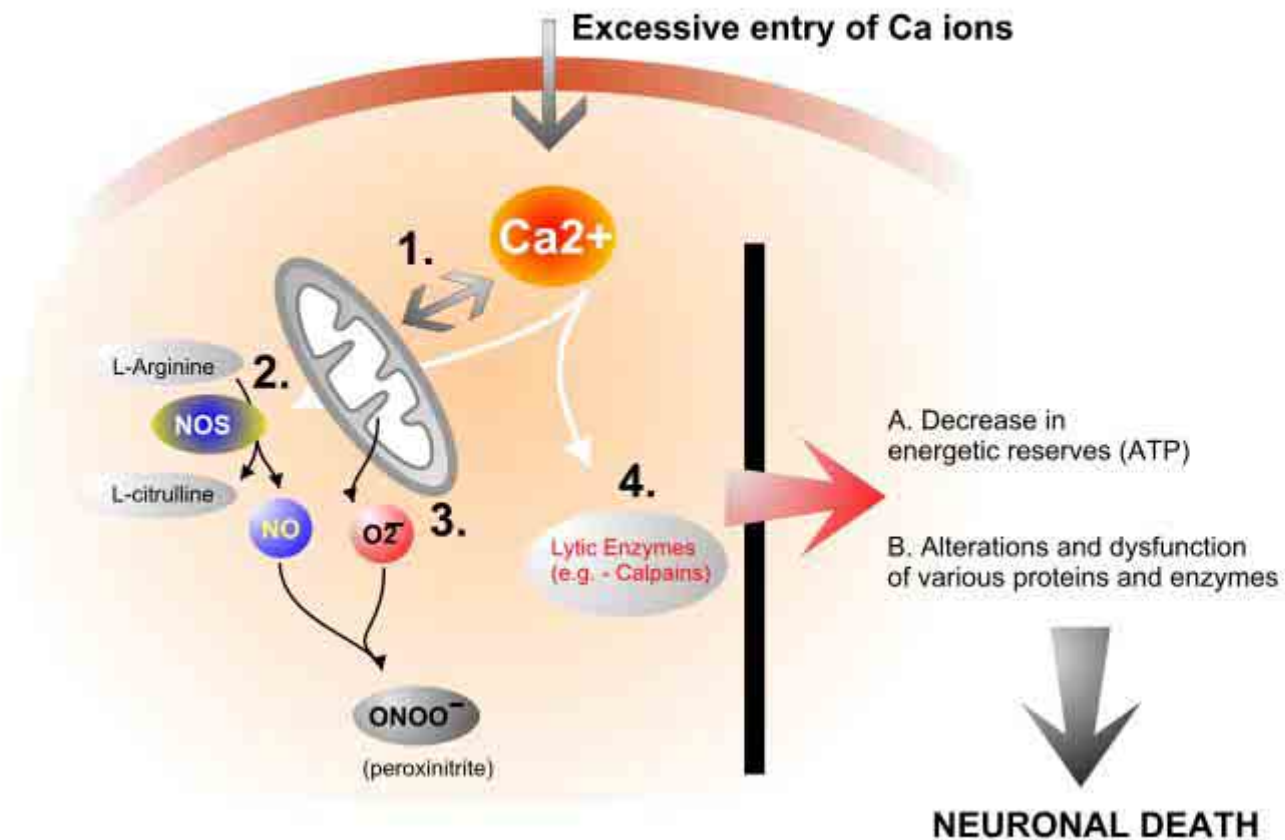
Ej. “el infarto”

La célula NO se quiere morir...

MECANISMOS QUE INDUCEN NECROSIS

1. Hipoxia/isquemia inhiben respiración aeróbica:
disminución de ATP
2. Generación de especies oxígeno reactivas
(ROS)
3. Defectos en la permeabilidad de la membrana:
daño de la membrana
4. Alteración de la homeostasis del calcio:
entrada de calcio

NECROTIC PATHWAYS to NEURONAL DEATH

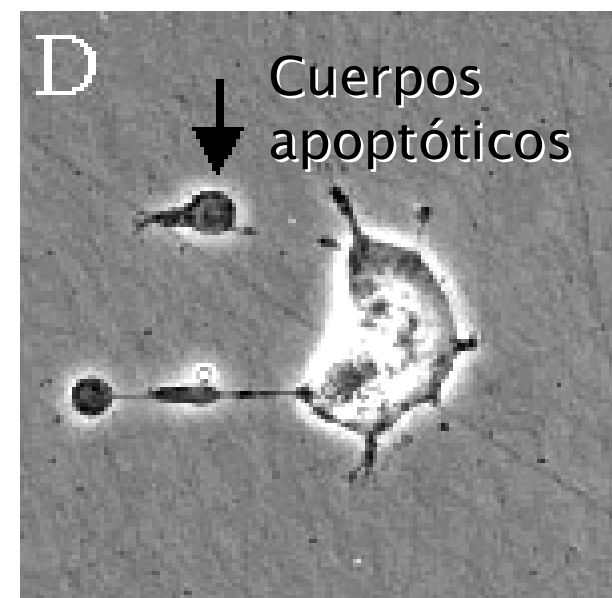
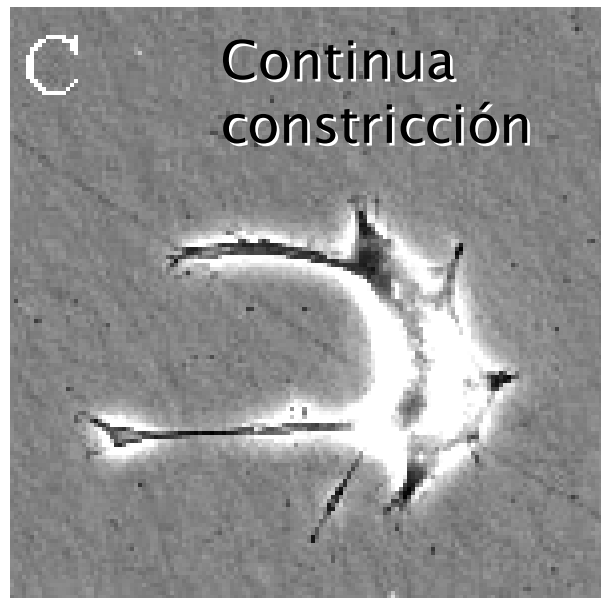
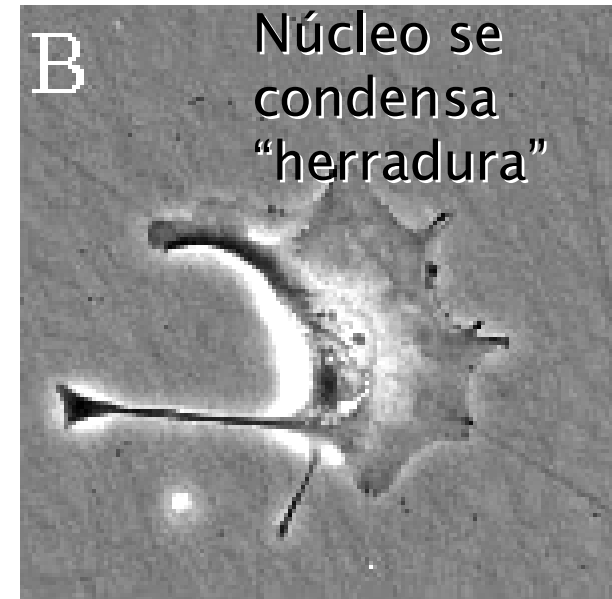
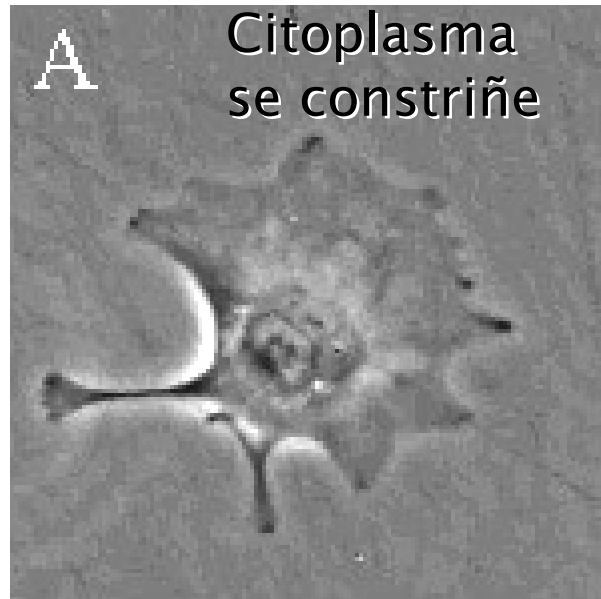


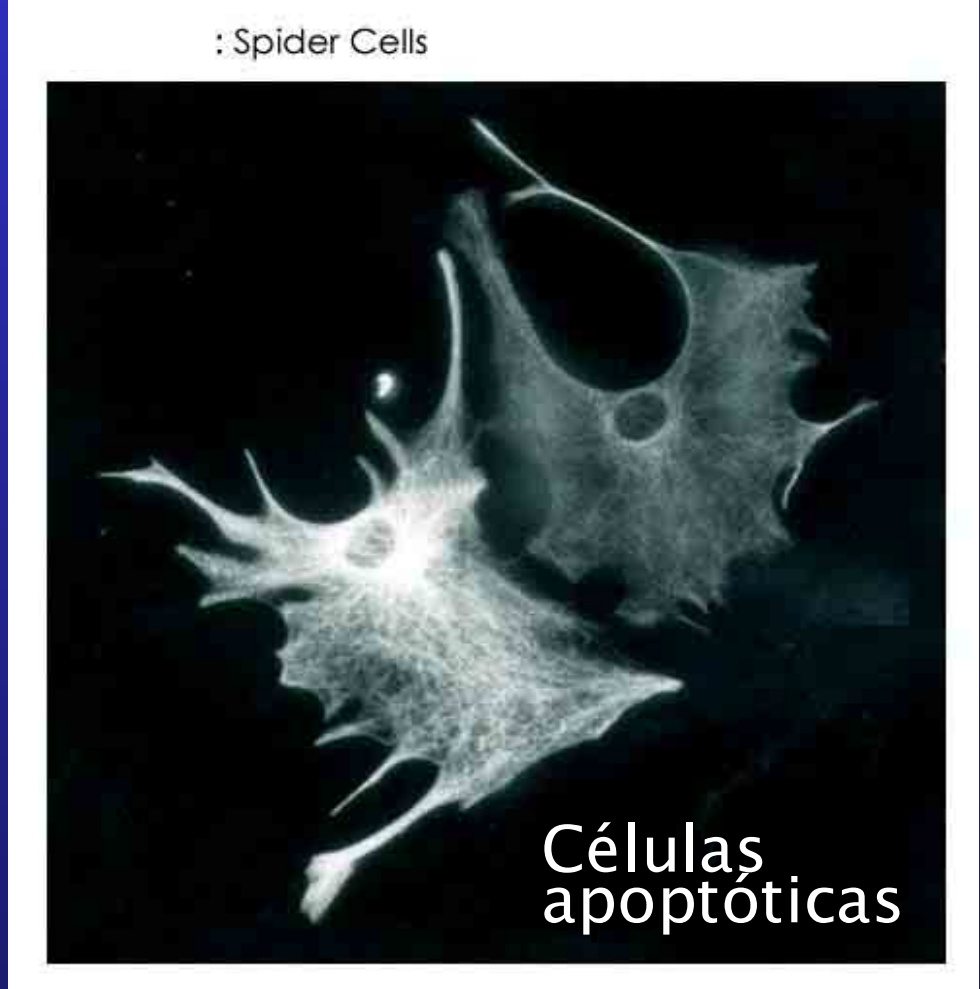
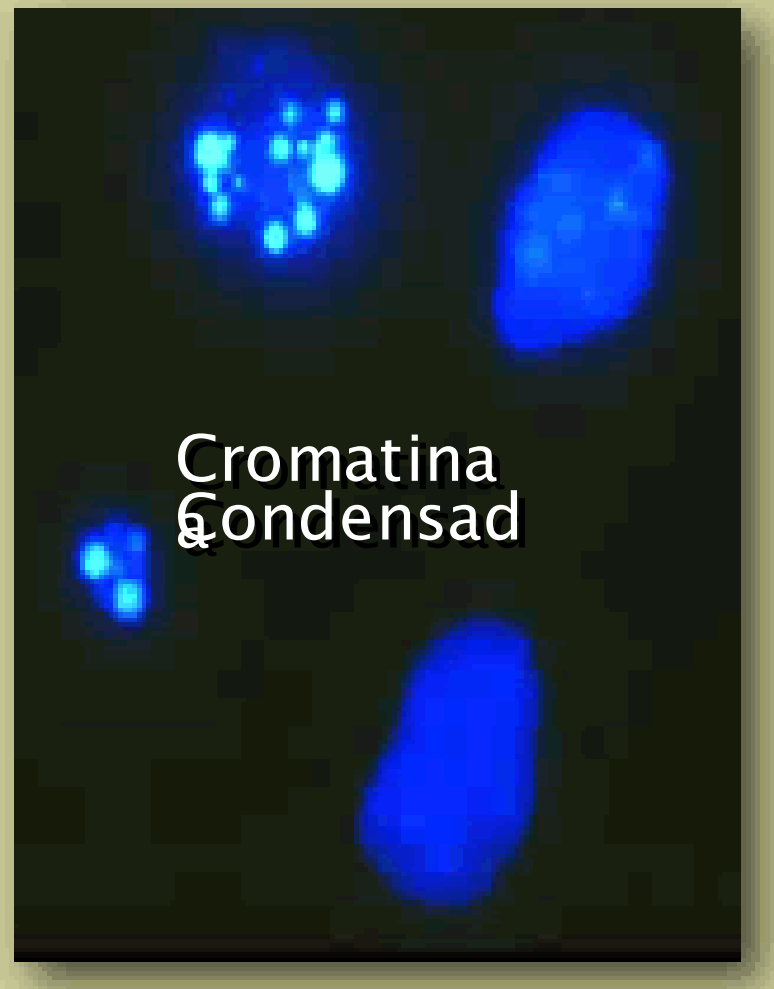
**En la Neurodegeneración ocurre
apoptosis y necrosis**

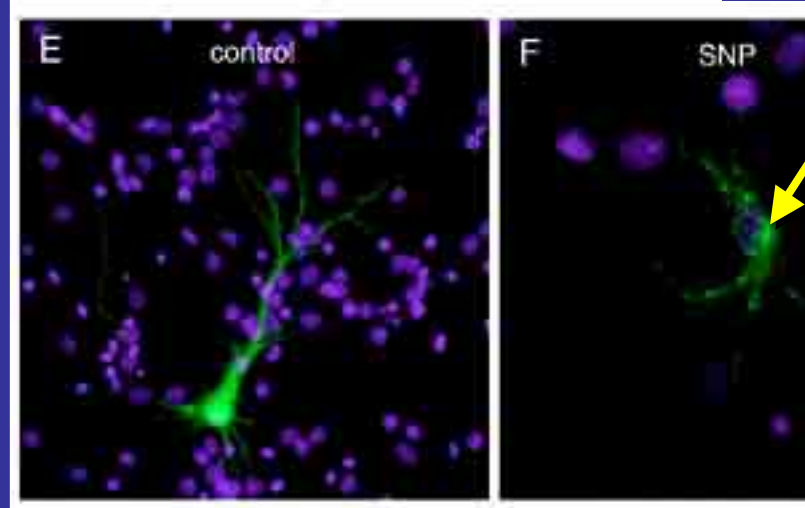
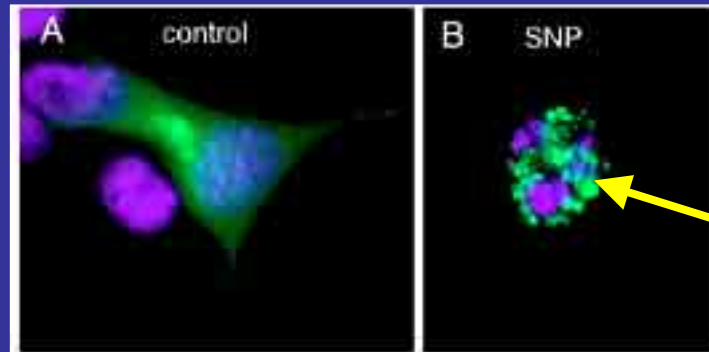
**Pero,
predomina
la APOPTOSIS**

APOPTOSIS
Célula
muriendo

Cambios
morfológicos

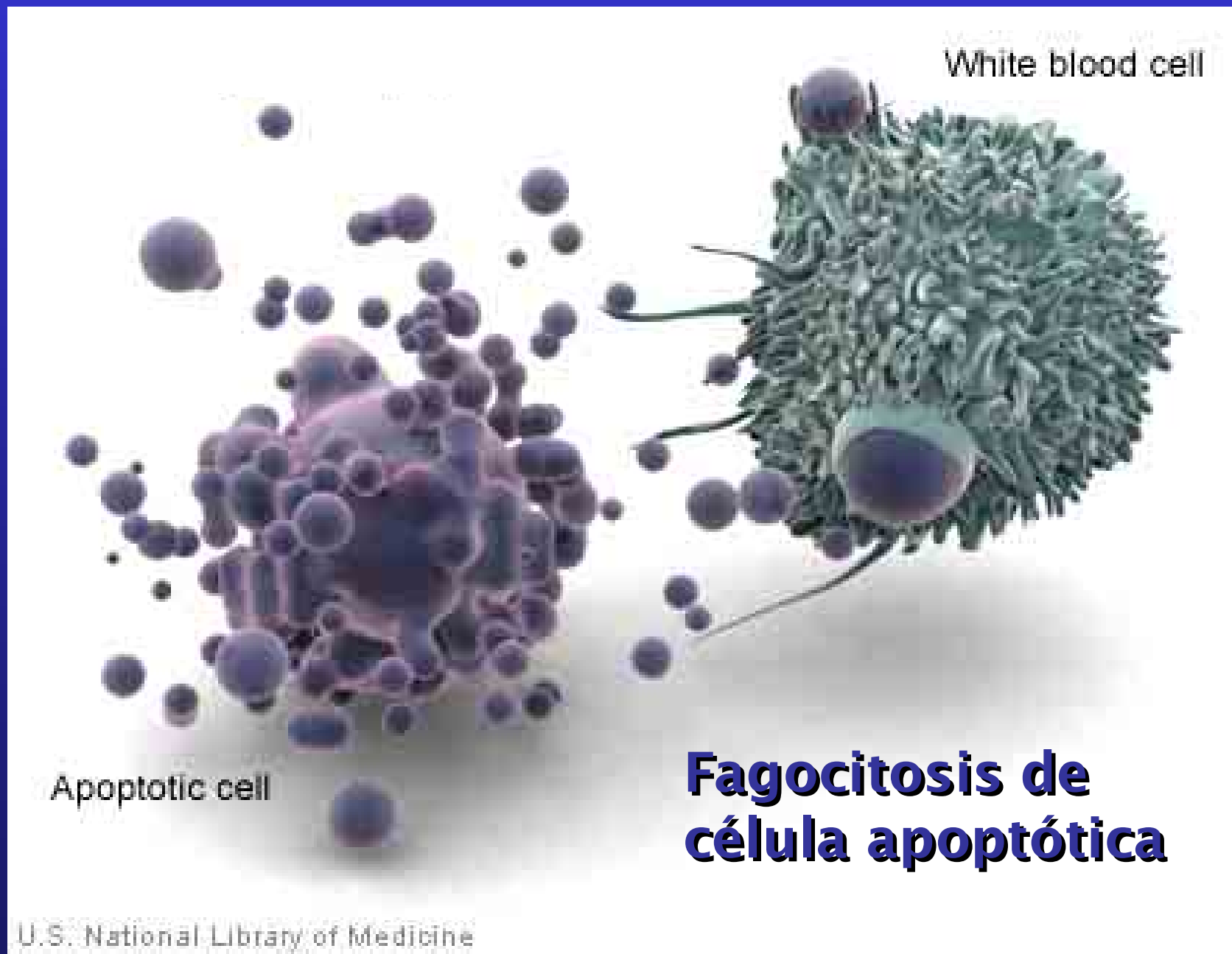






apoptosis

- * Para ser **fagocitadas** las células apoptóticas disparan la respuesta de macrófagos traslocando **fosfatidilserina al exterior** de la membrana
- * Los macrófagos remueven las células apoptóticas limpiamente



White blood cell

Apoptotic cell

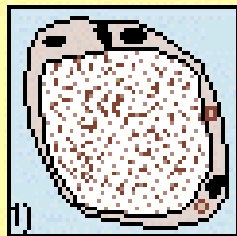
Fagocitosis de célula apoptótica

Proceso APOPTÓTICO

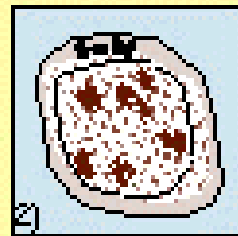
1. La célula recibe señales apoptóticas
2. Serie de cambios bioquímicos y morfológicos
3. Activación de caspasas
 - 3.1 rompen proteínas estructurales
 - 3.2 activan ADN asas

Proceso APOPTÓTICO

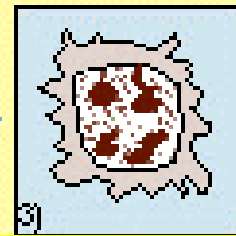
Cellular changes observed with apoptotic cell death



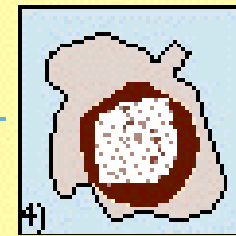
1) Cromatina heterogénea



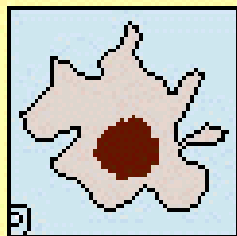
2) Reducción volumen



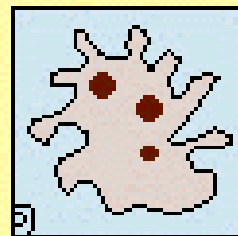
3) Condensación cromatina



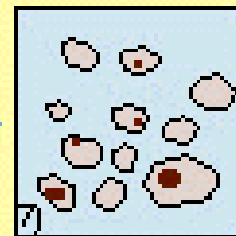
4) Marginación cromatina



5) Colapso núcleo



6) Fragmentación ADN



7) Cuerpos apoptóticos
No inflamación

INDUCCIÓN DE APOPTOSIS

1. Estímulos extrínsecos

Ligandos a **receptores de muerte**

Granzima de linfocitos T citotóxicos

2. Estímulos intrínsecos

ESTRÉS CELULAR (**vía mitocondrial**)

2.1 ESTRÉS OXIDATIVO (acumulación de radicales)

2.2 Disminución de factores neurotróficos

2.3 Radiación, químicos, infección viral

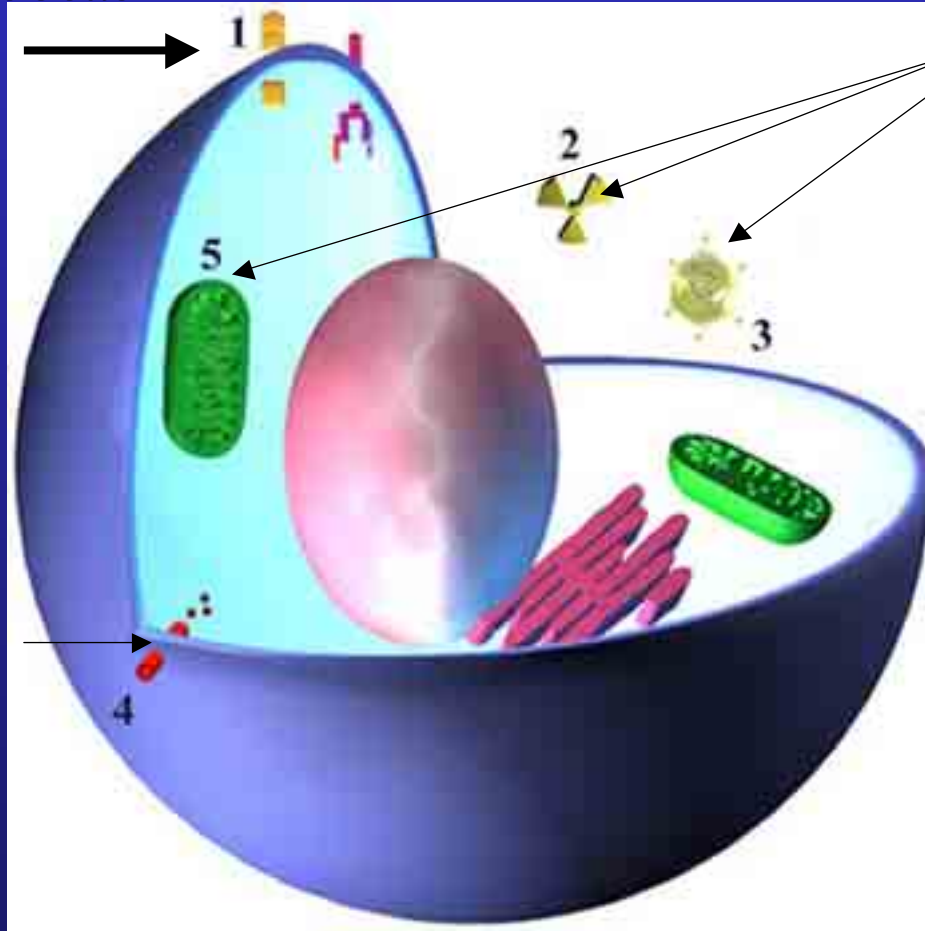
INDUCCIÓN DE APOPTOSIS

1.

Señales extrínsecas

Vía Receptores de Muerte

guzima
(cels T)



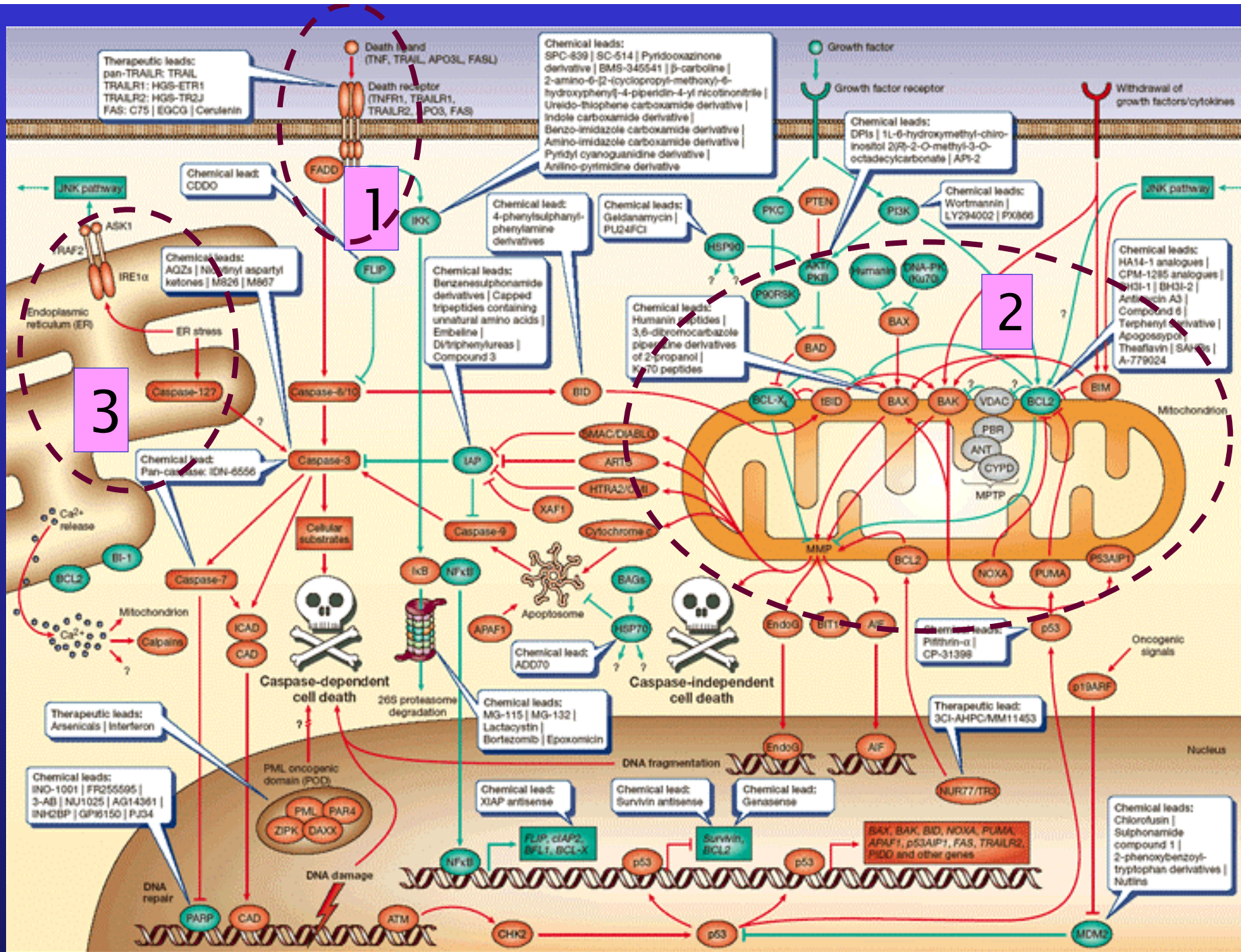
2.

Señales intrínsecas
Vía mitocondrial

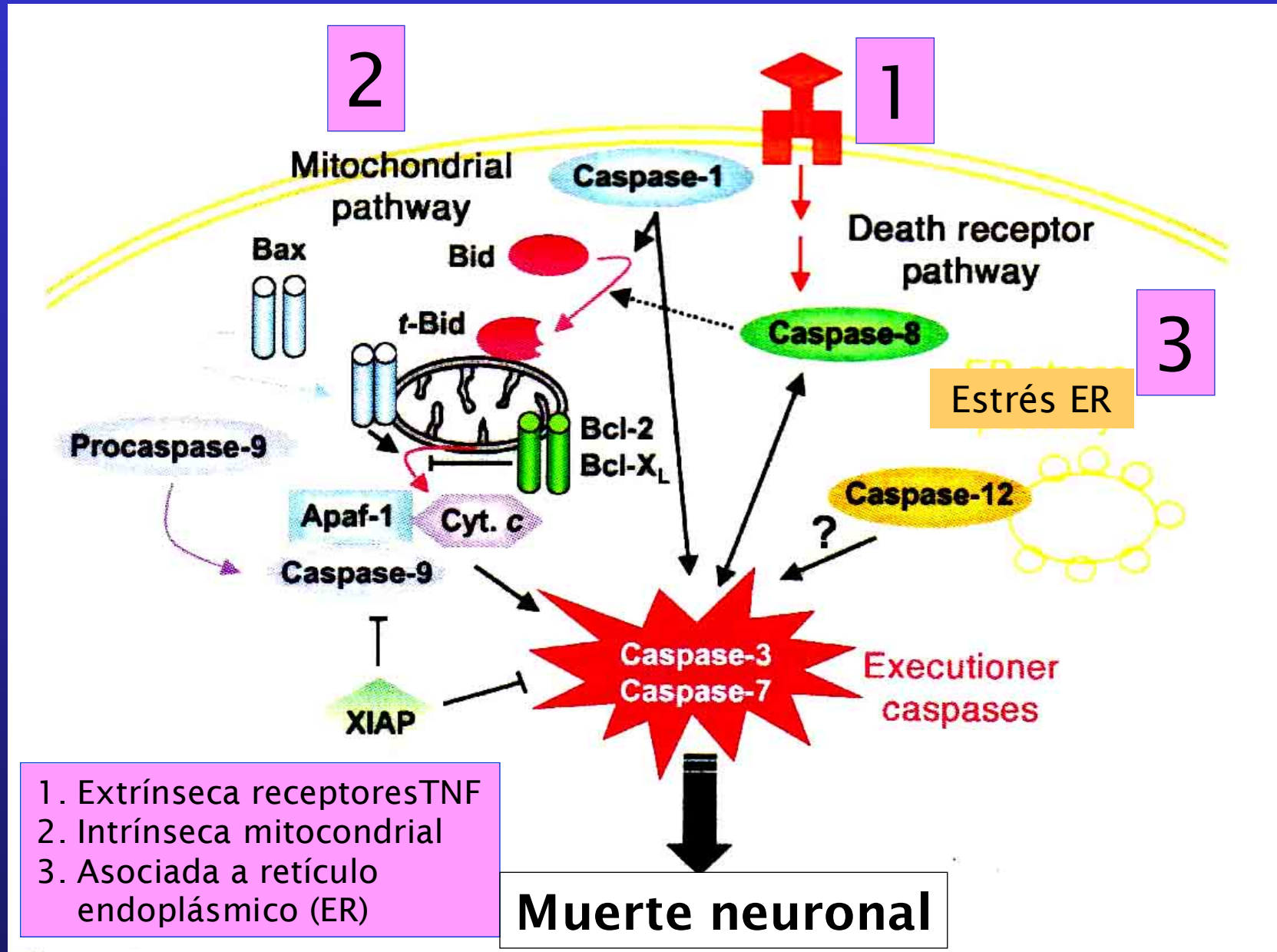
Estrés oxidativo,
Reducción fact. neurotróficos
radiaciones,
químicos,
virus,

VÍAS DE APOPTOSIS

1. Receptores de muerte
2. Mitocondria
3. Retículo endotelial



Vías de Muerte celular programada



1

RECEPTORES DE MUERTE

Disparan apoptosis en segundos

1. **TNF1**: Apoptosis,
Activación genes proinflamatorios
y genes inmunomoduladores
2. **CD95 o Fas**: Apoptosis
en sitios privilegiados (SNC)
3. **TRAIL (DR4-DR5)**: Apoptosis

1

RECEPTORES DE MUERTE (Superfamilia de genes TNF)

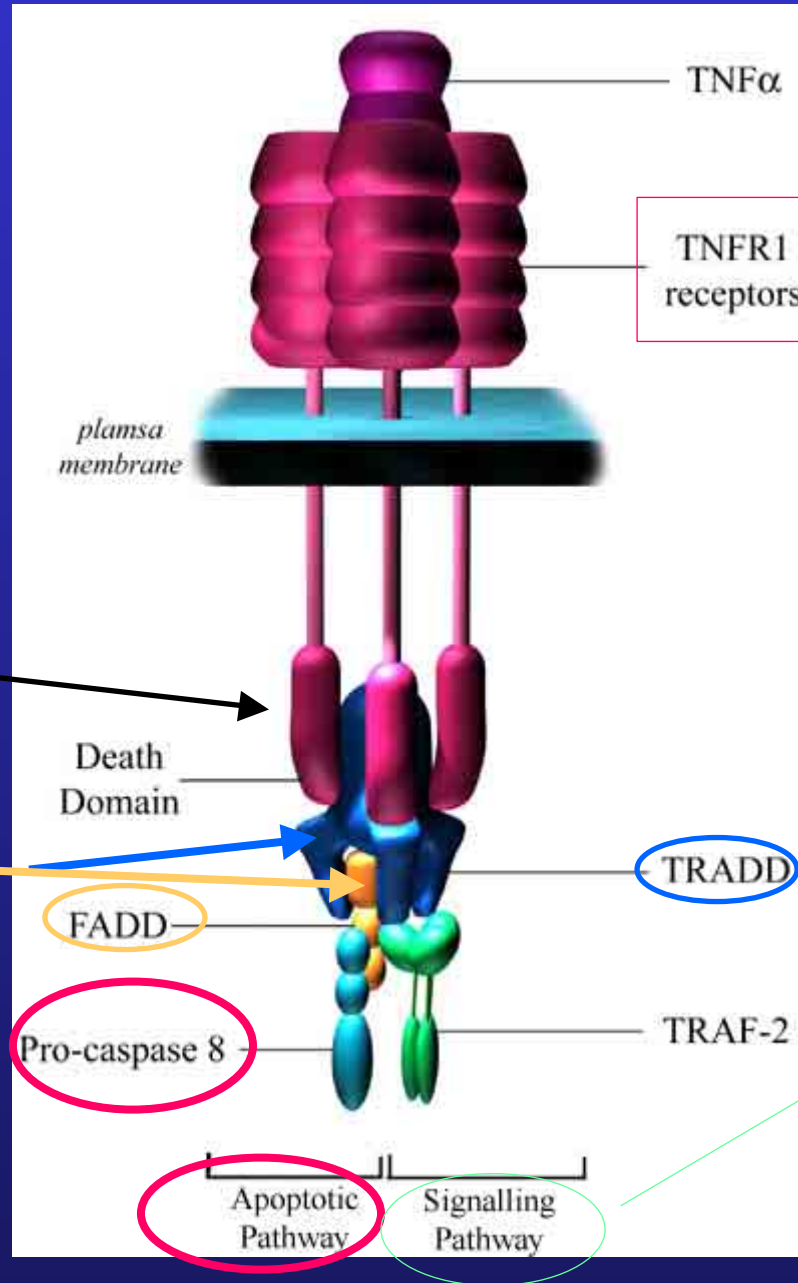
Trimerización

Proteínas adaptadoras

Procaspasa 8

Caspasa 8

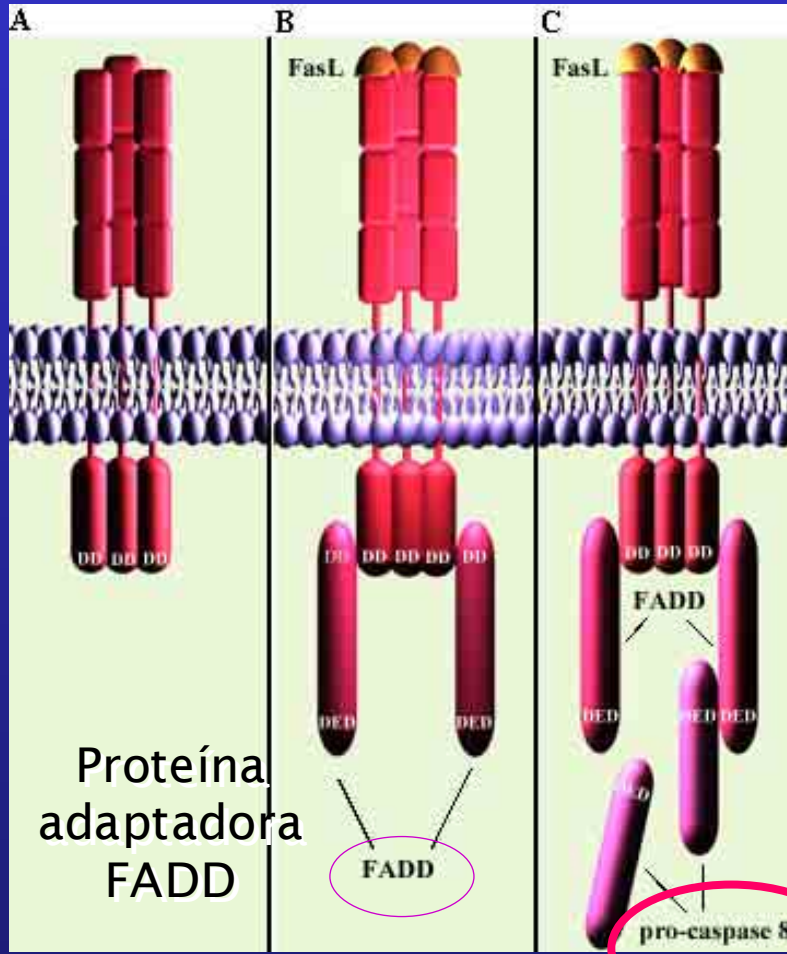
Caspasa 9



1.1 TNFR1

NF- κ B

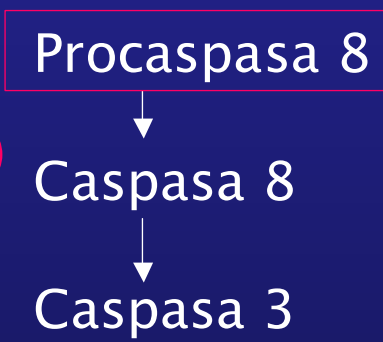
Inducción genes proinflamatorios



Proteína adaptadora FADD

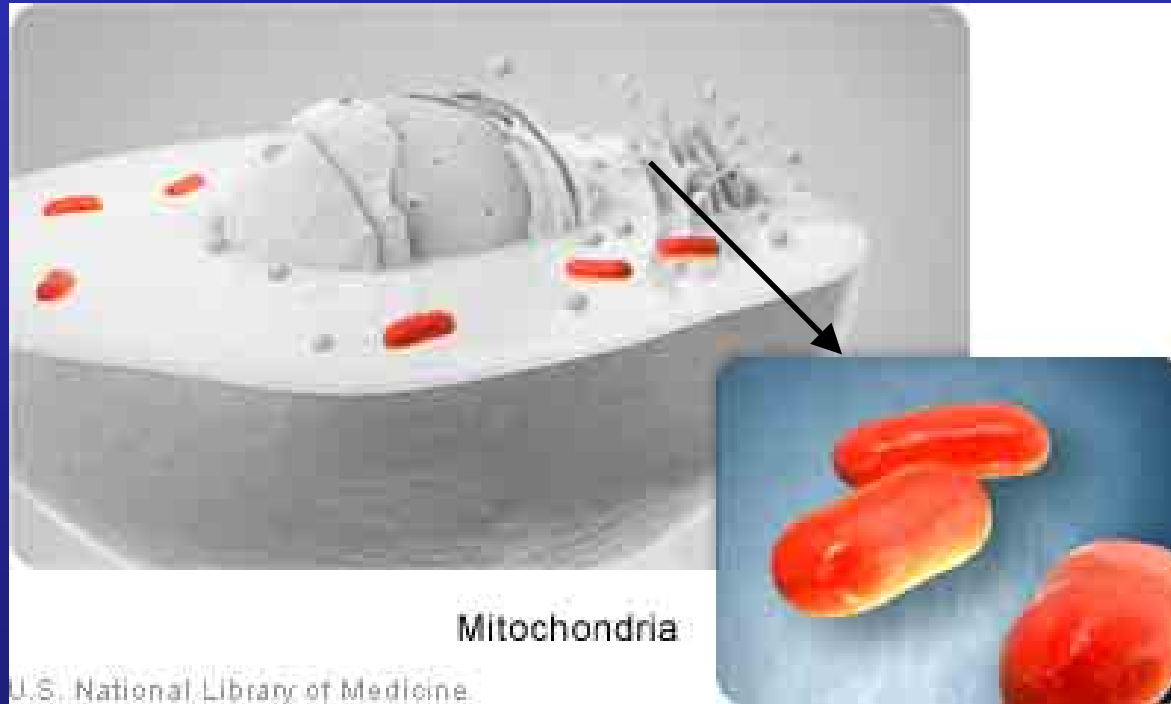
1.2 Receptores CD95 o FasL

Vía apoptótica



VIA MITOCONDRIAL

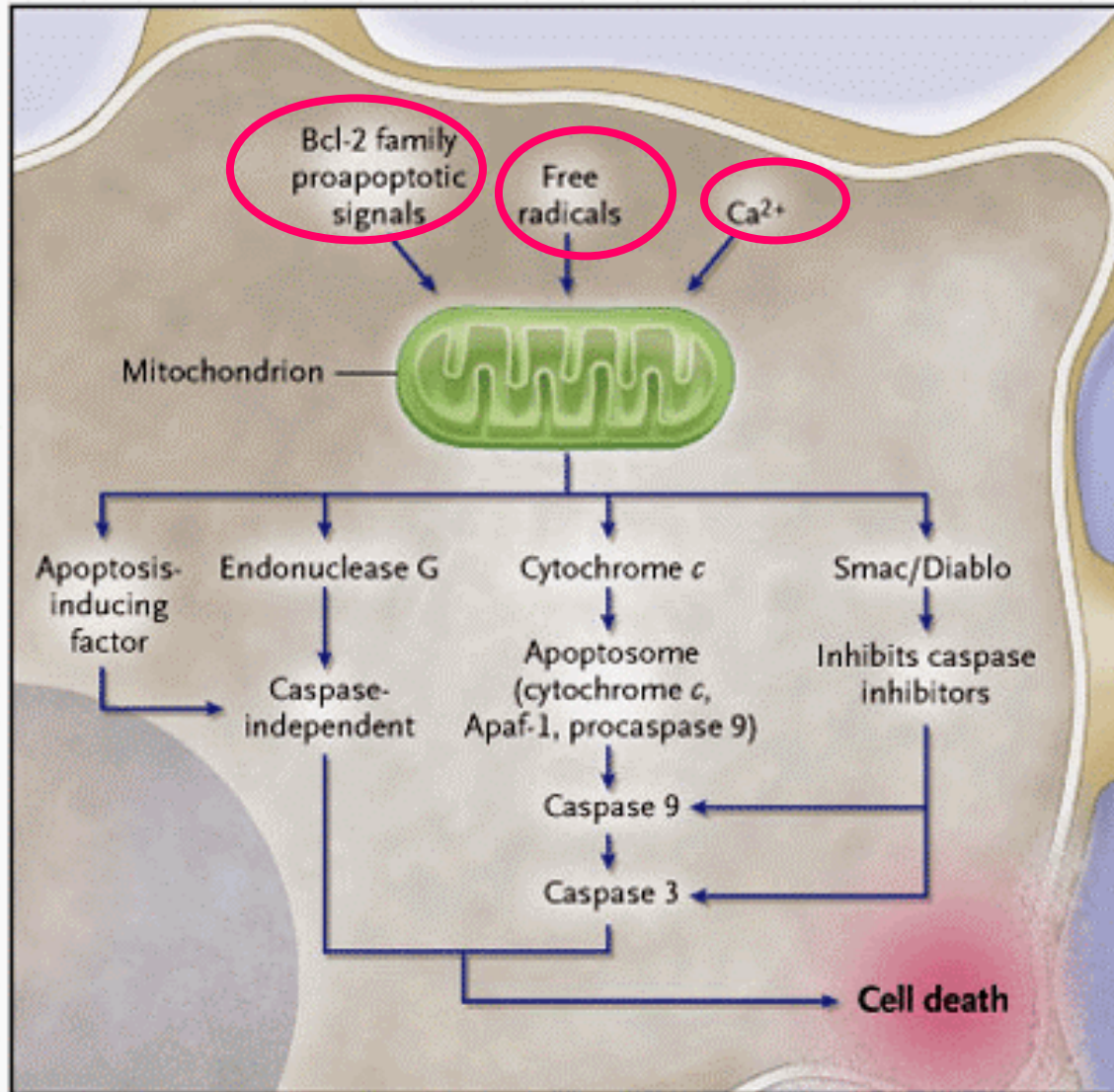
1



MITOCONDRIAS: organelos citoplasmáticos donde ocurre la fosforilación oxidativa y producción de ATP

Vía INTRÍNSECA MITOCONDRIAL

1

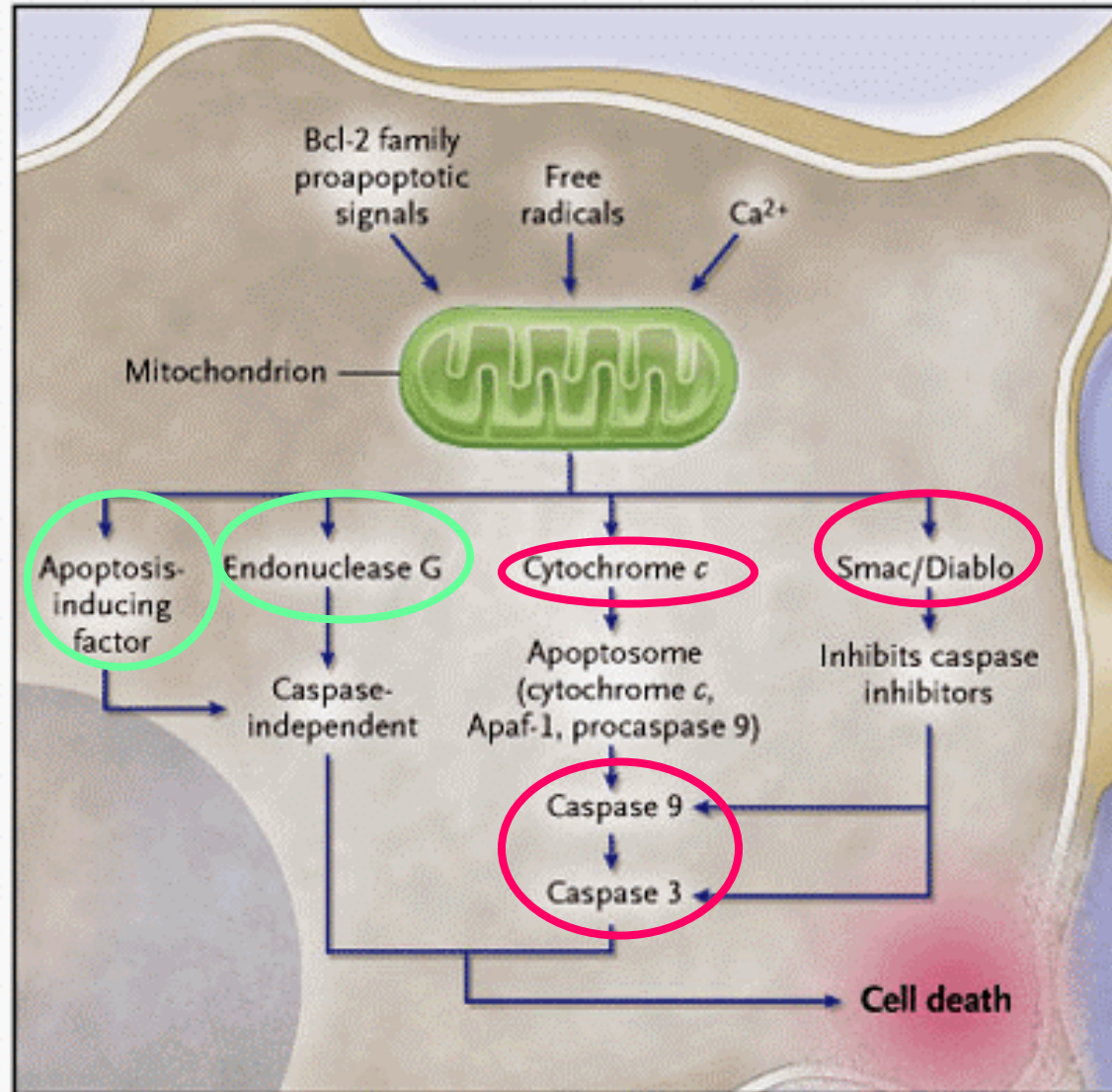


ANTES

SEÑALES que inducen LIBERACIÓN de mediadores de apoptosis de la mitocondria

Vía INTRÍNSECA MITOCONDRIAL

1

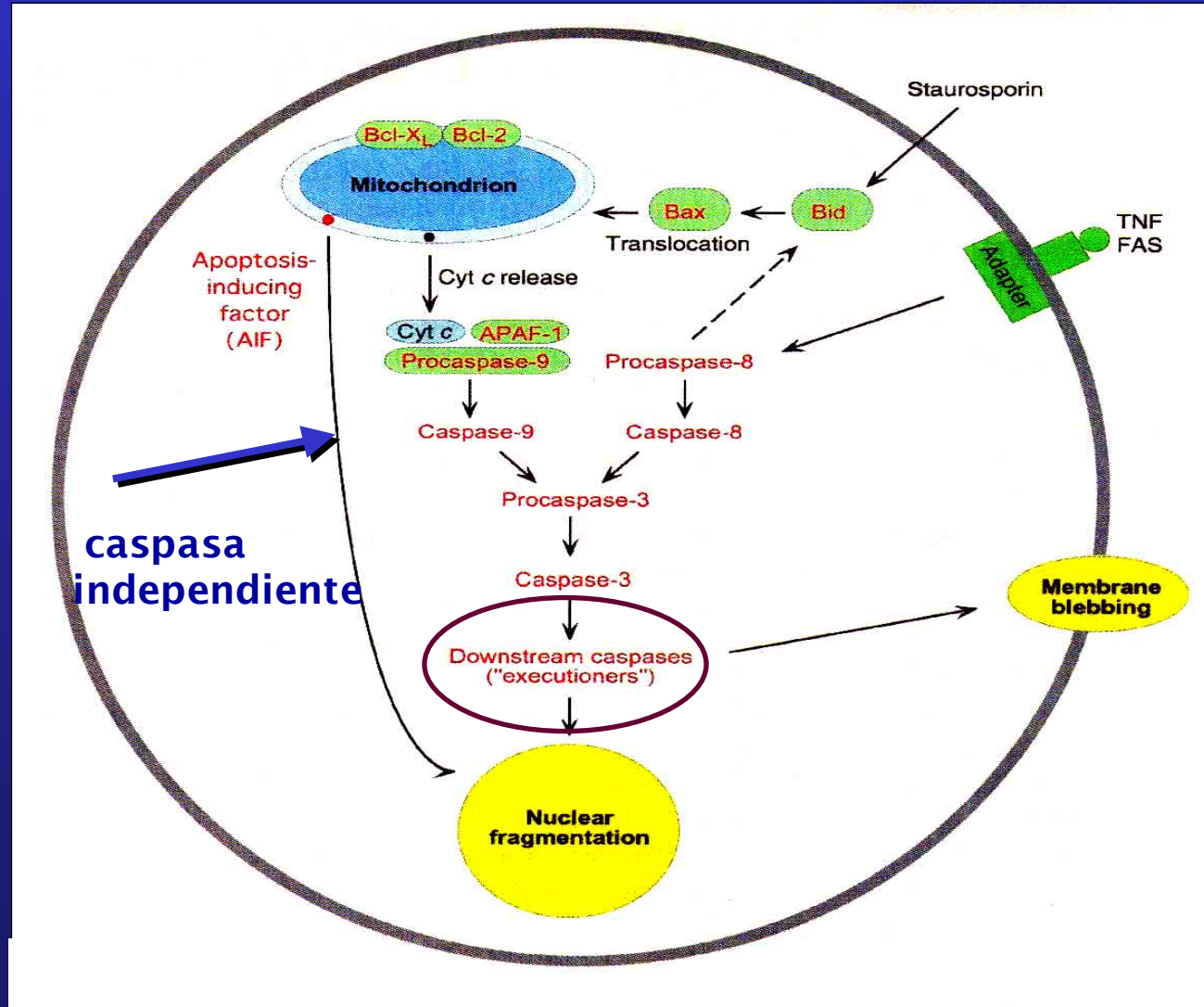


DESPUÉS

Moléculas
mitocondriales
que MEDIAN vías
apoptóticas

1. Caspasa independientes
2. Caspasa dependientes

APOPTOSIS



La **SENSIBILIDAD**
de la célula a
Estímulos Apoptóticos
depende del:

BALANCE
de
proteínas PRO y ANTI-apoptóticas

FAMILIA PROTEÍNAS Bcl2

1. **Pro:** Bax y Bad (citosol)

Sensores de daño o estrés celular

Se cree forman POROS transmembrana
en la mitocondria

2. **Anti:** Bcl2 y BclXL (mitocondria)

Evitan que las Pro formen el poro

En APOPTOSIS
las proteínas Pro y Antiapoptóticas
interactúan sobre la membrana mitocondrial
forman POROS
y
desencadenan
CASCADAS

CASPASA dependiente
y
CASPASA independiente

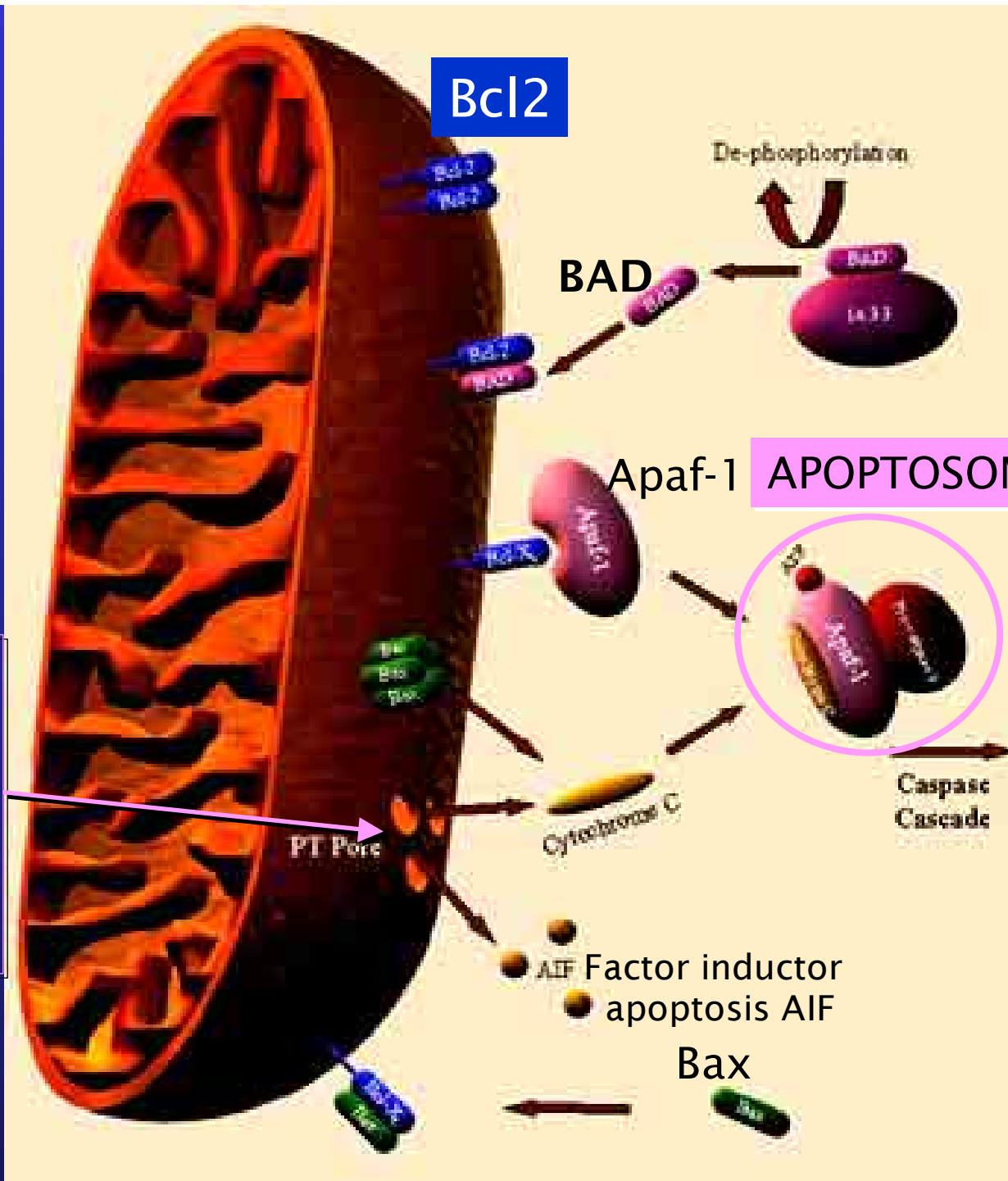
CUANDO SE **ABRE UN PORO** EN LA MEMBRANA
MITOCONDRIAL:

1. Pérdida del potencial de membrana
(V_m mt)
2. Eflujo de citocromo C
(vía caspasa dependiente)
3. Eflujo de Factor inductor de apoptosis
(AIF) (vía caspasa independiente)

Bcl2
BclXL
Anti-
apoptóticas

PORO trans-
membrana (PT):

- * Eflujo Cit C y AIF
- * Disminución Vm mt



BAD
BAX
Pro-
apoptóticas

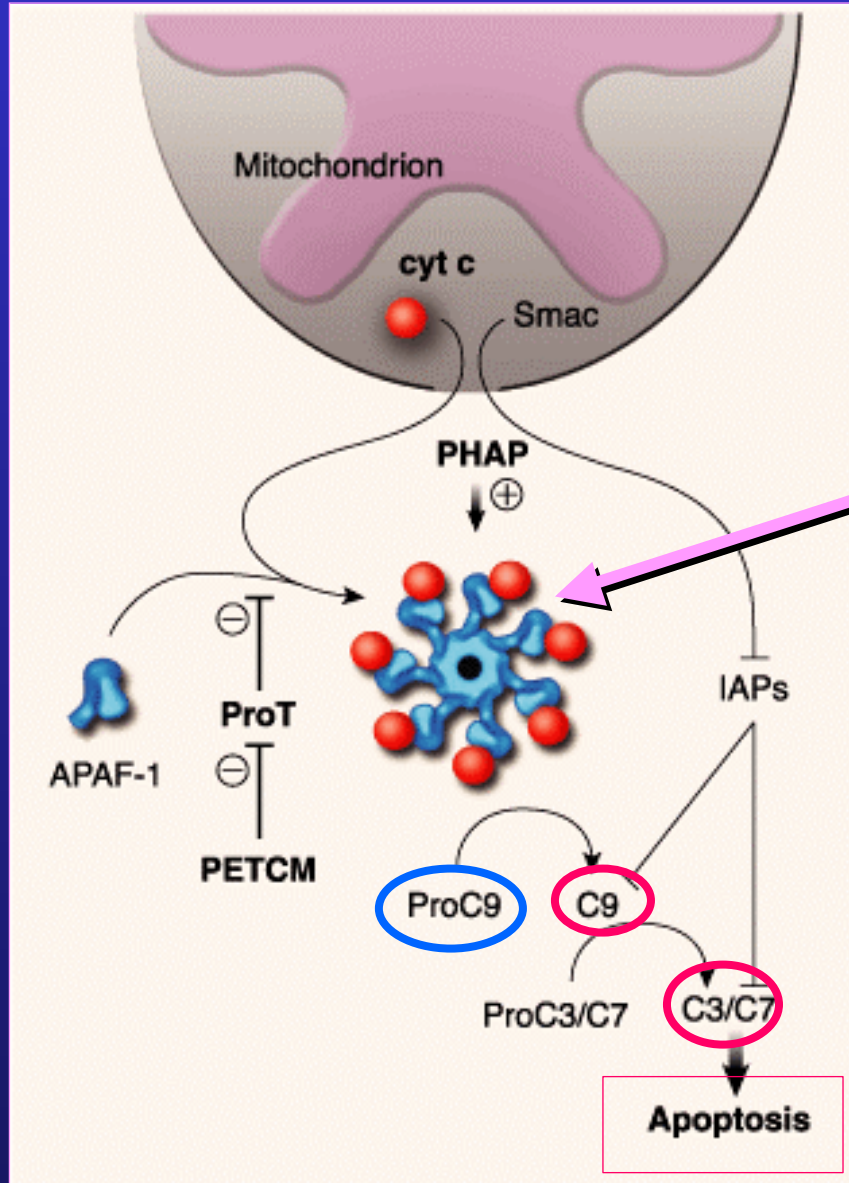
Apaf-1 APOPTOSOMA

Caspase
Cascade

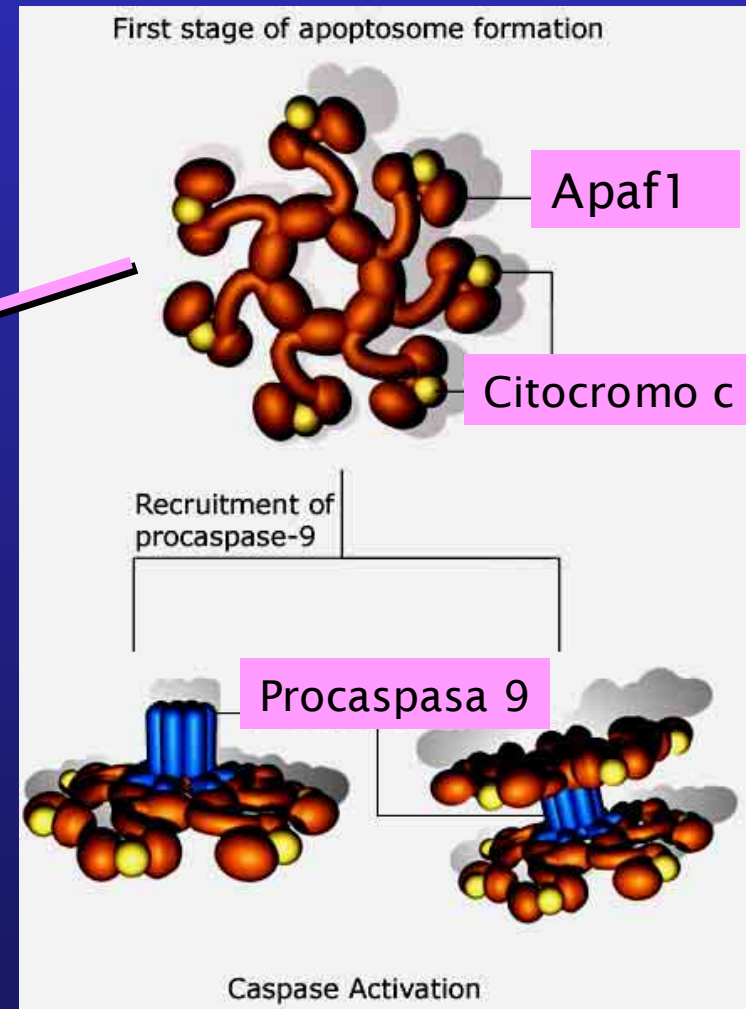
AIF Factor inductor
apoptosis AIF

Bax

Cascada de caspasas



apoptosoma



CASPASAS

Cisteína **proteasas** que se activan luego de inducción de apoptosis

1. **Vía Receptores de Muerte:**
caspasas 8 y 10
2. **Vía Mitocondria**
caspasa 9
3. **Vía estrés Retículo endoplásmico**
caspasa 12

Caspasas ejecutoras:

3 y 7 inhibe reparación ADN por clivar PARP
6 condensa cromatina, fragmenta el núcleo

1. Vía Receptores de Muerte:

Activan **caspasas Iniciadoras 8 y 10** que activan a las **Eectoras 3 , 6 y 7** que clivan proteínas estructurales responsables de cambios morfológicos y fragmentación nuclear

2. Vía Mitocondrial

A través del complejo apoptosoma se forma una rueda de 7 moléculas de cada componente que activan **caspasa 9** que activa la **Eectora 3**

EFECTOS NUCLEARES DE CASPASAS

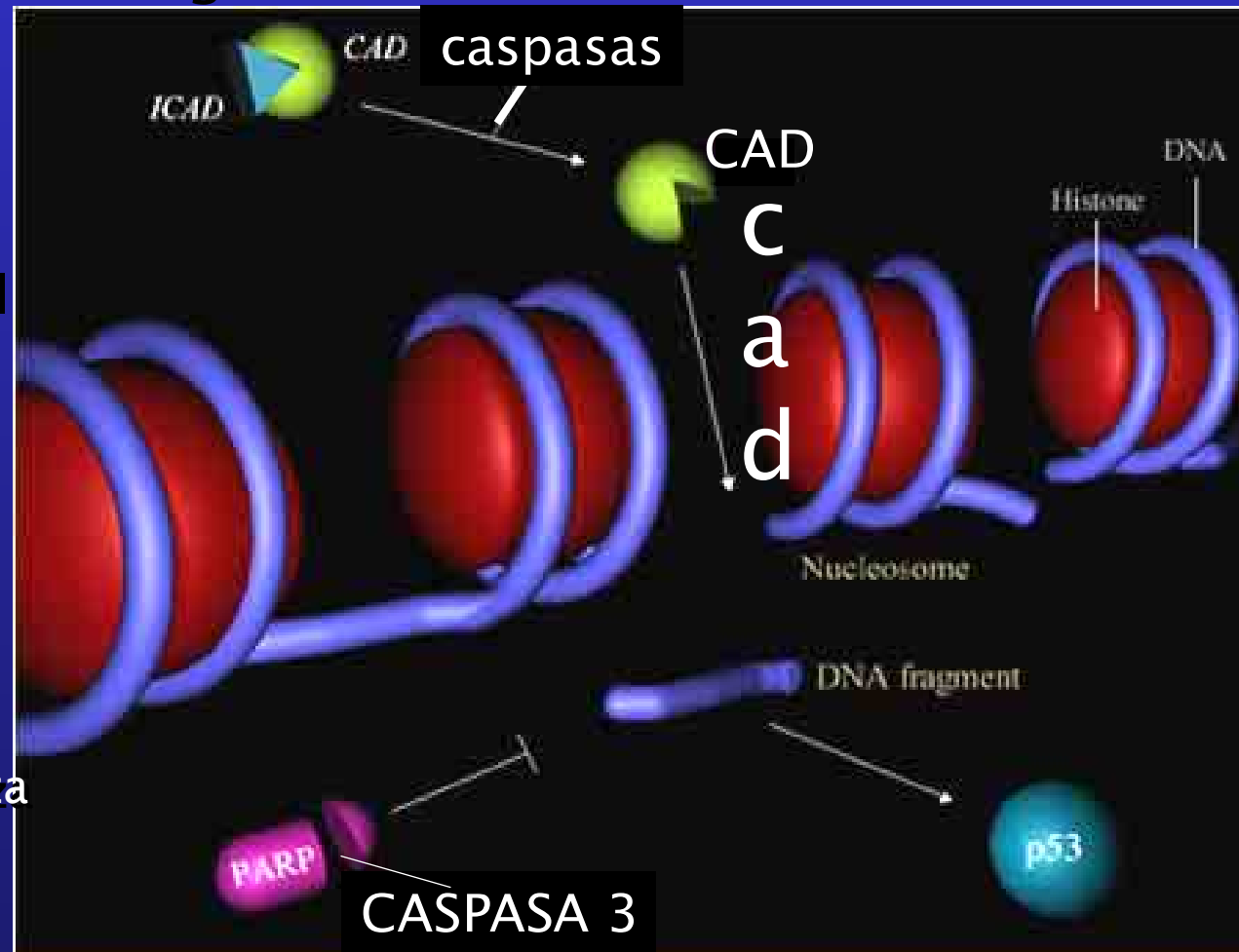
1. Inactivación de enzimas que **reparan ADN**:
PARP polimerasa poliADP ribosa
2. Inactivación de enzimas implicadas en **replicación**:
ADN topoisomerasa II
3. Destrucción de **proteínas nucleares** estructurales:
Laminin
4. **Fragmentación ADN**
activan CAD (ADN asa) que fragmenta el núcleo

EFFECTOS NUCLEARES

Fragmentación nucleosomal de ADN

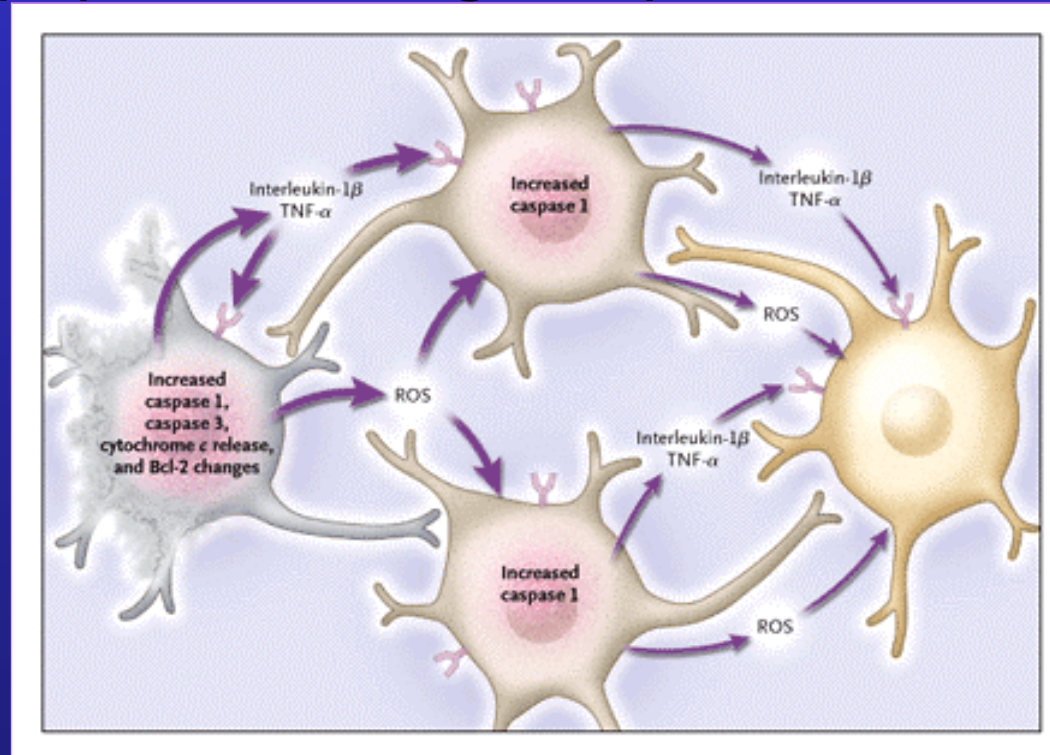
Caspasas activan
CAD ADNasa
Fragmentan el
ADN

PARP sintetiza
PAR que
repara ADN



Caspasa 3 cliva PARP
INACTIVA REPARACIÓN DE ADN

Apoptosis contagiosa y disfunción celular



Una célula apoptótica libera factores tóxicos y ROS que afectan a células vecinas sanas. Cuando llegan al umbral letal la célula muere.

Apoptosis

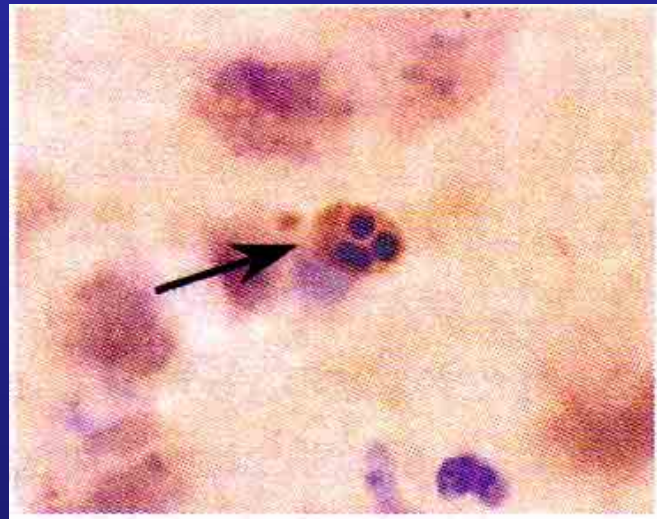
- * Es la forma predominante de muerte en ND
- * Se activan proteasas que destruyen moléculas que se necesitan para sobrevivir
- * El citoplasma y núcleo se condensan, mitocondrias, ribosomas y cromatina se agregan

Apoptosis

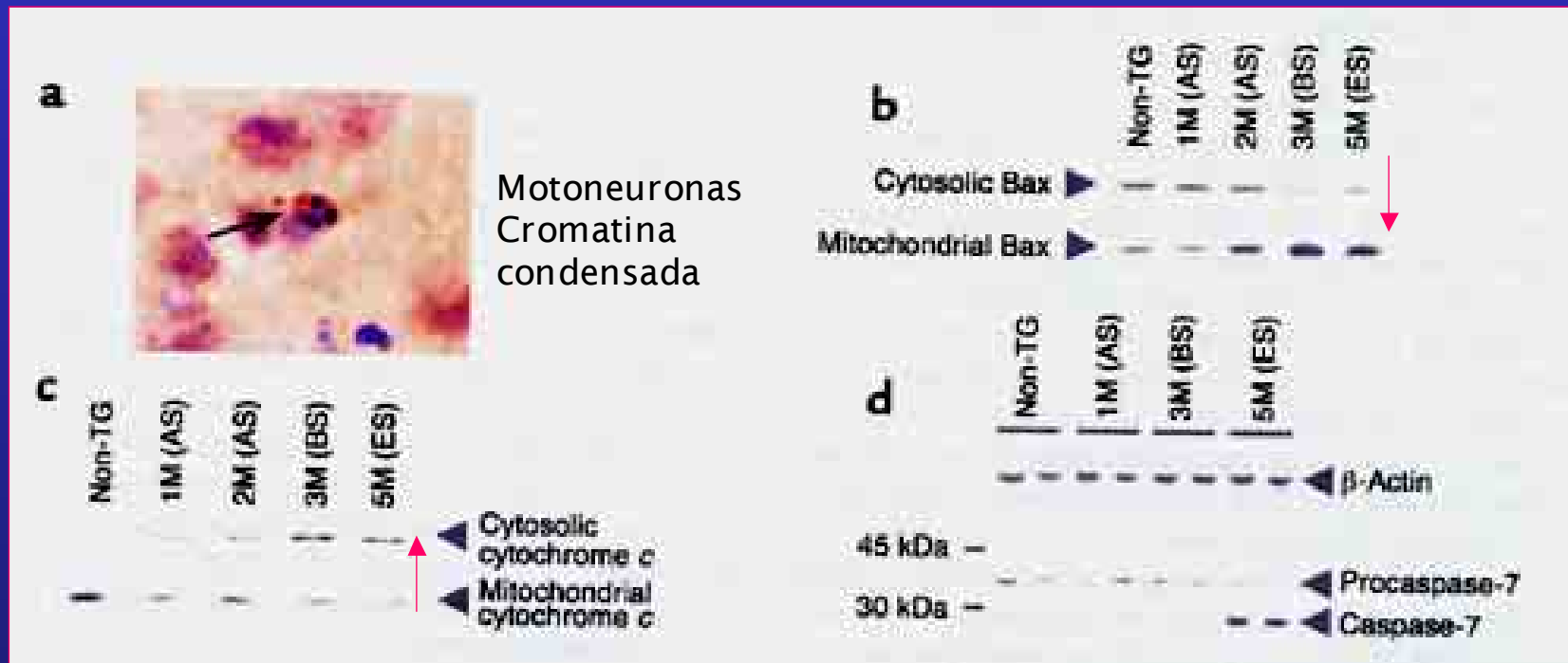
- * Los cuerpos apoptóticos y el ADN cromosómico son clivados en fragmentos internucleosomales de 180 bp
- * Disminuye el potencial de membrana de la mitocondria
- * Hay acidificación intracelular, generación de ROS y externalización de residuos fosfatidilserina para permitir fagocitosis por macrófagos

En 2% **ALS** hay mutaciones del gen SOD1 que llevan a la muerte de **motoneuronas**

APOPTOSIS EN
MOTONEURONAS
Condensación de
cromatina

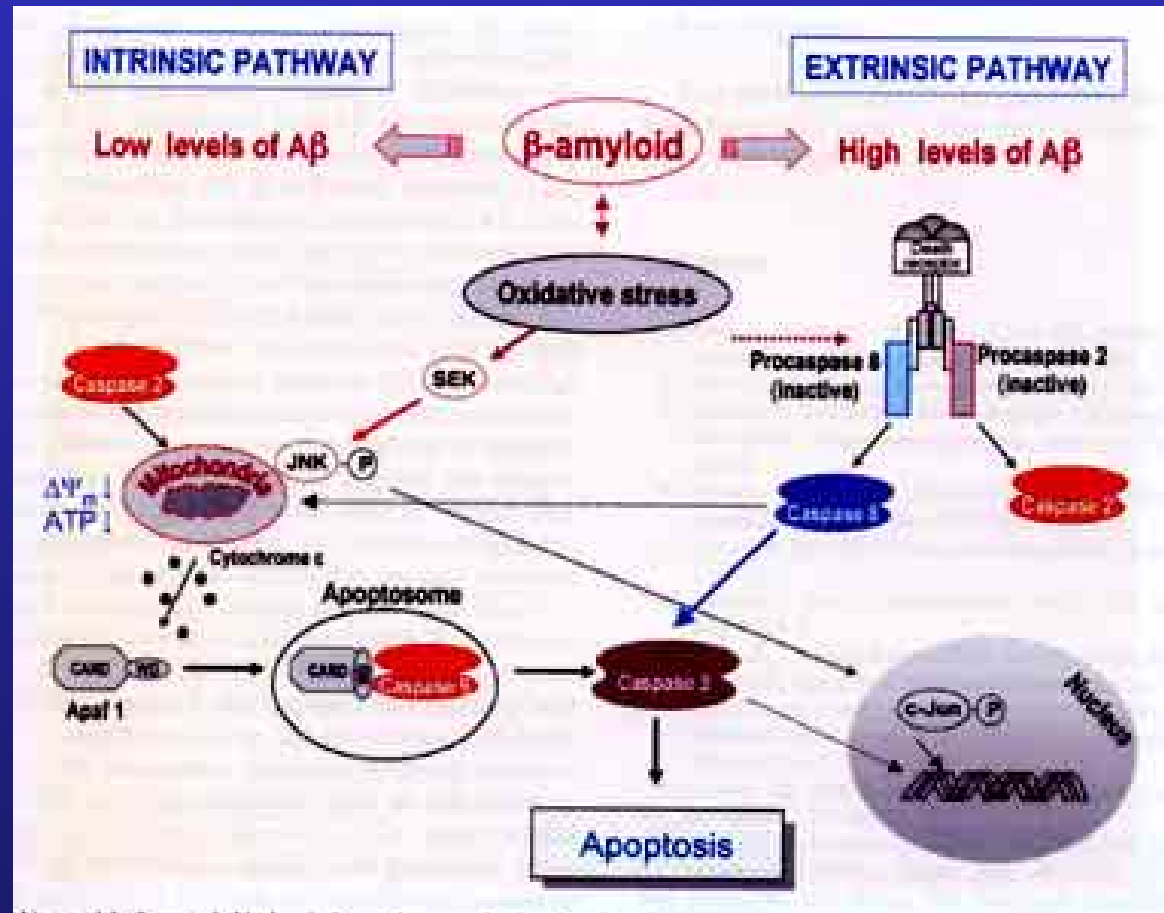


APOPTOSIS en modelo de ALS



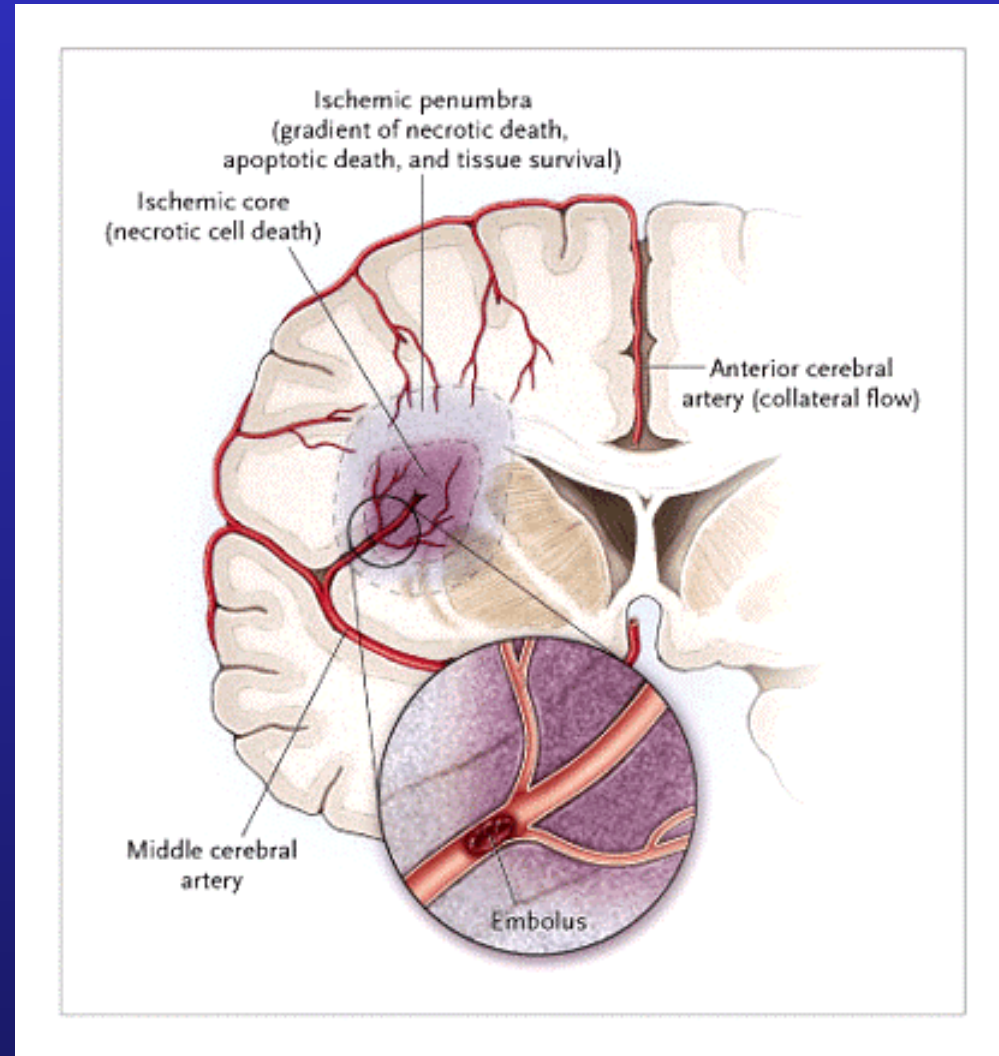
- Condensación de cromatina motoneuronas asta anterior med. esp.
- Movilización de BAX de citosol a membrana mitocondrial
- Movilización citocromo c a la inversa
- Caspasa 7 activada en el curso de la enfermedad

Apoptosis en Alzheimer



Necrosis y Apoptosis

Gradiente de perfusión tisular establece un umbral entre necrosis, apoptosis y tejido que sobrevive



Necrosis

- * En isquemia aguda o trauma
- * Colapso bioquímico generación de excitotoxinas, ROS y aumento de calcio
- * Edema nuclear y mitocondrial, disolución de organelos y condensación de cromatina alrededor del núcleo

Necrosis

- * Ruptura de membranas nuclear y plasmática, lisis
- * Degradación de ADN por cortes al azar
- * Ocorre rápidamente, difícil de tratar o prevenir

NECROSIS VS. APOPTOSIS



* MUERTE CELULAR E INFLAMACIÓN

La inflamación local es causada por microglia y astroglia no sólo en necrosis sino en apoptosis

**MECANISMOS MOLECULARES
QUE
CONDUCEN A LA MUERTE
NEURONAL**

MECANISMOS PATOGENICOS EN ND

CENTRALES

1. Estrés oxidativo
2. Disfunción mitocondrial

OTROS

3. Acumulación y agregación de proteínas
4. Disfunción del sistema ubiquitin-proteasoma
5. Excitotoxicidad
6. Inflamación
7. Alteración homeostasis de metales

¿Causas,
Consecuencias,
Combinaciones???

¿El huevo o la gallina?

ESTRÉS OXIDATIVO

ESTRÉS OXIDATIVO (EO)

Acumulación de **radicales y especies oxígeno reactivas (ROS)** inadecuadamente neutralizadas con antioxidantes, que causa daño a macromoléculas, y que se ha asociado con envejecimiento

El EO resulta de:

- aumento de ROS
- disminución de ANTIOXIDANTES
- falla en reparar el daño causado por ROS

ROS

Entidades moleculares que ocasionan **DAÑO** al reaccionar con componentes celulares

- Radicales
- Aniones reactivos
- Moléculas que tienen átomos de oxígeno que pueden producir radicales libres o son oxidadas por ellos

Oxidación

- Pérdida de electrones de un átomo
- Adición de oxígeno o remoción de hidrógeno de una molécula

Radicales

Átomo o átomos que tienen uno o más e^- no apareados y que son **ALTAMENTE** reactivos

Oxygen Atom (O)

Inner shell
(2 electrons)

Outer shell
(6 electrons)
(-)

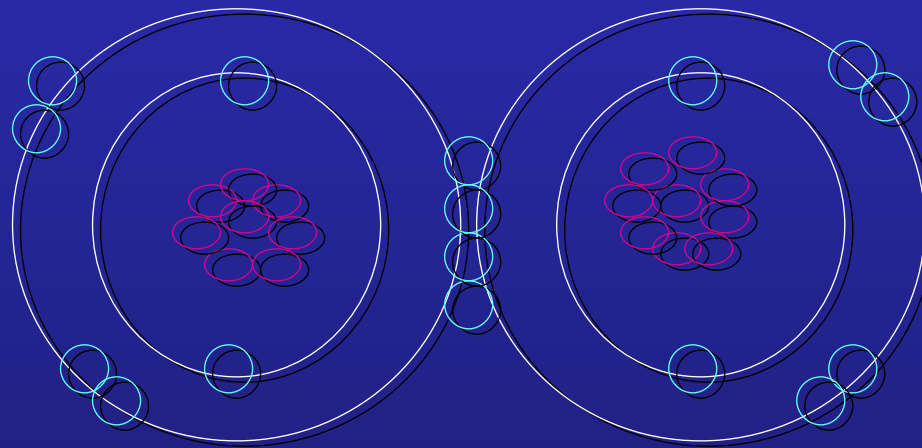
8 protons
(+)

(protons = electrons)

El átomo de oxígeno tiene 2 e- no pareados en órbitas separadas que lo hacen susceptible a la formación de radicales

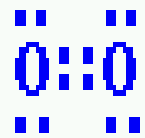
El átomo o molécula que no tenga completo el número de e- en su orbita externa es **INESTABLE** y altamente **REACTIVO** hasta que complete los electrones y se convierta en inerte

MOLÉCULA DE OXÍGENO O₂

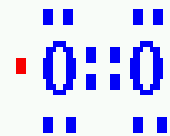


Molécula estable, cada átomo con 8 e-
en la órbita externa, comparten cada uno 2 e-

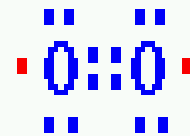
Reactive oxygen species (• unpaired electrons)



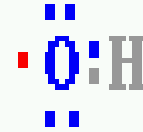
Oxygen



Superoxide anion



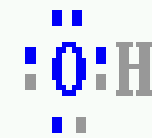
Peroxide



Hydroxyl radical



Ojo!



Hydroxyl ion



* Reducción secuencial (adición de e-) del oxígeno molecular lleva a la formación de ROS

ROS

Radicales: anión superóxido $O_2^{\cdot -}$

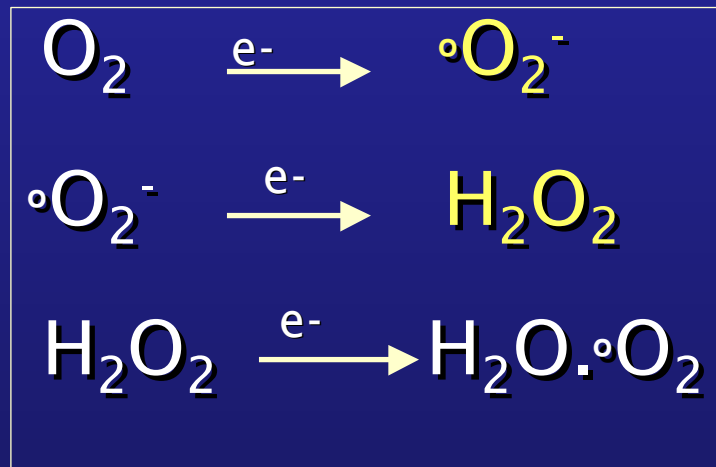
óxido nítrico NO^{\cdot}

radical hidroxilo OH^{\cdot}

Otros: peróxido de hidrógeno H_2O_2

peroxinitrito $ONOO^-$

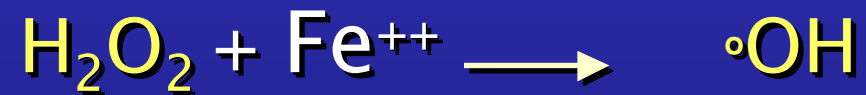
La mayoría de ROS se genera durante la **reducción** metabólica incompleta de oxígeno a agua (aceptación de electrones)



El anión superóxido $\text{}^{\circ}\text{O}_2^-$ puede reaccionar con óxido nítrico (NO) que viene de la conversión Arg a Cit por acción de NOS para dar peroxinitrito ONOO^-



Reacción de Fenton



De los ROS, el $\text{}^{\circ}\text{OH}$ es el más dañino, reacciona con una serie de compuestos orgánicos y lleva a producir más radicales

GENERACIÓN DE ROS

1. MITOCONDRIA respiración aeróbica
2. SOBREPDUCCIÓN
3. DEGRADACIÓN GRASAS peroxisomas
4. OTROS

1. MITOCONDRIA

Respiración aeróbica normal

En una neurona rata/día se procesan:

10^{12} O_2 reducidas a H_2O

2% del O_2 reducido parcialmente consumido genera 20 billones de:

- Aniones superóxido
- Peróxido de hidrógeno

El CEREBRO utiliza 25% del O_2 respirado aunque sólo es 5% del peso corporal

2. SOBREPDUCCIÓN

- INFECCIÓN

Los fagocitos generan aumento de



para matar los agentes infecciosos

- HIPOXIA/HIPEROXIA

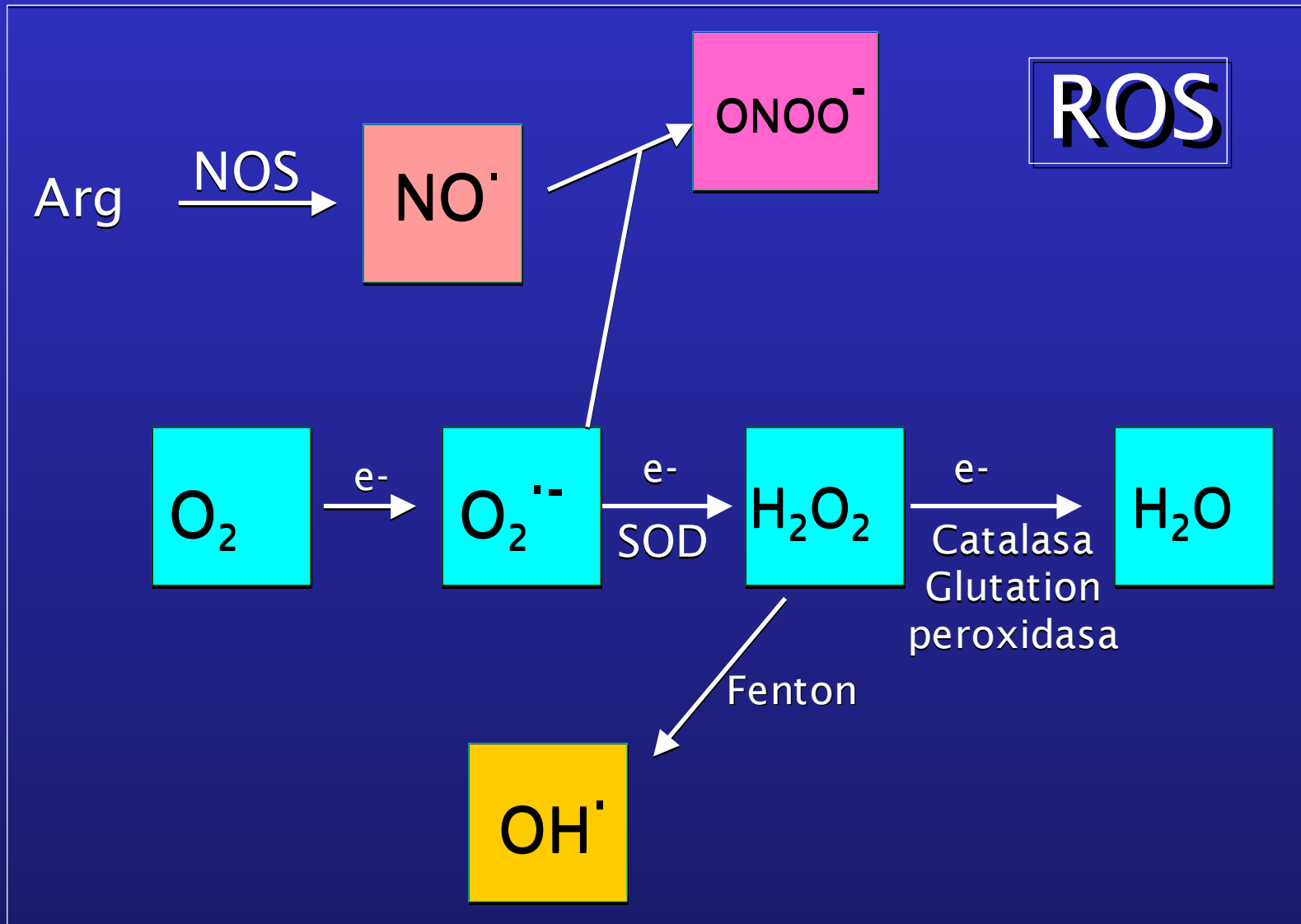
- RADIACIONES IONIZANTES

3. DEGRADACIÓN DE GRASAS

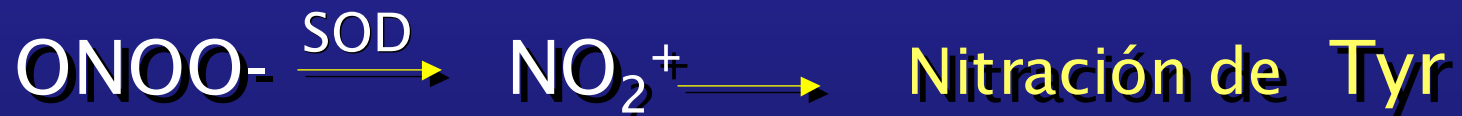
Se produce H_2O_2

4. OTROS

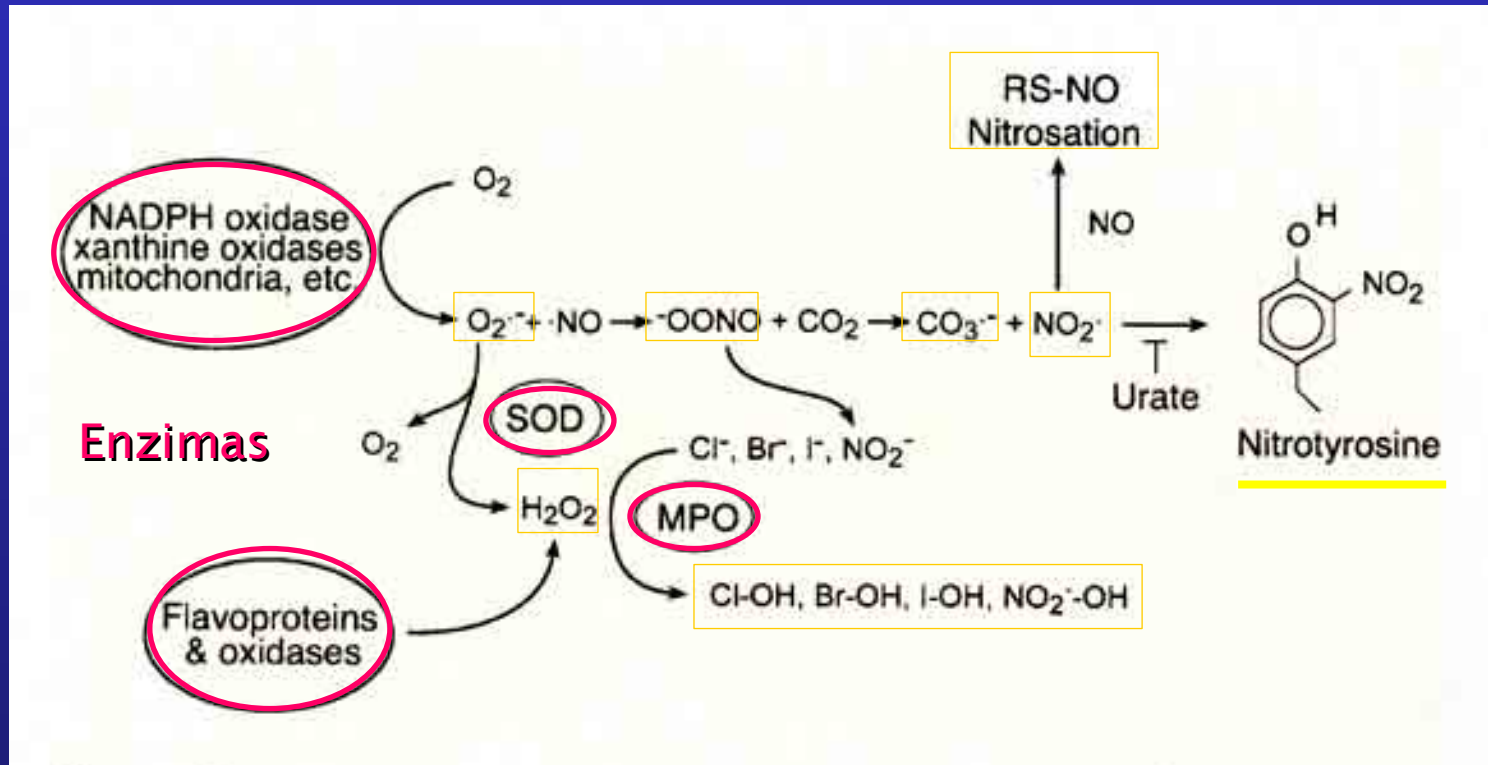
1. Oxidasa NADPH y Xantina oxidasa
Transfieren un e⁻ a O₂ para dar O₂^{o-}
2. Flavoproteínas
Transfieren 2 e⁻ a O₂ para dar H₂O₂
3. SOD
A partir de O₂^{o-} da H₂O₂
4. Peroxidasas usan H₂O₂ para dar más ROS
- *5. MAO, TH producen H₂O₂
- *6. Autoxidación de CA: DA-quinonas, H₂O₂
- *7. Activación de receptores de NMDA da O₂^{o-} y °OH
8. Oxidación de hidroquinonas y thiol dan O₂^{o-}
9. Otros: CIGARRILLO y metales libres (Fe y Cu)



Especies nitrógeno reactivas (RNS)



REACCIONES COMUNES DE ROS Y RNS



Anion superóxido
 Peróxido de hidrógeno
 Peroxinitrito
 Dióxido de nitrógeno
 Radical carbonato

DAÑOS CAUSADOS POR ROS

1. Oxidación de proteínas

Altera **sitios activos** de enzimas

Altera **conformación** de proteínas estructurales

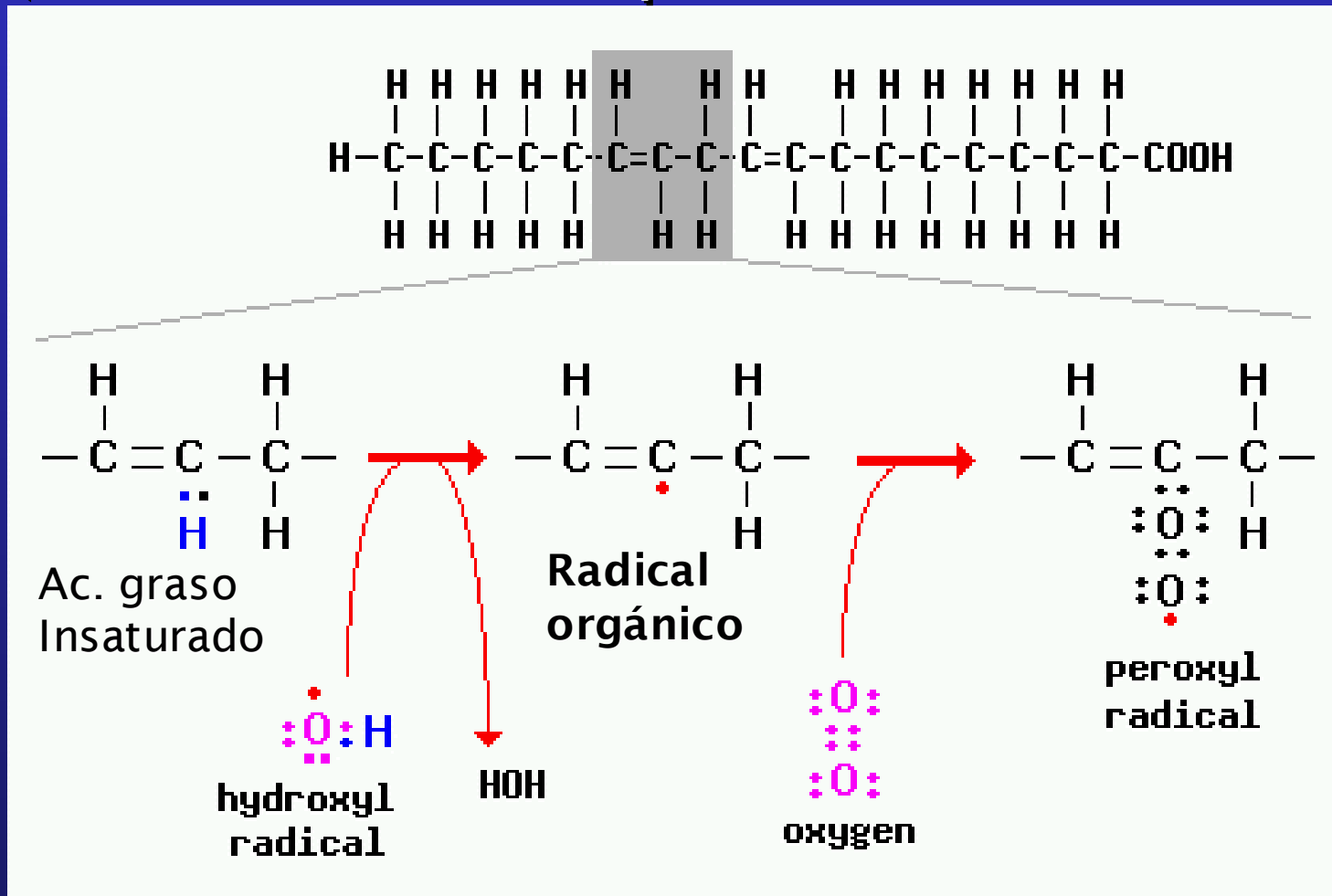
2. Oxidación de ácidos grasos insaturados

Forma **peróxidos lipídicos**, estos alteran membranas

3. Oxidación de ADN

Lleva a mutación que puede afectar **replicación**

Oxidación de Ácidos Grasos Insaturados (Peroxidación de Lípidos en Membranas)



- * Los radicales interactúan con otras moléculas hasta ganar **configuración estable** de e-
- * La molécula blanco queda convertida en **radical**
- * La reacción en **cadena** termina al encontrarse dos radicales y formar un enlace covalente
- * Estas uniones en las macromoléculas **deforman las membranas** por enlaces entre lípidos, lípidos y proteínas y entre proteínas

PEROXIDACIÓN DE LÍPIDOS

Oxidación **en cadena** en ácidos grasos cercanos **daña** las MEMBRANAS celulares y mitocondriales

1. Aumenta rigidez de la membrana
2. Disminuye la actividad de enzimas (bombas)
3. Altera actividad de receptores
4. Aumenta la permeabilidad

MARCADORES de Estrés Oxidativo

1. **4-HNE (lípidos)** 4-hidroxyynonenal
2. **MDA** malondialdehido
3. **8-OHdG (ADN)** 8-hidroxi 2 guanosina

MECANISMOS ANTIOXIDANTES

1. ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Superóxido dismutasa (SOD)

Catalasa

Glutathione peroxidasa

2. ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS

Glutathione es el más importante

Vitamina E

Vitamina C

ENZIMAS ANTIOXIDANTES

1. Superóxido dismutasa

Cu-Zn (citoplasma) Mn (mitocondria)

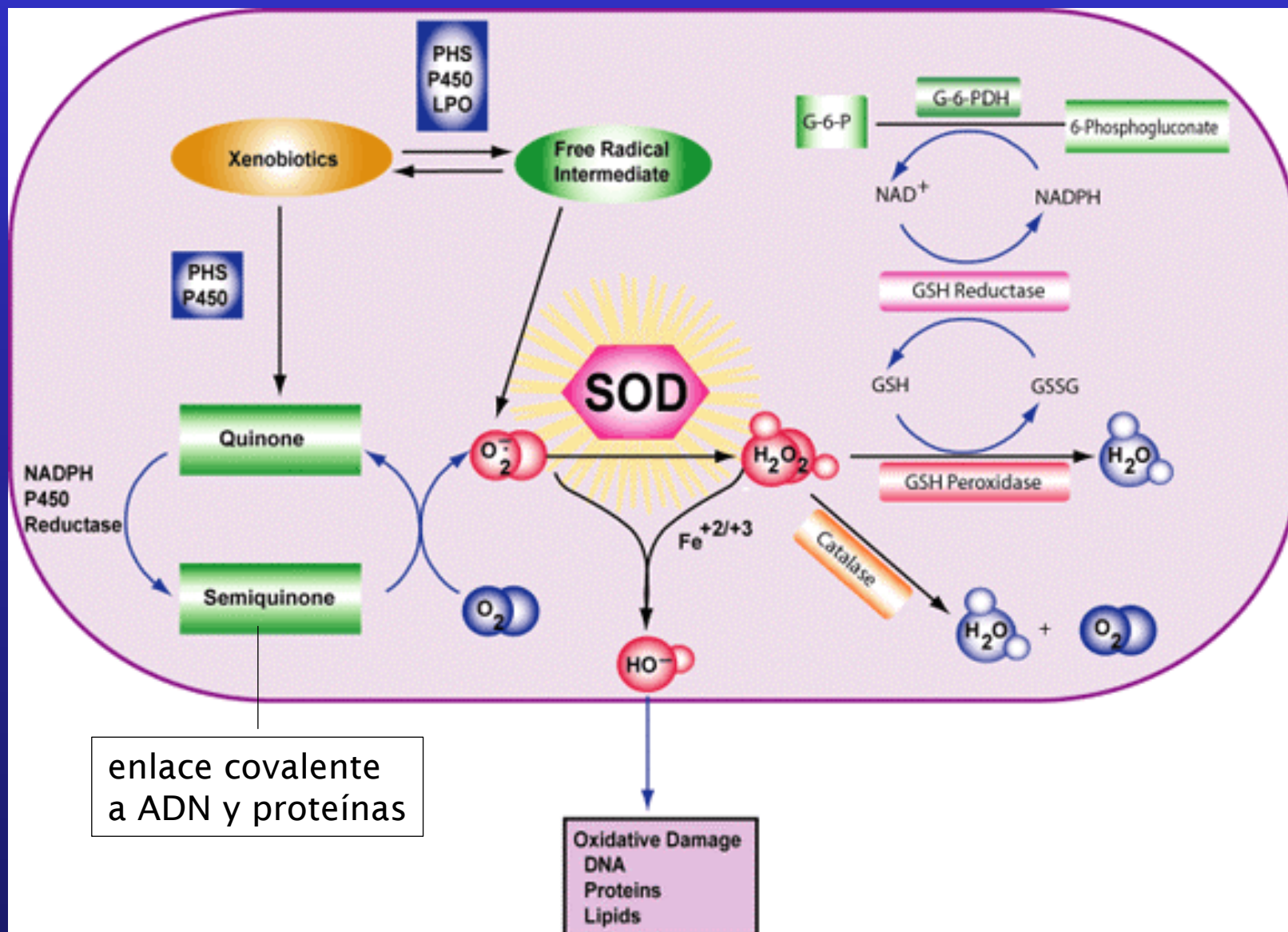


2. Catalasa (peroxisomas)



3. Glutathione peroxidasa (Se)

igual a catalasa



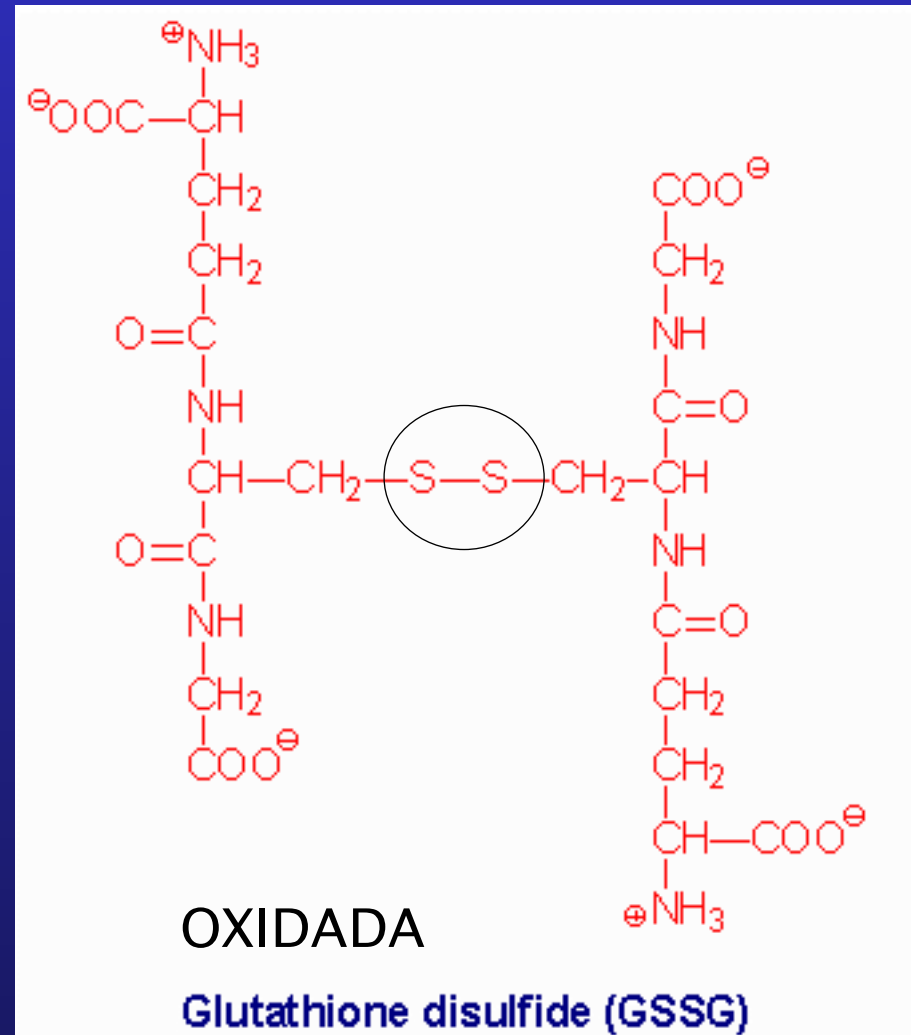
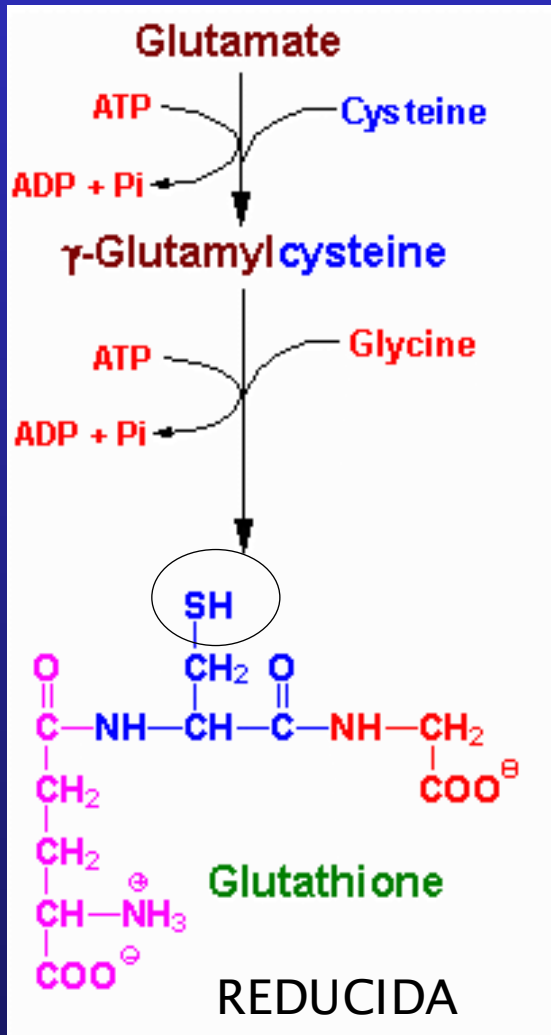
enlace covalente
a ADN y proteínas

Oxidative Damage
DNA
Proteins
Lipids

Glutathione (GSH)
Glu-Cys-Gly



GSSH



ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS

1. GLUTATHIONE (Glu-Cys-Gln) (GSH)

* La Cys del tripéptido tiene un grupo SH libre que es muy reactivo y da un BLANCO abundante para el ataque de radicales

* La reacción con radicales oxida a GSSH que vuelve a GSH en un ciclo **redox** que involucra glutathione reductasa



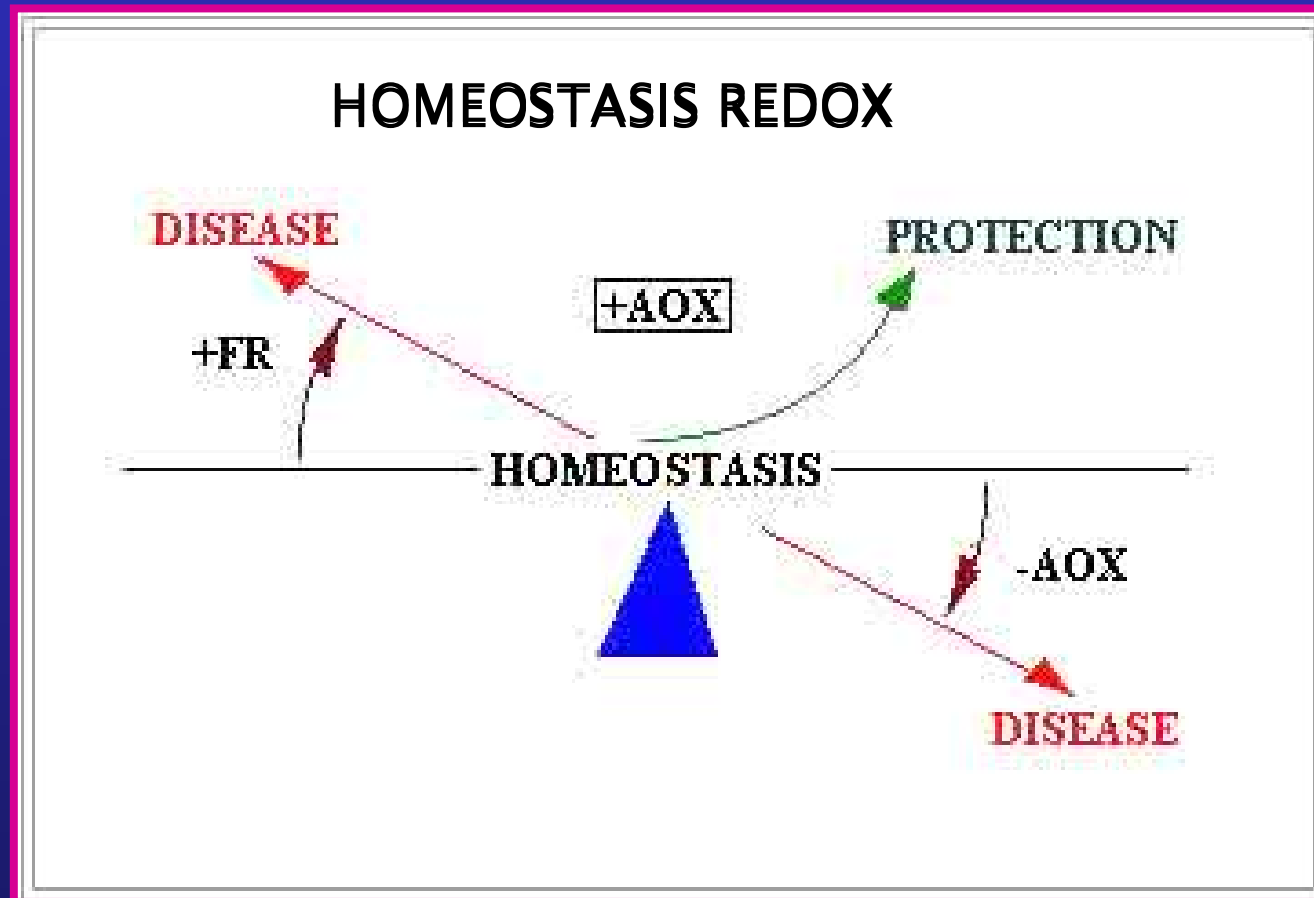
2. Vit E

Principal antioxidante lipídico
Atrapa radicales **peroxy** en las
membranas celulares

3. Vit C

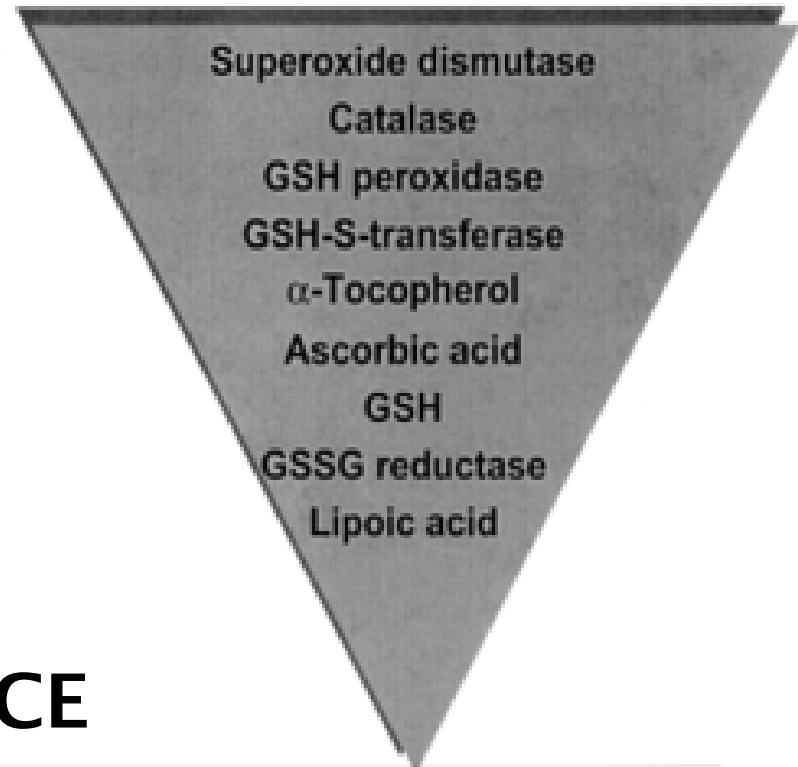
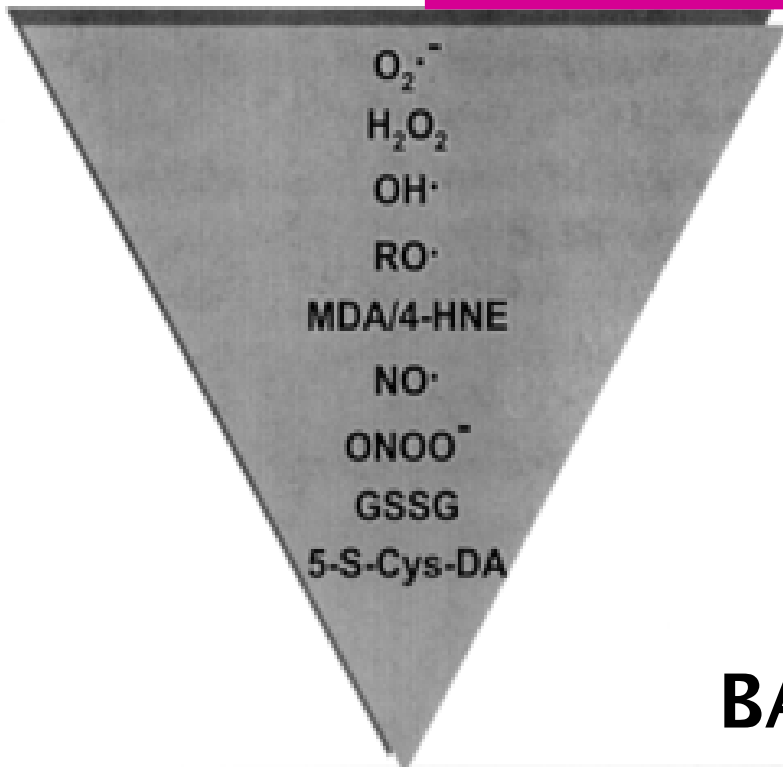
Es antioxidante soluble en agua
Reduce radicales de varias
fuentes, parece **reciclar radicales
de Vit E**

BALANCE ACCIÓN ANTIOXIDANTE/ OXIDANTE

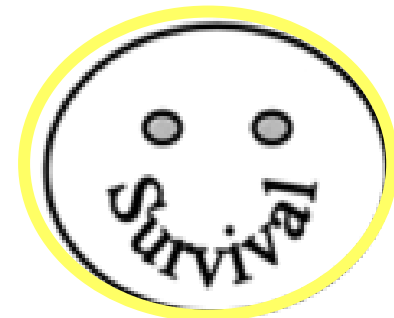
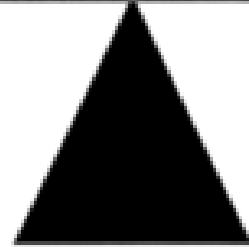
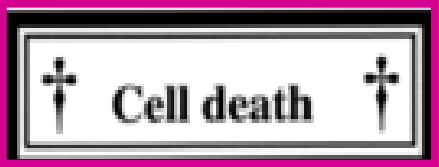


Oxidative stress

Antioxidant defense



BALANCE



BALANCE REDOX



ROS AUMENTAN POR:

1. Aumento de recambio de CA
2. Aumento de Fe libre
3. Función mitocondrial deteriorada
4. Disminución de glutathione
5. Disminución de Enz. Antioxidantes
6. Disminución de Antioxidantes dieta:
 - Vit E, Vit C
 - Carotenoides, flavonoides, uratos

**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**

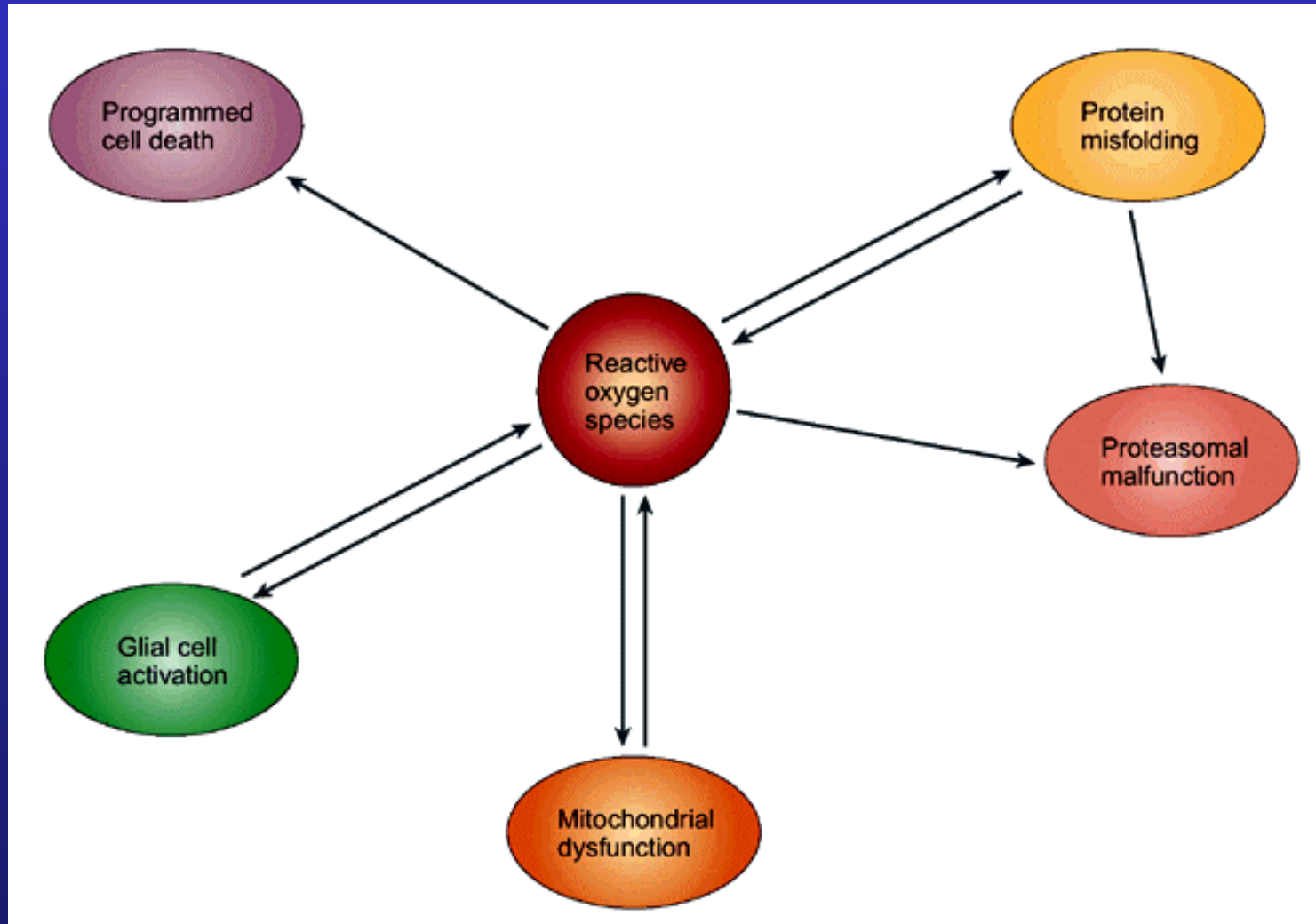
Sobre todo + 65 años!!

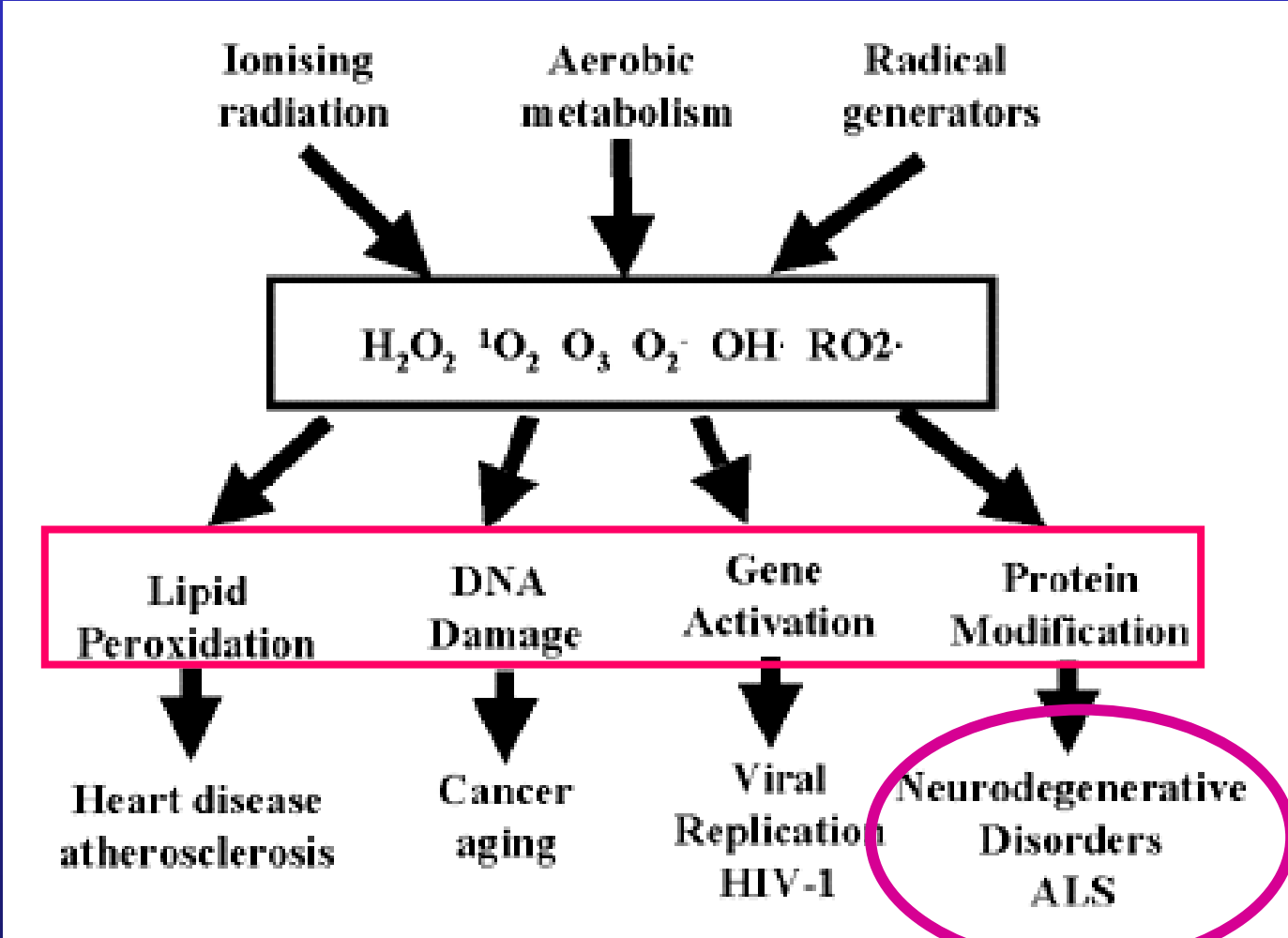
ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

- * 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:

β amiloide en AD

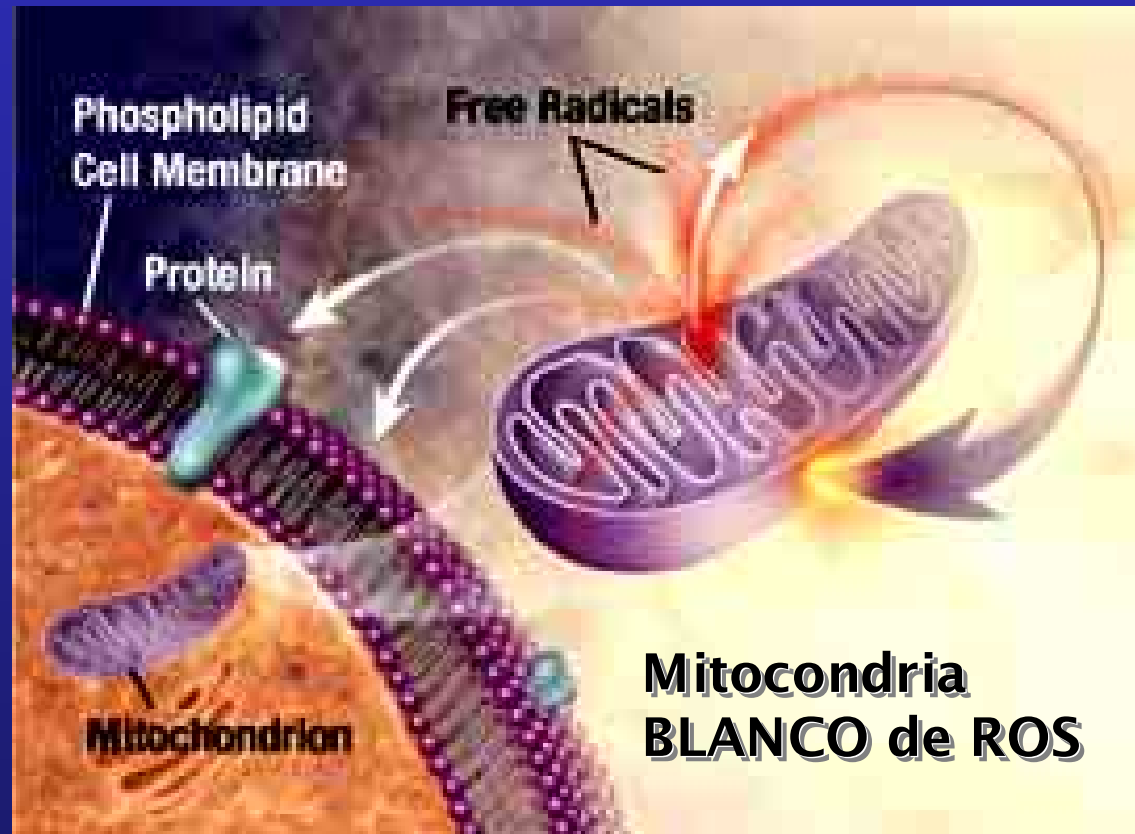
α synucleina en PD

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

- * Aumento de ROS

 - Aumento de peroxidación de lípidos

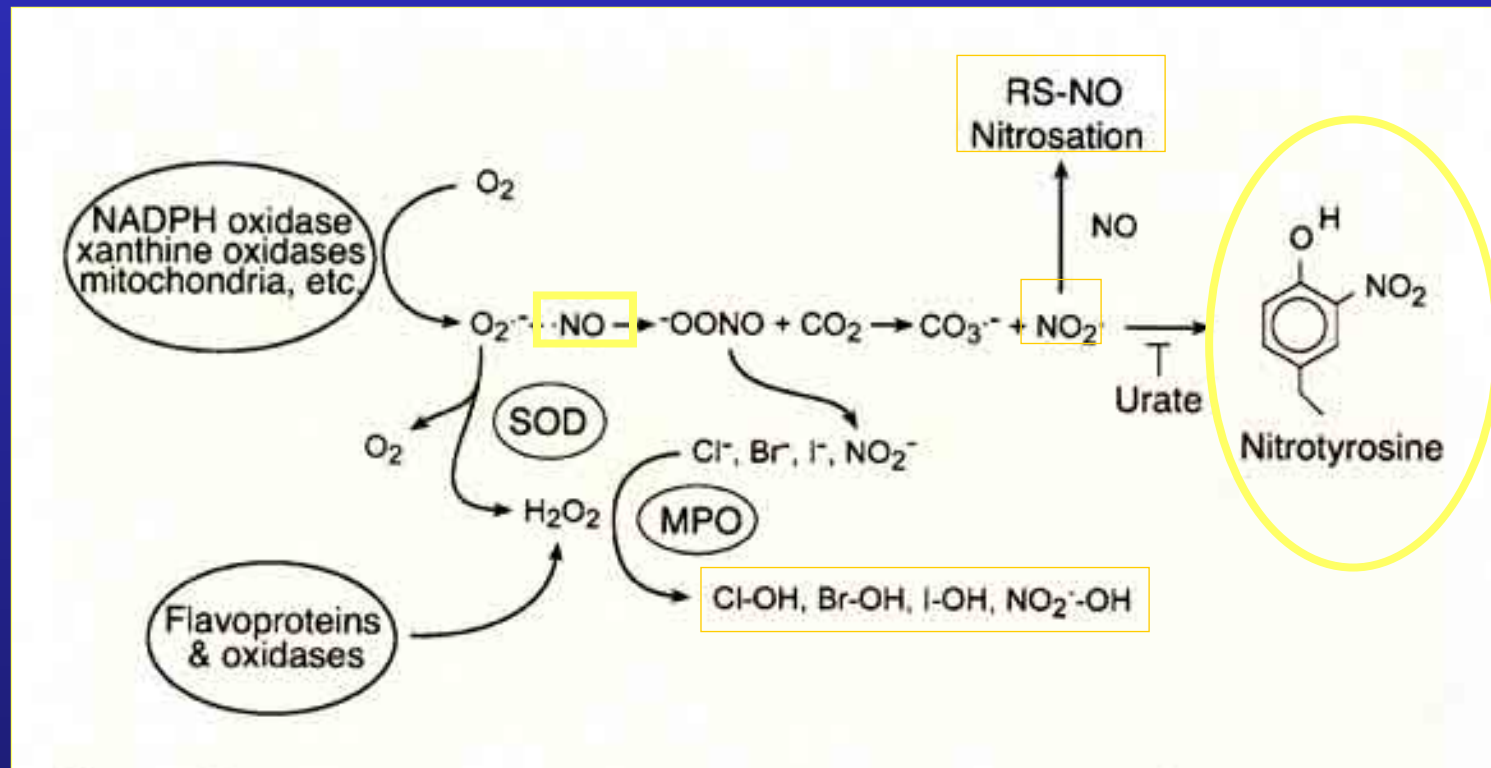
 - Aumento de Zn

 - Causa aumento RÁPIDO de agregados de $A\beta$

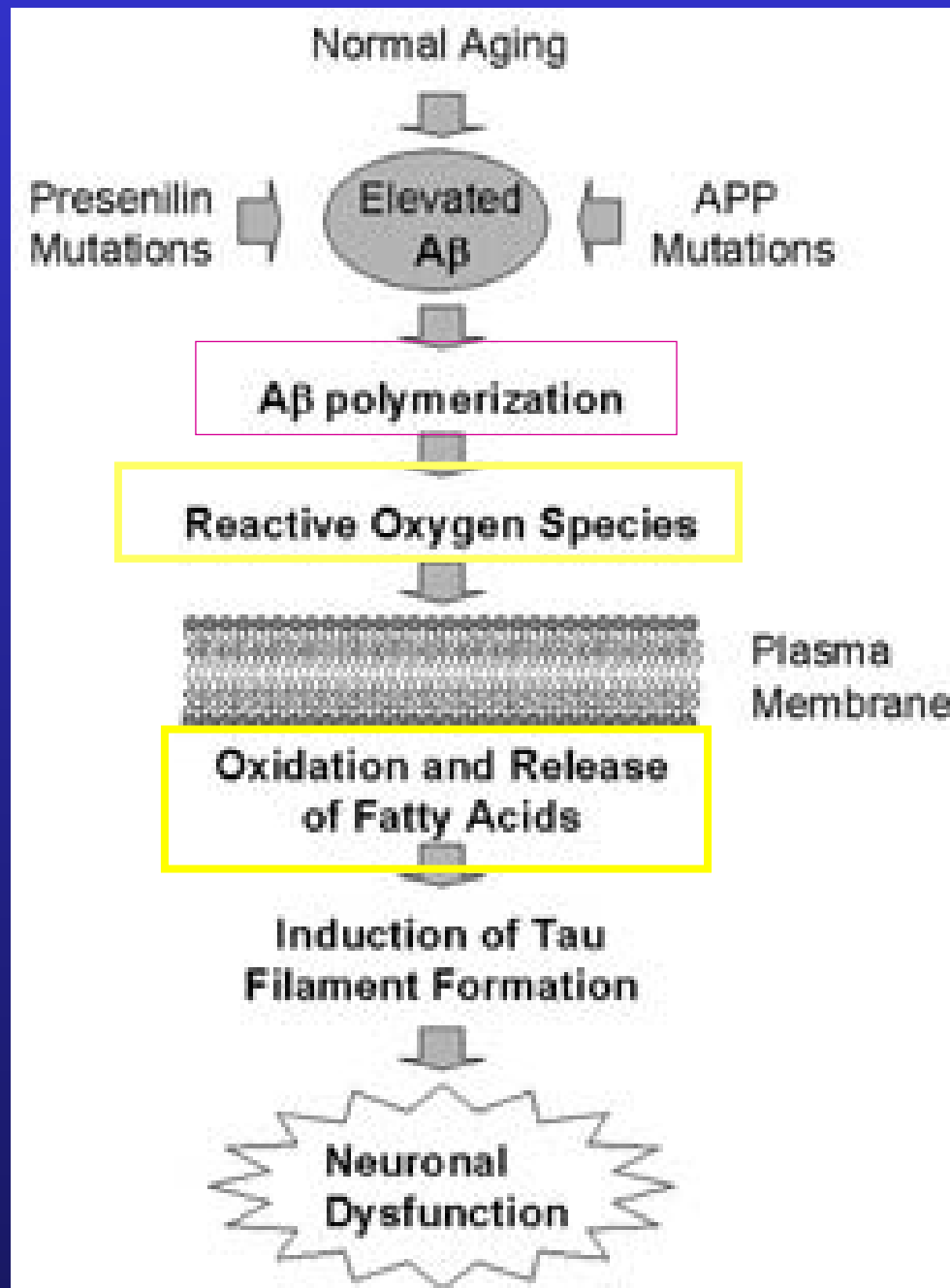
- * Disminución de ÁCIDO ÚRICO

 - Aumenta la Nitración de Tyr que es uno de los precoces marcadores de Alzheimer

Nitración de Tyr marcador precoz en Alzheimer, Parkinson y ALS



Hay Nitrotirosina en α synuclin
Ratones SIN iNOS son más resistentes
a toxicidad por NMDA y MPTP



ESTRÉS OXIDATIVO Y PARKINSON

Evidencias de que la Sustancia Negra esta sometida normalmente a un aumento de Estrés Oxidativo y deterioro del mecanismo antioxidante (disminución GSH):

1. AUTOXIDACIÓN DE DA

Formación de **DA quinonas**, presencia de neuromelanina y ROS

2. DEGRADACIÓN DE DA POR MAO

Producción de **H₂O₂** y **GSSH** (disminuye GSH)

3. AUMENTO DE HIERRO




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

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

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 α -tocopherol Catalase Glutathione peroxidase γ -Glutamyltranspeptidase
 Normal  Decreased  Increased		

INICIO

Disminución GSH

TARDE

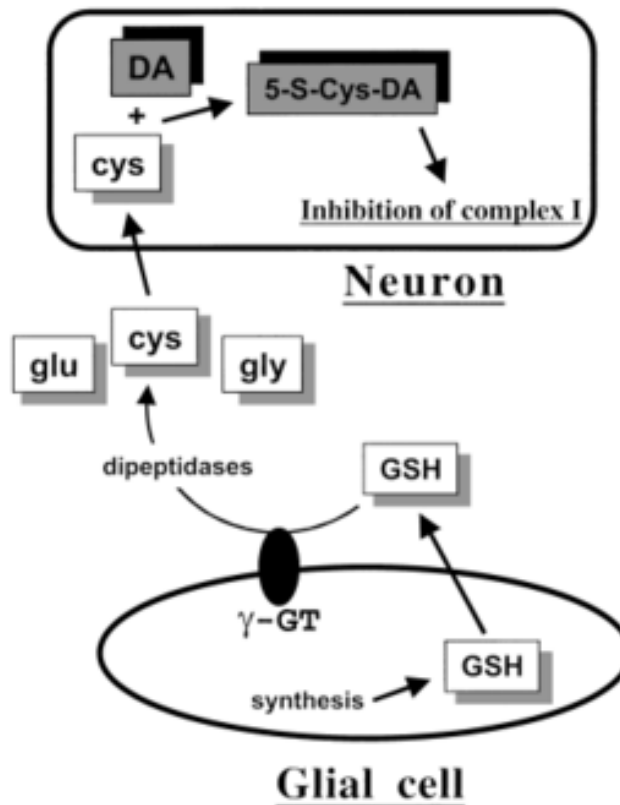
Disminución de DA

Daño de Complejo I

Aumento de Hierro

Macromoléculas dañadas

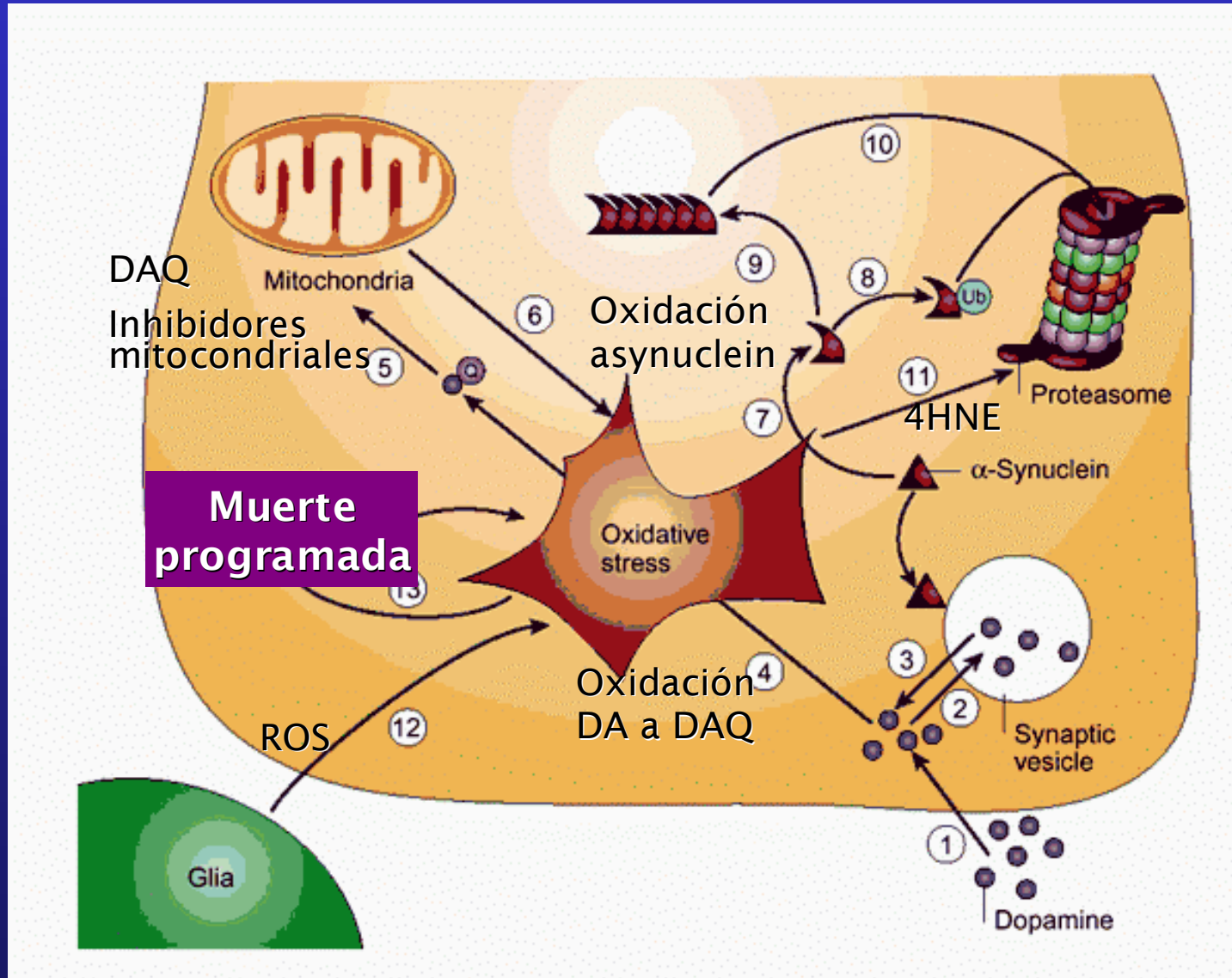
Possible neurotoxic action of (excessive) extracellular cystein in dopaminergic neurons:



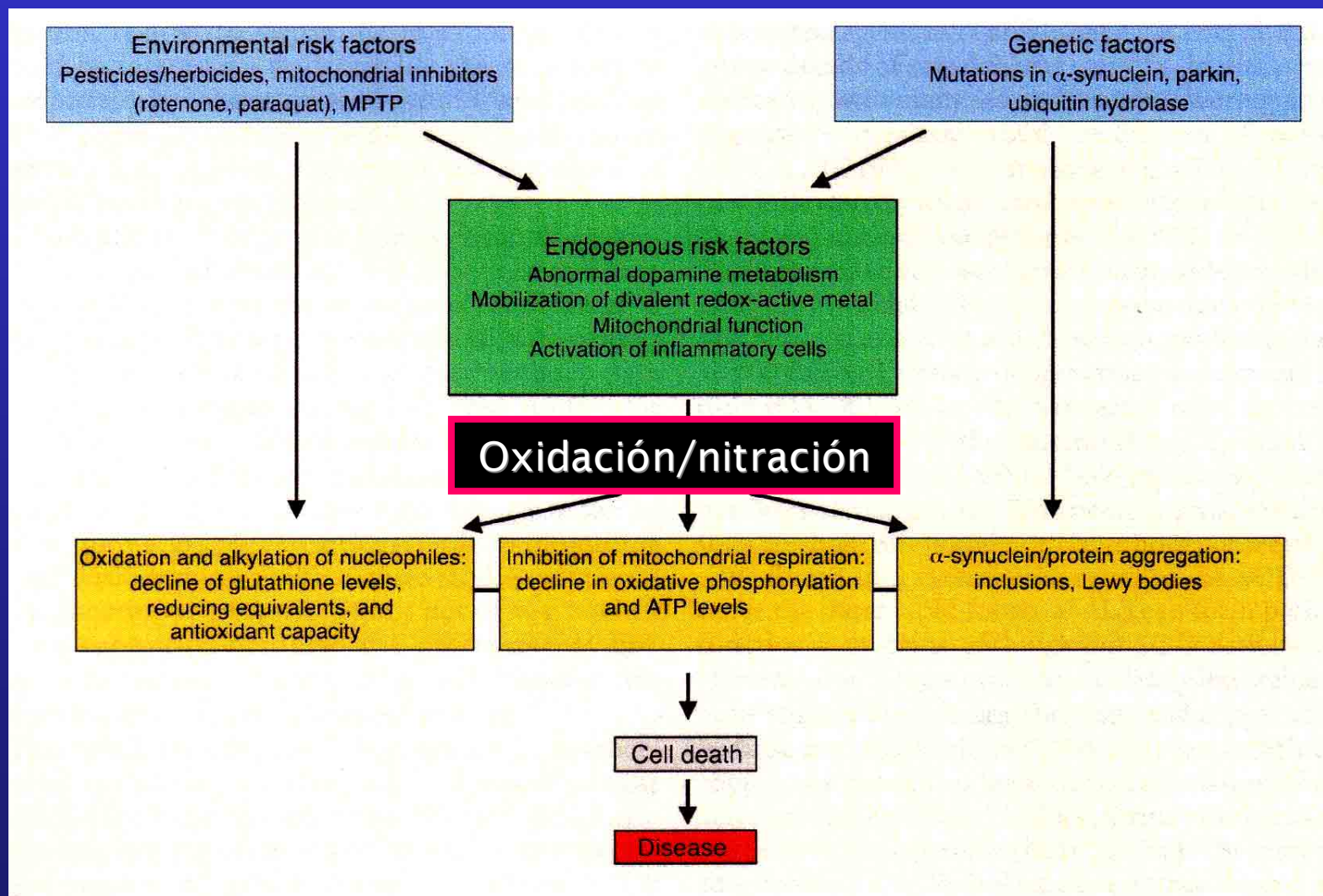
ESTRÉS OXIDATIVO Y PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS EN PARKINSON

- * La oxidación de DA, y el hierro libre pueden estar implicados en oxidación de α synuclein
- * α synuclein oxidada libera DA al citoplasma lo que aumenta la oxidación de DA
- * α synuclein 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



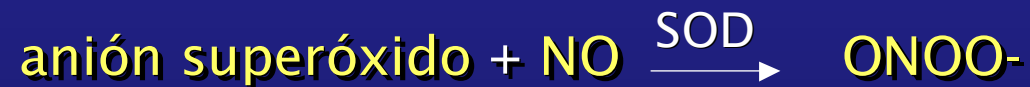
ROL CENTRAL PERO NO INICIAL DE PROCESOS OXIDATIVOS



EN LA PATOLOGÍA 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 SOD, la cual actúa como peroxidasa y superóxido reductasa aumentando **peroxinitrito**



- * La expresión de **iNOS** en la glia aumenta la ND en modelos animales de ALS y MPTP
El bloqueo de iNOS con MINOCICLINA lo evita

- * En ALS hay disminución de **proteínas chaperonas (HSP)**.
Esto llevaría a aumentar proteínas oxidadas dañadas resistentes a la degradación.
La inducción farmacológica de HSP con ARIMOCLOMOL enlentece la progresión de ALS en modelos animales

ESTRÉS OXIDATIVO (ROS y RNS)

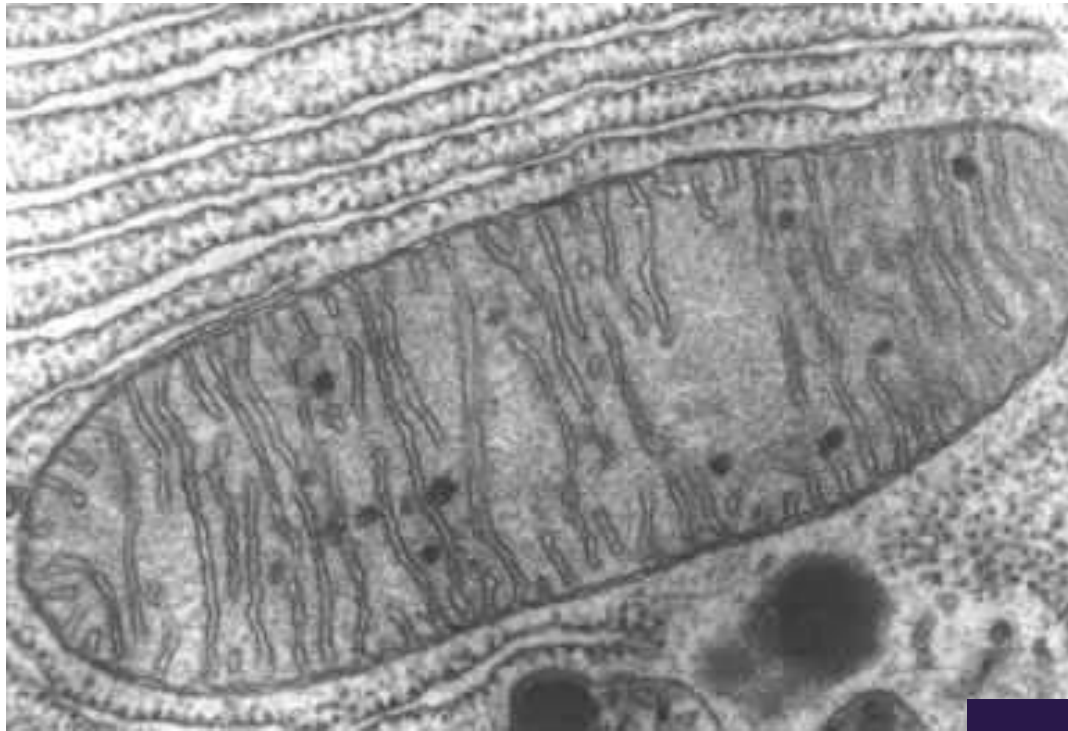
y

Disfunción mitocondrial

Mal plegamiento de proteínas

Deterioro de la degradación de proteínas

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

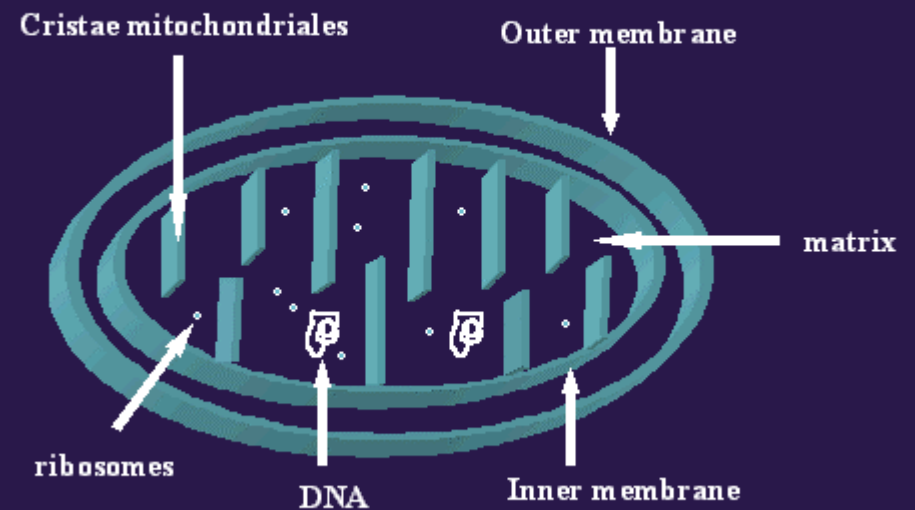


MITOCONDRIA

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

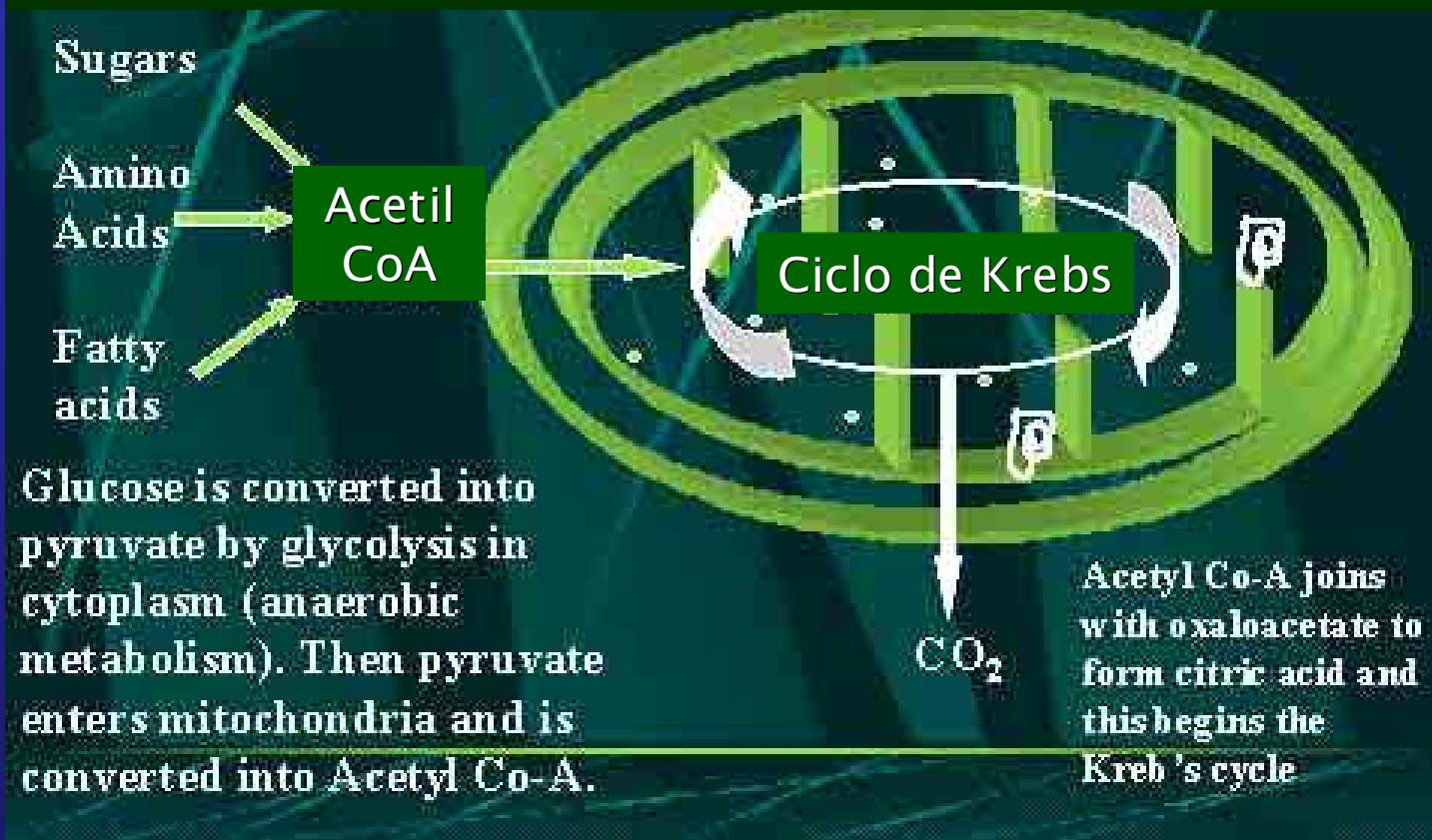
Aporte de fosfato a una molécula

FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

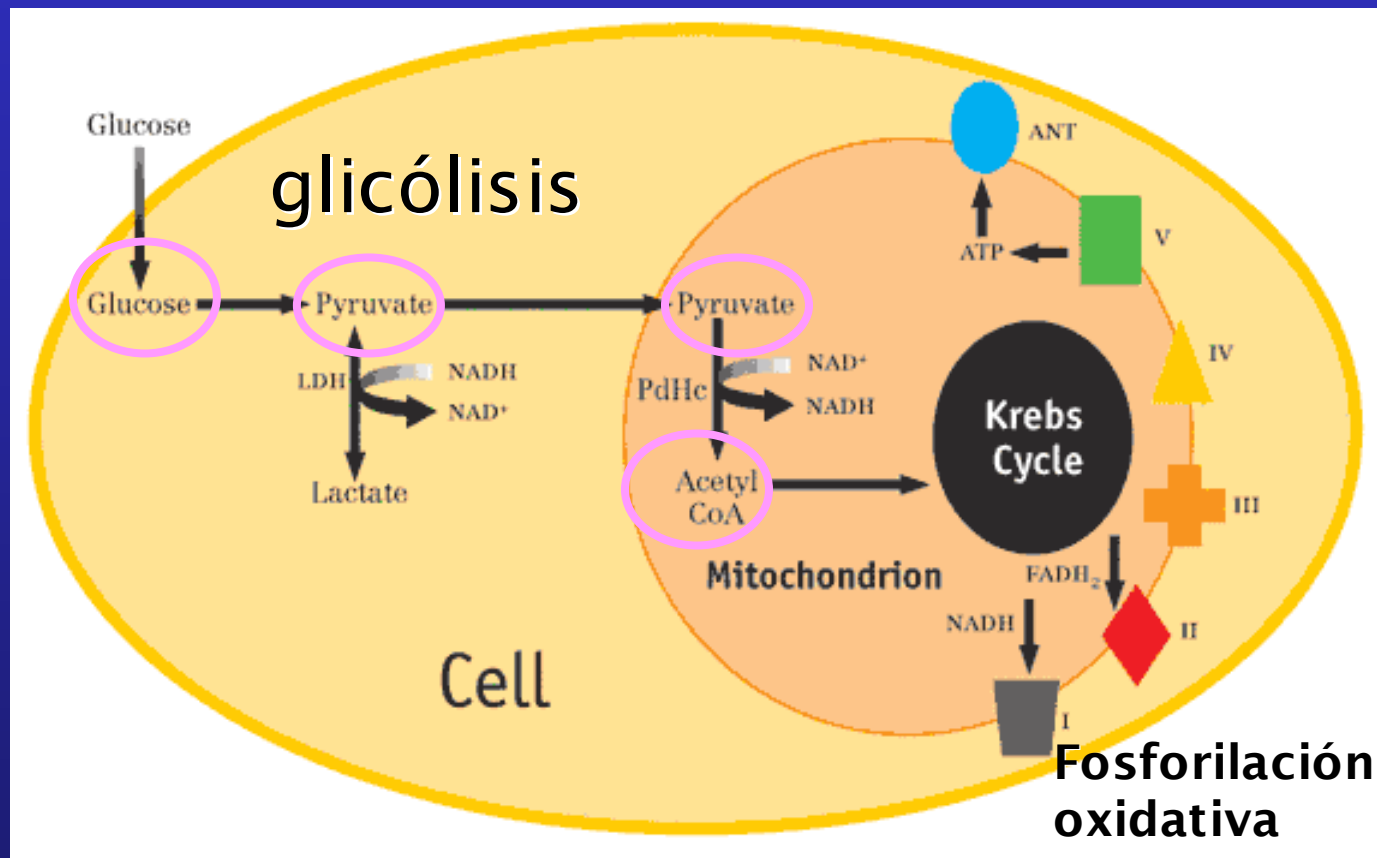
Acoplamiento de:

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

¿Cómo están organizadas las mitocondrias para ser Generadores de Energía?



Metabolismo energético



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

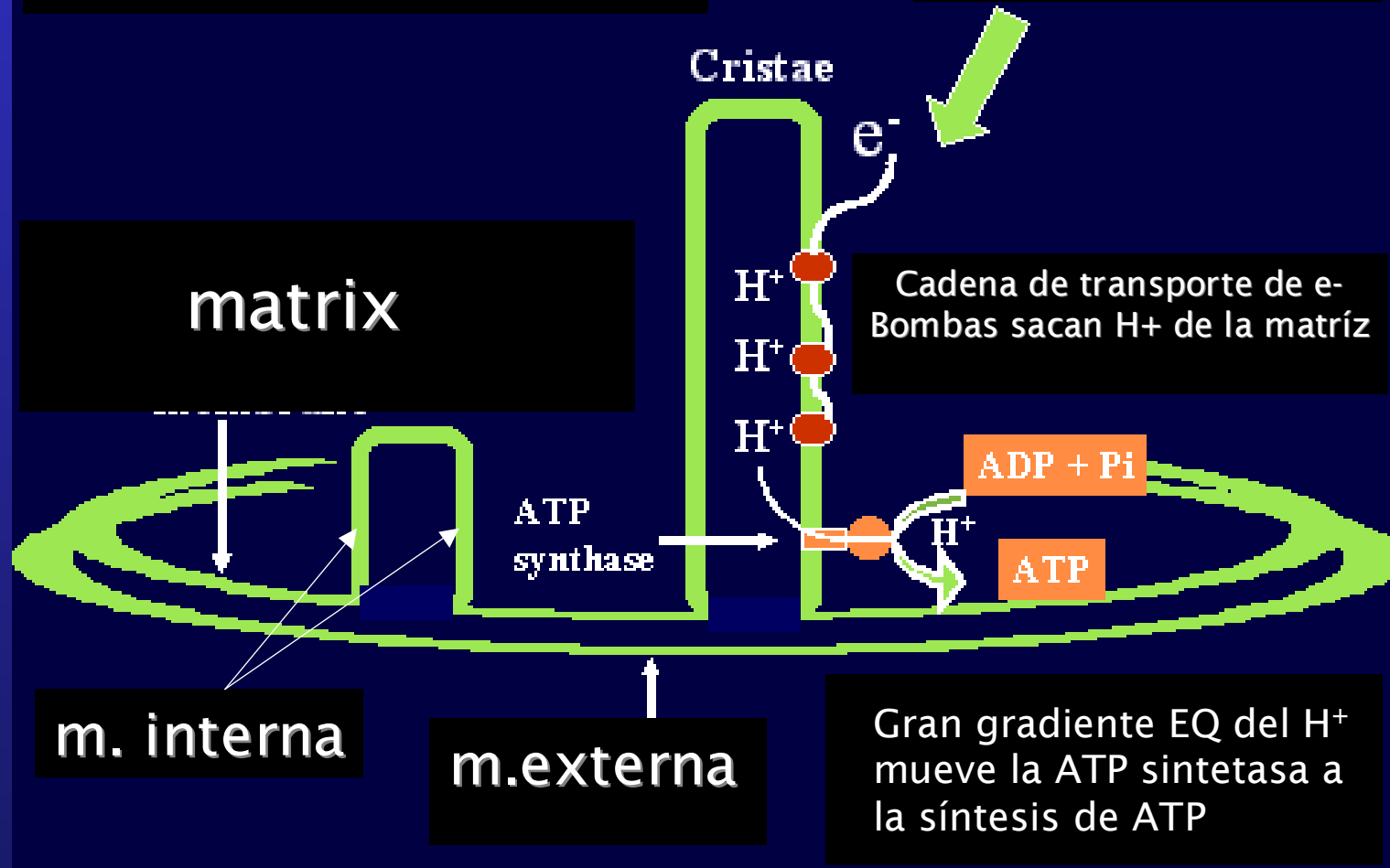
2 transportadores de electrones:

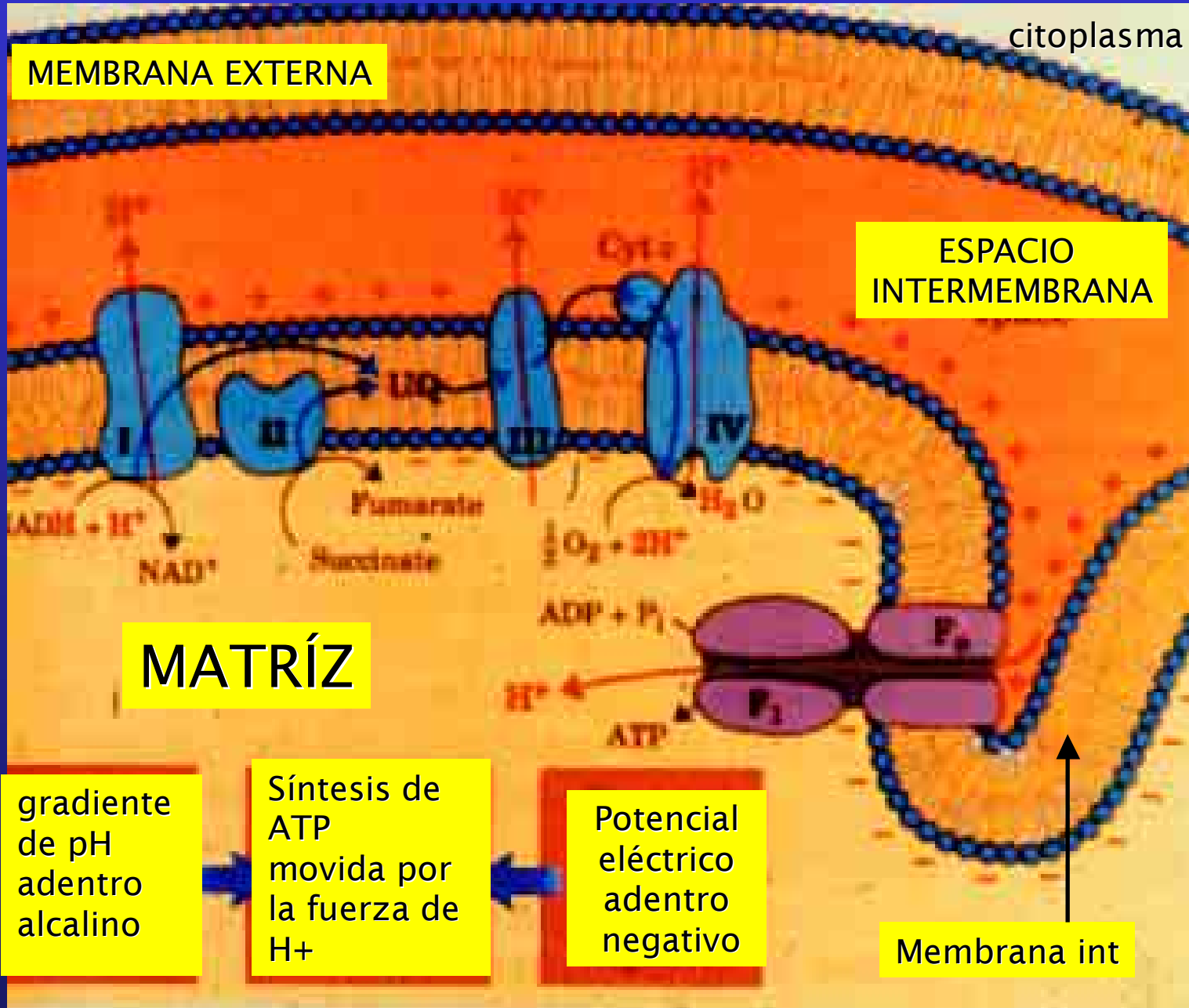
Ubiquinona o Coenzima Q

Citocromo C

Cadena de transporte de e⁻

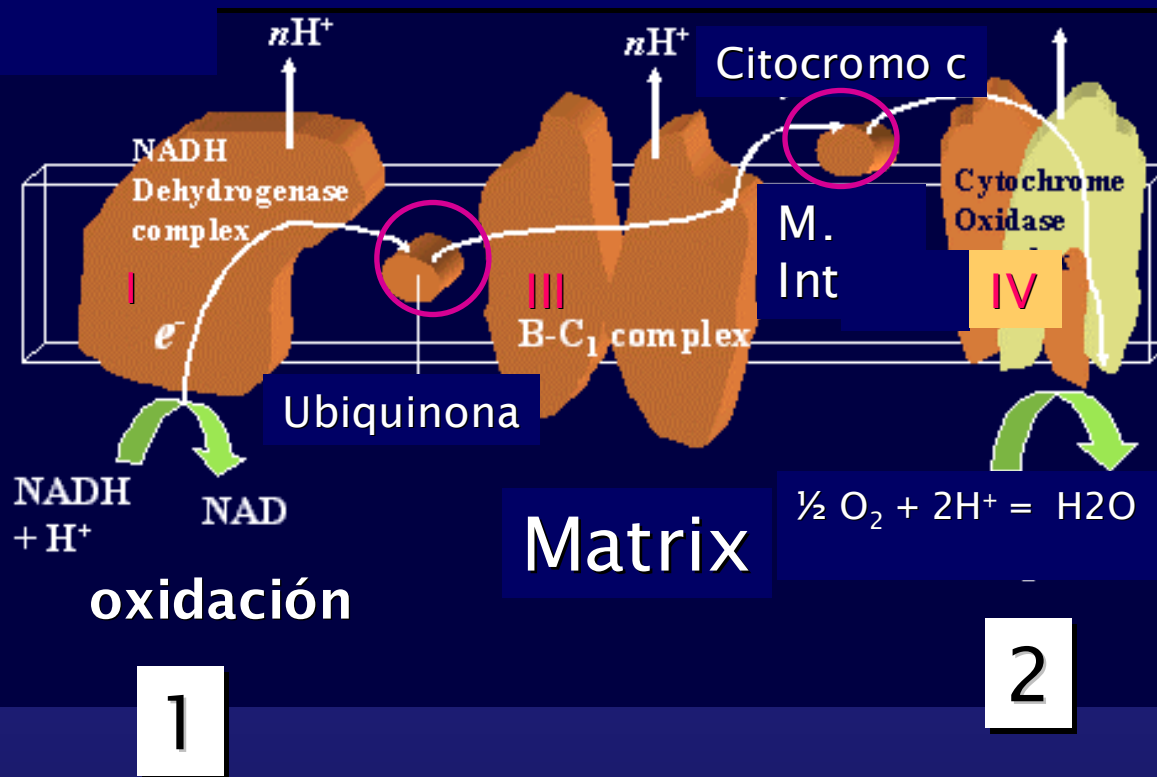
NADH y FADH₂ del Ciclo de Ktrebs



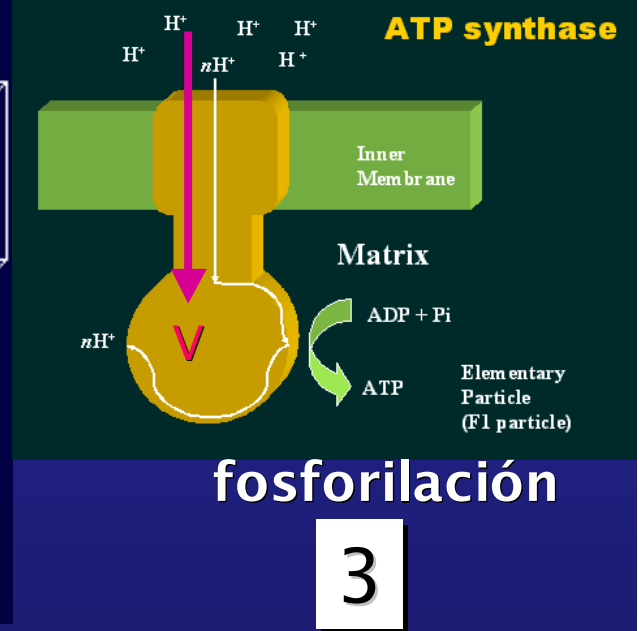


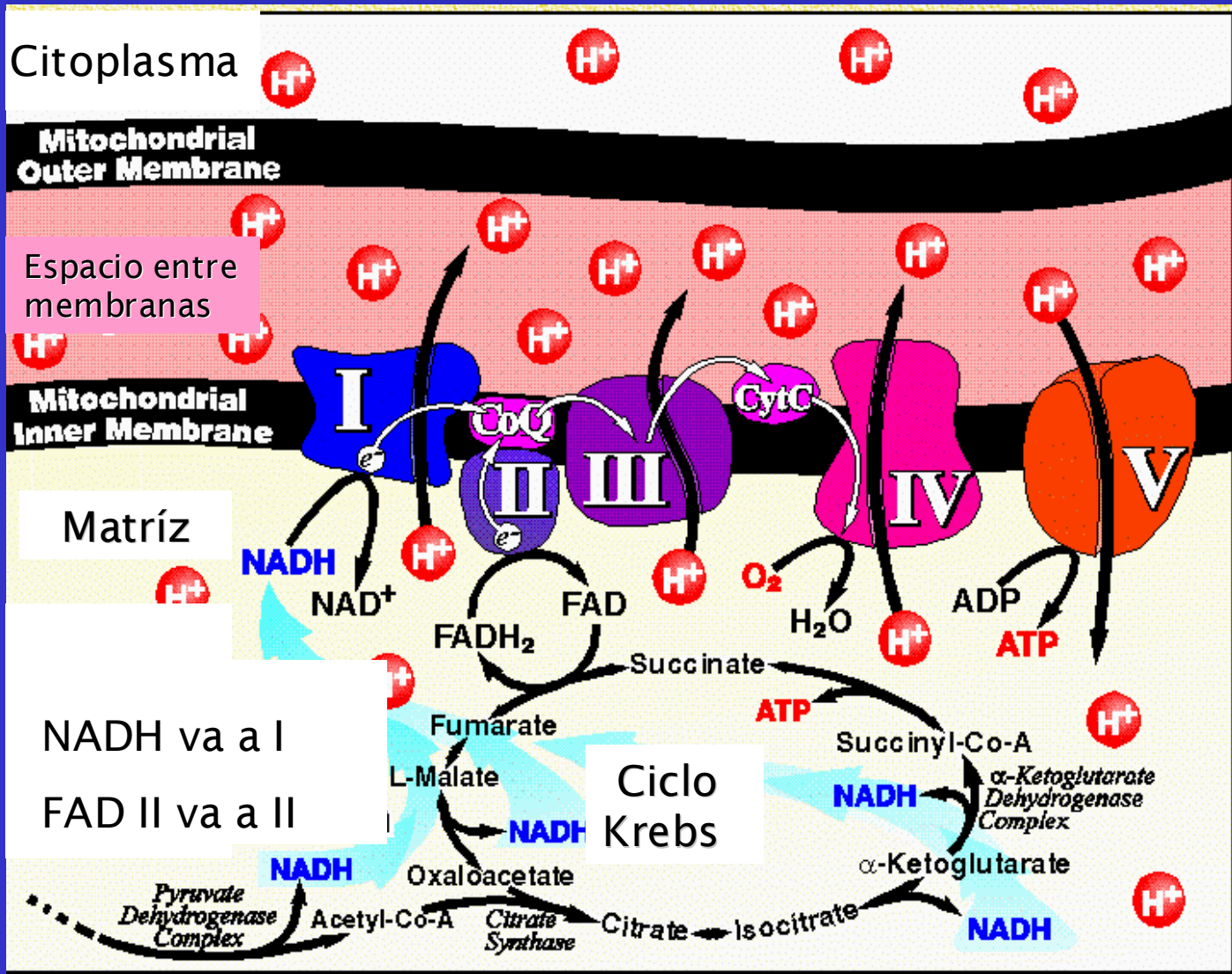
FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

CADENA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES
Establecimiento de gradiente de H⁺



Síntesis de ATP





Citoplasma

Mitochondrial Outer Membrane

Espacio entre membranas

Mitochondrial Inner Membrane

Matríz

NADH va a I
FAD II 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 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

ENF. POR DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

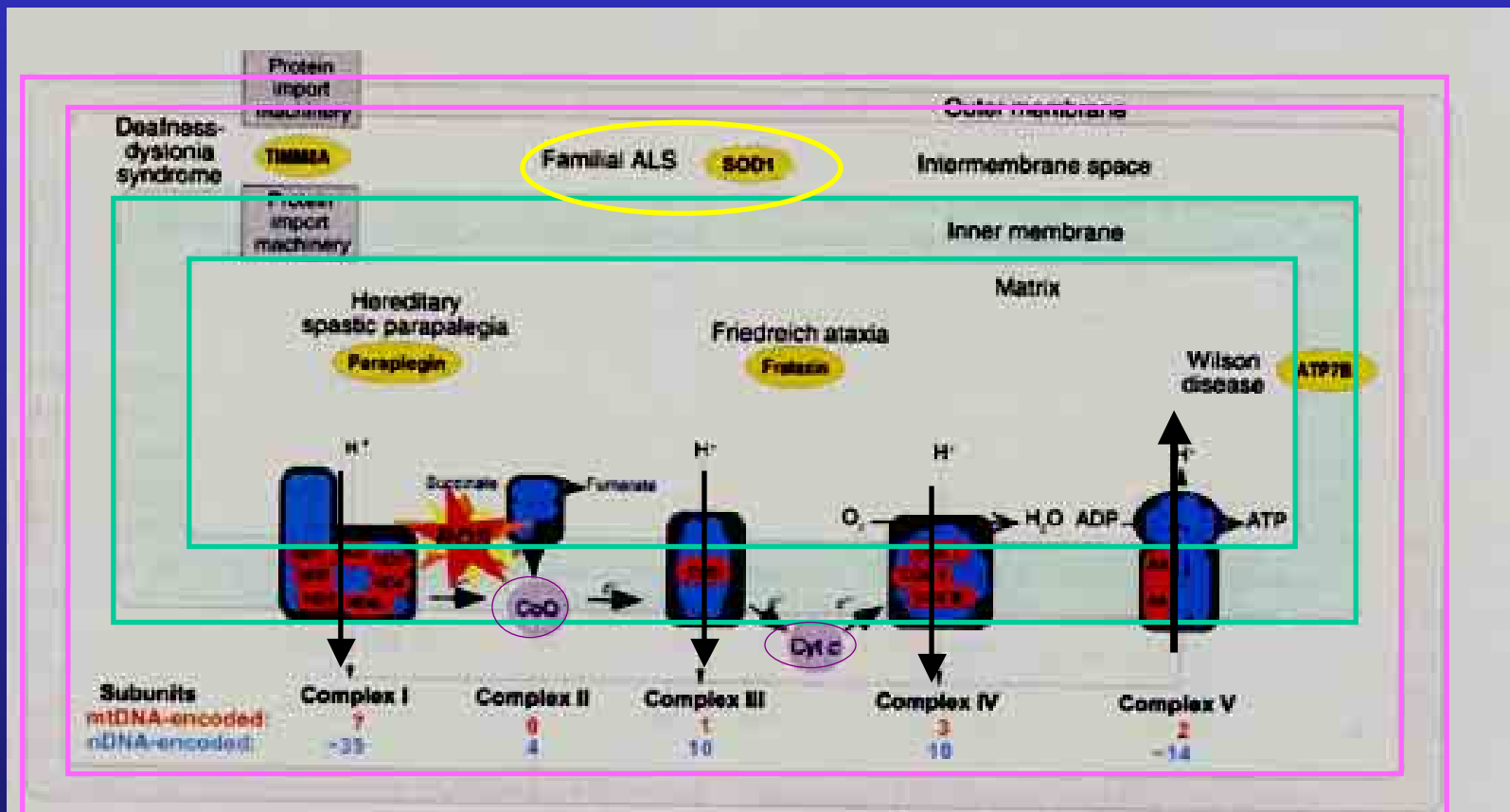
- * El ADN mt codifica para un pequeño número de proteínas para Respiración Celular, algunos ARN ribosómicos y ARN transportadores
- * El ADN mt sólo se hereda de la madre, se divide y replica independientemente del ciclo celular y se distribuye al azar
- * Las mutaciones en ADN mt tiene que afectar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

ENF. 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

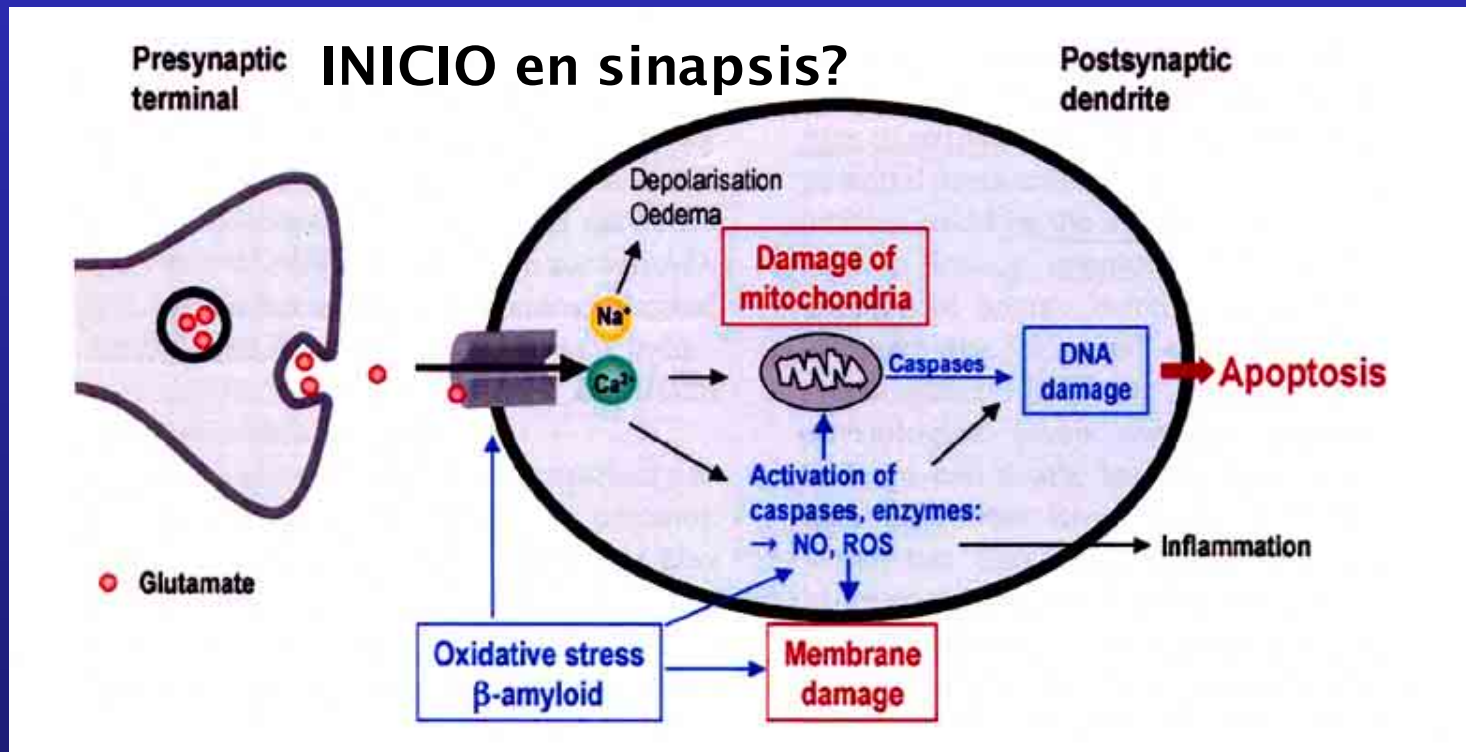
La MAYORÍA de Enf. ND

ENF. NEURODEGENERATIVAS UBICACIÓN INTRAMITOCONDRIAL DE PROTEÍNAS MUTADAS



**ENFERMEDAD NEURODEGENERATIVA
Y
DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL**

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ALZHEIMER



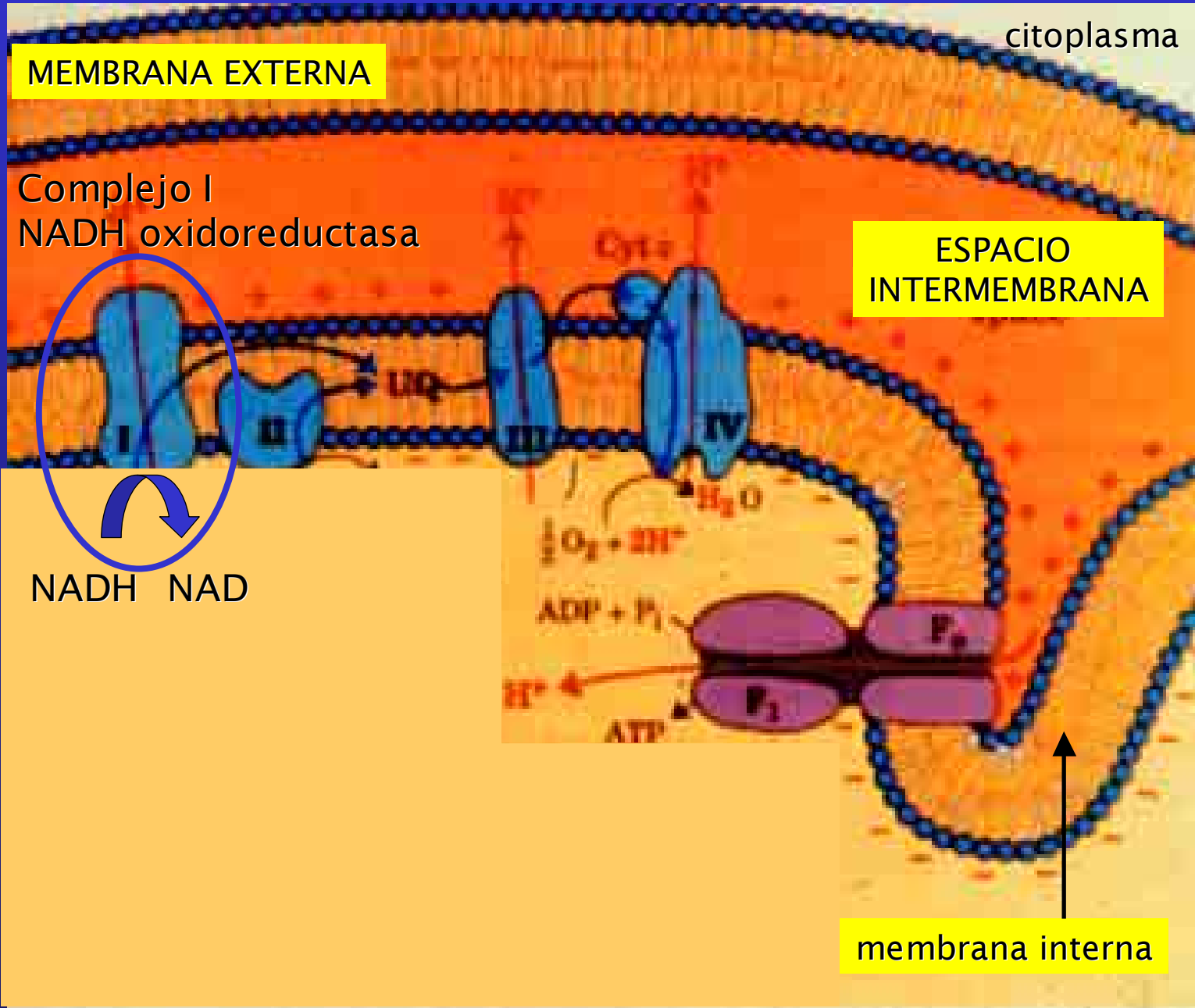
Exposición a β amiloide: disregula calcio, activa caspasas, genera ROS y NO, reduce Vmt, apoptosis

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN PARKINSON

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

Aumento de ROS

Disminución de ATP



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 α sinucleína**, se agrega y aumentan **Cuerpos de Lewy**

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN PARKINSON

* Factores ambientales tóxicos inhibidores selectivos Complejo I

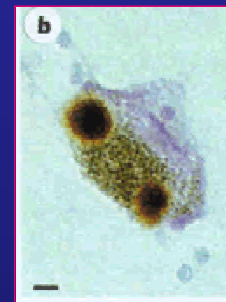
MPTP (MPP⁺)

ROTENONE

PARAQUAT

Producen:

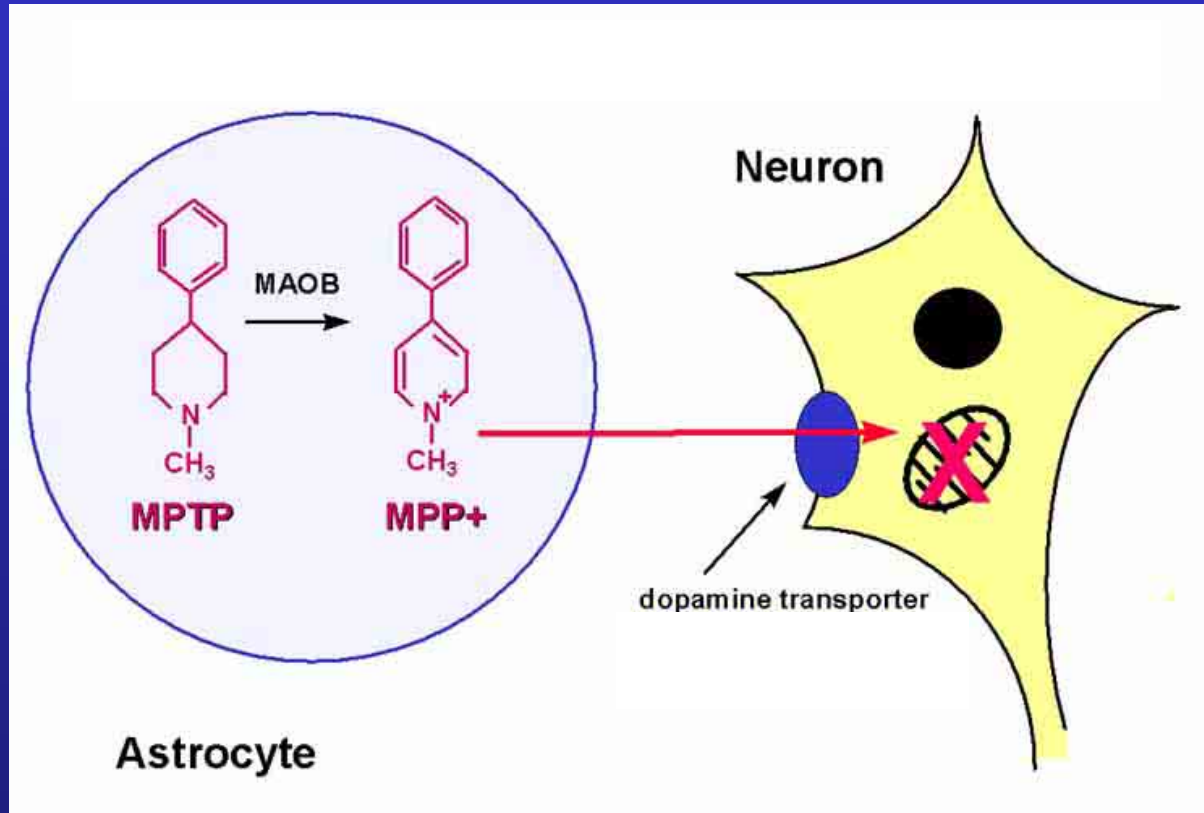
- Inclusiones con α synuclein
- Muerte Neuronas DA



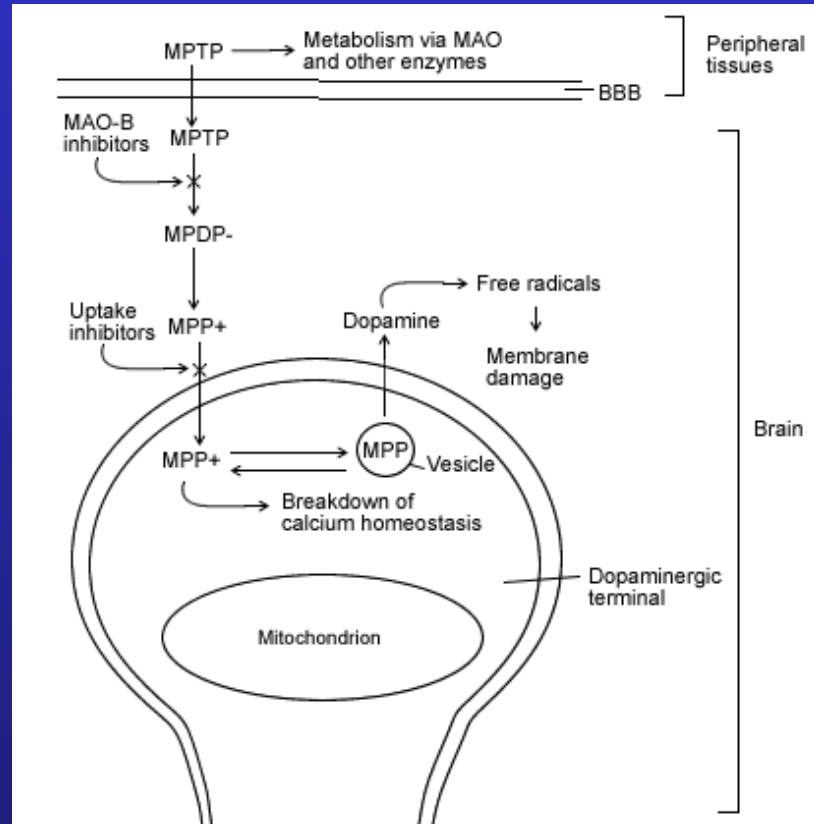
Cuerpos
de Lewy

MPTP

- * 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+



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

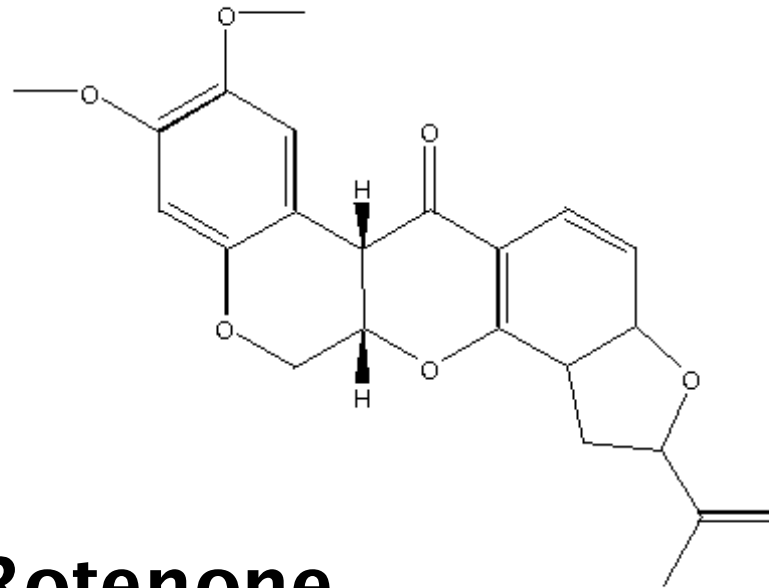


Aumenta ROS, disminuye ATP, aumenta DA en citoplasma, aumentan productos oxidados de DA que se unen a GSH y dan GSH-DAQ que inhiben Complejo I

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- en la NADH reductasa, previene su uso como sustrato para la fosforilación oxidativa
- * Es considerado un mejor modelo de Parkinson

Estructura diferente a MPTP

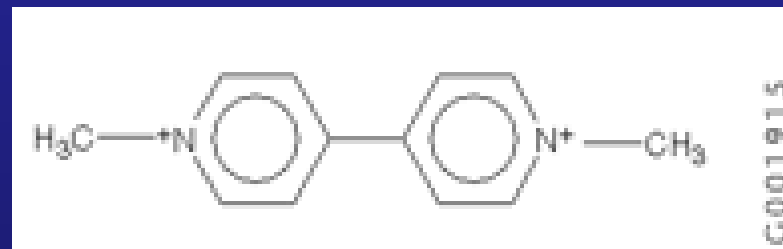
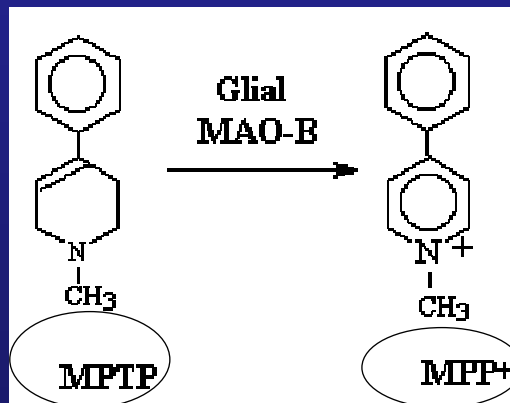


Rotenone

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

PARAQUAT

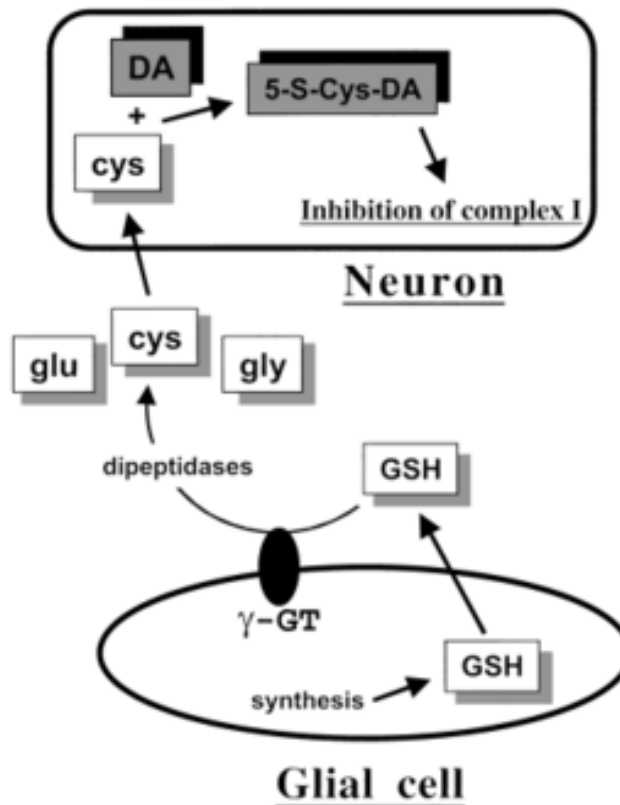
- * Herbicida común que causa intoxicación inadvertida mortal y también es agente en suicidios
Muerte horrible por falla sistémica de órganos!!!
- * Tiene estructura similar a MPTP
Afecta también a neuronas DA



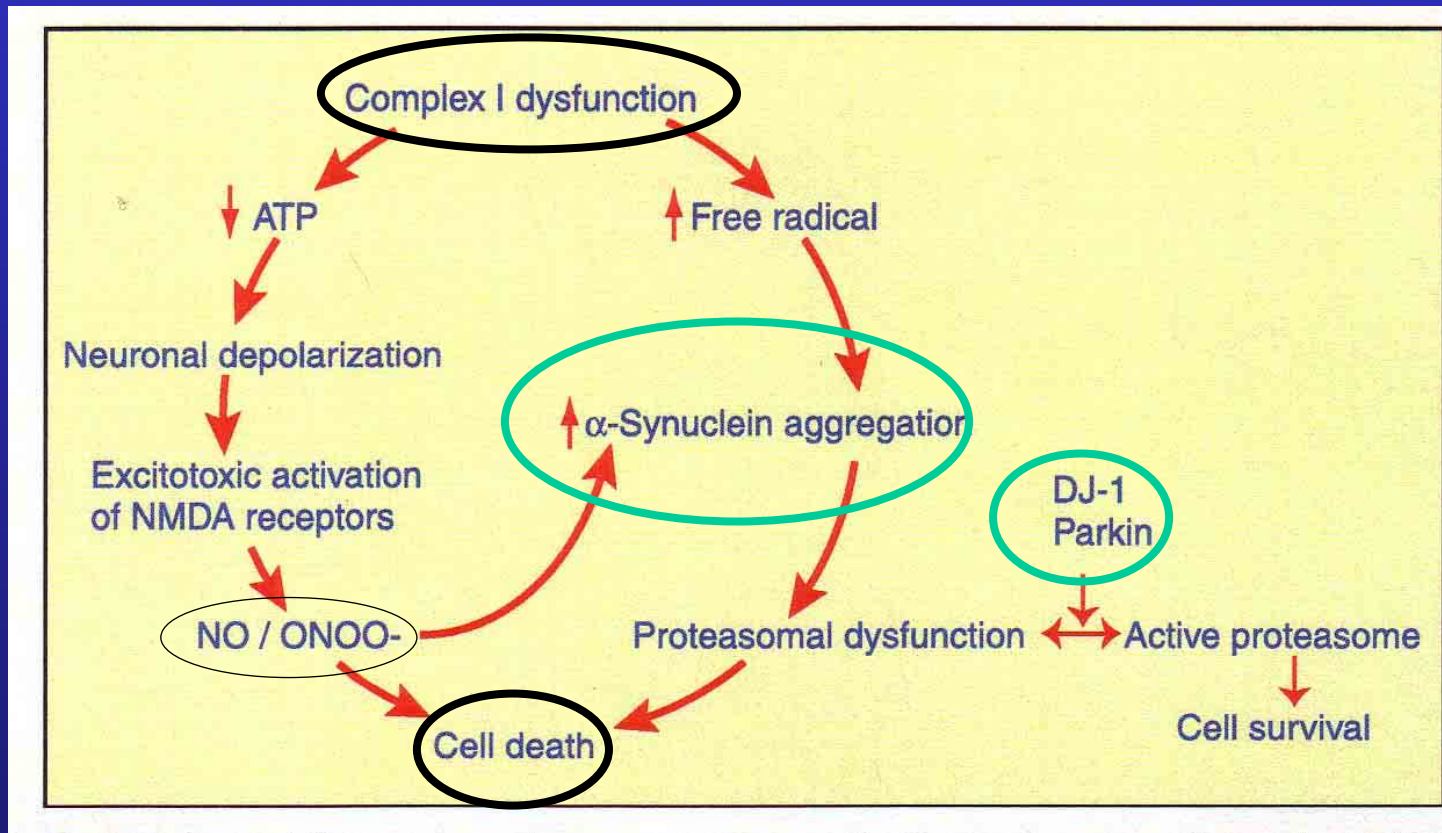
Paraquat

5.Cys-DA es un derivado del metabolismo de DA que inhibe el 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

1. Motoneuronas con **degeneración mitocondrial** masiva
2. Disminuye actividad de cadena respiratoria mitocondrial
3. La **Cu-Zn SOD** esta en citosol y en el **espacio intermembranas mitocondriales**, la SOD podría dañar directamente la mitocondria
4. Activación temprana de vía mitocondrial apoptótica

DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN HUNTINGTON

MODELO DE HUNTINGTON (huntingtin mutada Htt)

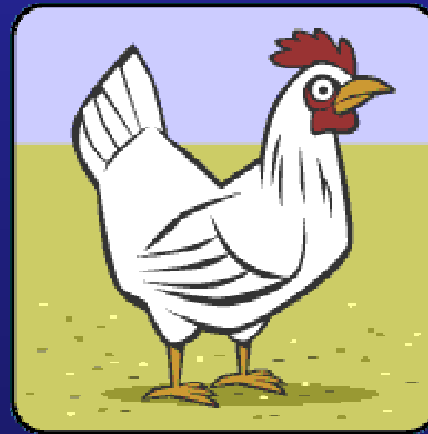
1. Mitocondrias cerebrales tienen un bajo potencial de membrana y tendencia a despolarizarse a bajos niveles de calcio
2. La proteína Htt mutada interacciona con factores de transcripción críticos en el metabolismo energético mitocondrial y en la apoptosis vía mitocondrial

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

QUIEN ES PRIMERO



?



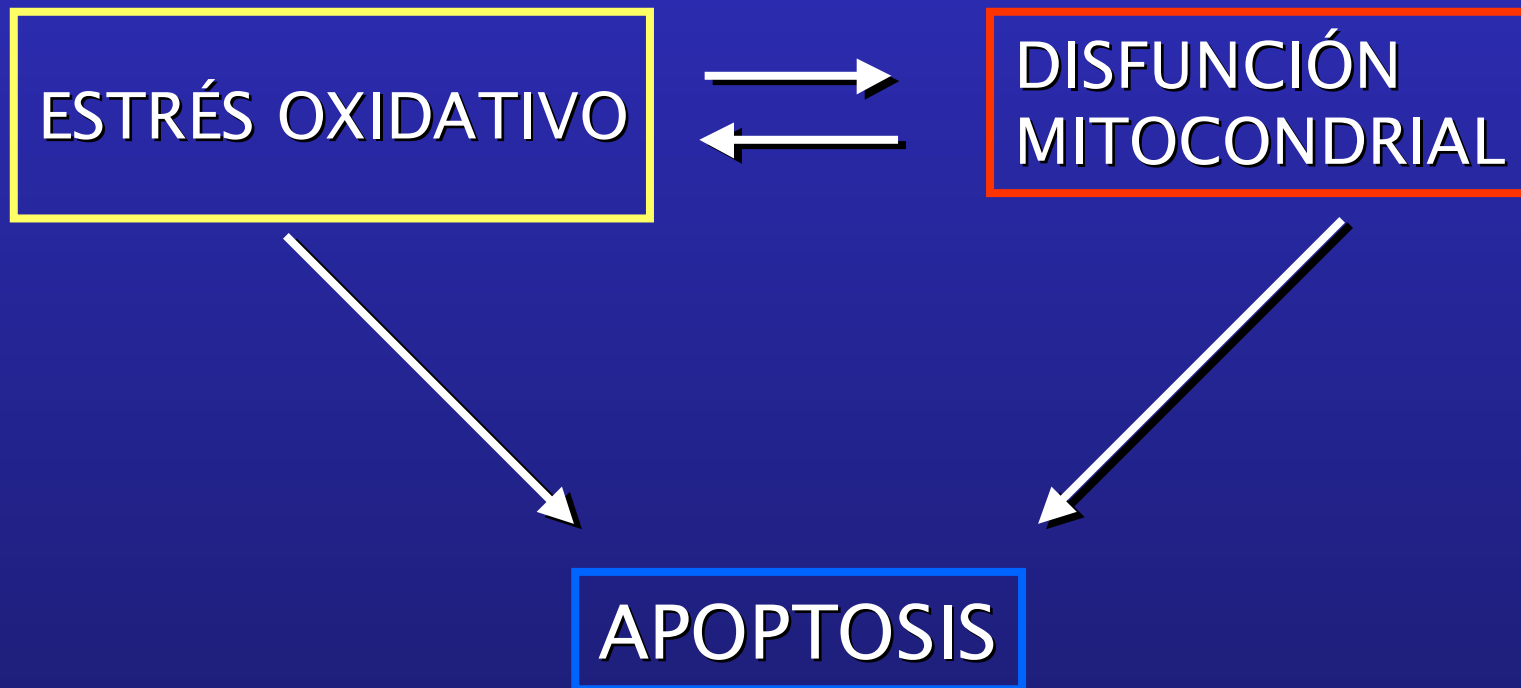
Así que, hasta ahora tenemos que en
Las ENF. NEURODEGENERATIVAS

Hay APOPTOSIS

Y están implicados:

El ESTRÉS OXIDATIVO que aumenta con la edad
La DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL que lleva a
disminución de ATP y aumento de ROS

Y entre ellos hay RELACIÓN...



el siguiente...

**II parte Mecanismos Patogénicos
Moleculares**