

## NUEVAS APROXIMACIONES EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

### NEW APPROACHES FOR PARKINSON'S DISEASE

**Luis Borrego Martín:** Universidad Complutense de Madrid (España)  
[luis.borrego@aol.com](mailto:luis.borrego@aol.com)

#### CURRÍCULUM VITAE

Licenciado en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid (España).

#### RESUMEN

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa con muerte de neuronas dopaminérgicas en el complejo nigroestriatal. El gen parkin parece ser el elemento sobre el que pivota la responsabilidad del Parkinson, aunque se han encontrado alteraciones de éste en el parkinsonismo juvenil. Pero hay otros muchos genes y mutaciones que actúan en el cuerpo humano y provocan esta enfermedad degenerativa o muerte neuronal dopaminérgica.

#### PALABRAS CLAVE

Enfermedad del Parkinson - Genes - Mutaciones

## ABSTRACT

Parkinson's disease is a neurodegenerative disease with death of dopaminergic neurons in the nigrostriatal complex. The parkin gene appears to be the pivot element that Parkinson's responsibility, even if this were changes in juvenile parkinsonism. But there are many genes and mutations that act in the human body and cause degenerative disease or dopaminergic neuronal death.

## KEY WORDS

Parkinson Disease - Gen - Mutations

## ÍNDICE

1. Introducción
2. Cuerpos de Lewy
3. Parkin
4. Pale-R y parkin
5. a-synuclein y parkin
6. Pael-R, a-synuclein y cuerpos de Lewi
7. a-synuclein y cuerpos de Lewy
8. Ciclina E como sustrato de parkin
9. Parkin y mitocondrias
10. Gen DJ-1
11. Quelación de hierro como protección neurotóxica in vivo
12. Bibliografía

**TEXTO:**

## **1. Introducción**

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa con muerte de neuronas dopaminérgicas en el complejo nigroestriatal. Se observan acúmulos intraneuronales de proteínas Pael-R,  $\alpha$ -sinucleína y parkin denominados cuerpos de Lewi, como consecuencia de una degradación proteolítica proteasómica aberrante y estrés oxidativo con disfunción mitocondrial debida, supuestamente, a productos de metabolismo de dopamina. Los casos de origen genético se deben, al menos, a diez loci, habiendo permitido la clonación de algunos de ellos vislumbrar la patotogénesis del proceso. Se ha detectado alteración en el gen parkin. En el Parkinson familiar se han encontrado mutaciones en los genes parkin (normalmente mutación recesiva, de aparición temprana y curso insidioso con síntomas como distonía), DJ-1 y  $\alpha$ -synuclein (mutación dominante que se manifiesta además con otras patologías en otras zonas del SNC como demencia) y, en pocos casos detectados, del gen UCHL-1.

En el parkinsonismo juvenil autonómico recesivo (PJAR) se han encontrado alteraciones del gen parkin, polipéptido con un dominio tipo ubiquitina, dos motivos dedos RING- un tipo de dominio dedos de zinc coordinando 2 átomos de zinc- y un motivo entre dedos RING, estructura que sugiere una actividad E3 ubiquitin ligasa, que actúa conjuntamente con los enzimas E1 ubiquitin activante y E2 ubiquitin conjugante, produciendo especificidad de sustrato en la vía de degradación proteolítica mediante ubiquitinización. Como resultado, hay un fallo en la señalización de moléculas específicas mediante ubiquitina, con acumulación cerebral de una forma rara O-glicosilada de  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -Sp22), de la proteína de unión a  $\alpha$ -sinucleína synphilin-1 (Chung et al., 2001) y de Pael-R. desencadenando muerte neuronal dopaminérgica.

## 2. Cuerpos de Lewy

Al haberse detectado tanto componentes involucrados en los cuerpos de Lewy como independientes de ellos, se desconoce si la neurodegeneración es vía de alteración del metabolismo de los cuerpos Lewy o una vía alternativa. Lo que parece quedar cada vez más claro, a la luz de estudios recientes, es el papel de parkin para proteger las neuronas de un cúmulo de eventos adversos: inhibición proteasómica (pérdida de función de parkin) que conlleva acumulación y toxicidad de  $\alpha$ -synuclein, de Pael R, y excitotoxicidad inducida de kainato.

## 3. Parkin

Parece ser el elemento sobre el que pivota la responsabilidad de la etiopatogenia del Parkinson.

En pacientes de Parkinson idiopático los cuerpos de Lewy se forman probablemente promovidos por parkin –uno de los componentes mayoritarios de dichos cuerpos y uno de los factores implicados en la EP- que puede inducir la ubiquitinación de  $\alpha$ -synucleína. Los cuerpos de Lewy pueden representar un mecanismo para detoxificar proteínas como la mencionada  $\alpha$ -synucleína. Mientras pacientes PJAR muestran síntomas de parkinsonismo idiopático, la mayoría carece de cuerpos de Lewy, por lo que la neurodegeneración mediada por parkin puede deberse a un mecanismo distinto del de la EP idiopática

Sin embargo, parkin es sólo capaz de la unión y ubiquitinación de  $\alpha$ -Syn22, de la synphilin-1 (Chung et al., 2001) y de Pael-R. En cultivos celulares la formación de inclusiones tipo cuerpos de Lewy es dependiente en un  $\alpha$ -synuclein, synphilin-1 y la expresión de parkin (Chung et al., 2001).

Parkin interacciona específicamente con Cul-1 y hSc110 conocidos por formar complejos multiproteicos SCF que participan de la actividad E3 ligasa aunque no se sabe si esta interacción es necesaria in vivo para su actividad.

Otra de las dianas de parkin es el homólogo de septina de mamíferos cdc rel-1, asociado a sinapsis.

#### **4. Pael-R y parkin**

Pael-R (Zhang et al., 2000; Imai et al., 2001) es un receptor acoplado a proteína G. En cultivos celulares la sobreexpresión de Pael-R induce la expresión de parkin y de la chaperona de retículo endoplásmico BiP (GRP78) y aumenta la muerte celular. Una gran parte de la proteína Pael-R sobreexpresada se ubiquitina y acumula en una forma insoluble en el retículo endoplásmico (RE), sugiriendo que la muerte neuronal es el resultado de estrés por no plegamiento de la de la proteína. La cosobreexpresión de parkin y Pael-R lleva a ubiquitination y degradación aumentada de Pael R y disminuye la toxicidad de Pael R, lo que sugiere que Pael-R puede ser el sustrato in vivo de parkin y esa acumulación de Pael R, por pérdida de función de parkin, es responsable de la muerte de la neurona en PJAR.

Para investigar la toxicidad de Pael R en neuronas dopaminérgicas y el papel posible de parkin como mediador de toxicidad de Pael R, Yang (2003) utilizó *Drosophila* transgénica para expresar en su cerebro Pael R humano bajo condiciones de la actividad alterada de parkin, a fin de simular una situación patológica compatible con la humana, generando en el cerebro de *Drosophila* degeneración dependiente de la edad de neuronas dopaminérgicas sin, perceptiblemente, alterar otros tipos neuronales. La pérdida mediada por Pael-R de neuronas dopaminérgicas fue atenuada por coexpresión de parkin humano y exacerbado inhibiendo la actividad de parkin endógena de mosca mediante interferencia de RNA. La inactivación

parcial mediante interferencia de RNA de parkin de *Drosophila* demostró no tener efecto en las neuronas dopaminérgicas en la ausencia de Pael R, indicando que la pérdida de células mediada por RNAi resulta de la toxicidad aumentada de Pael-R.

## 5. a-synuclein y parkin

La neurotoxicidad de mutantes de a-synuclein parece debida a la formación más rápida de oligómeros y protofibrillas que el fenotipo salvaje.

Utilizando un cultivo celular de cerebro de ratón, Petrucelli et al demostraron que la muerte neuronal específicamente catecolaminérgica podría ser inducida por la adición de inhibidores de proteasoma o modificando células con un a-synuclein mutante presente en EP familiar, sugiriendo que estas células son especialmente sensibles a la disfunción del proteasoma y toxicidad del a-synuclein. A semejanza del modelo de *Drosophila* de Yang et al con Pael-R y parkin, la expresión aumentada de parkin humano salvaje en estas células, pero no un parkin mutante inactivado, revertía la toxicidad derivada de la inhibición proteasómica o de la expresión de la a-synuclein aberrante humano.

Iguales resultados fueron obtenidos por Yang et al. en *Drosophila*, en el que la muerte neuronal dopaminérgica, que resulta de la expresión ectópica de a-synuclein humano (Feany , 2000), podría ser mitigado por cosobreexpresión de parkin humano -que interacciona específicamente- pero no por cosobreexpresión de la proteína fluorescente verde GFP. La pérdida de neuronas dopaminérgicas en PJAR es por lo menos en parte por toxicidad de a-synuclein.

## 6. Pael-R, a-synuclein y cuerpos de Lewi

La atenuación de la toxicidad de Pael-R y a-synuclein por parkin se ha estudiado en cultivos neuronales dopaminérgicos y secciones cerebrales de *Drosophila* por Yang et al. que expresaban Pael-R o a-synuclein solos, o en combinación con parkin humano.

En ambos casos se ha visto una reducción en la cantidad de Pael-R en muchas (pero no todas) las neuronas coexpresando parkin y Pael-R después de seis días respecto a las coexpresantes a menos días y a las neuronas control que sólo expresaban Pael-R, mediando la toxicidad de Pael-R su degradación específica por parkin

a-synuclein, sin embargo, no se vio directamente disminuida en su coexpresión con parkin pero sí las estructuras granulares compatibles con a-synuclein y las estructuras tipo cuerpos de Lewy ubiquitin positivas neuríticas de moscas que expresaban sólo a-synuclein sobre la cual parece que actúa también específicamente parkin.

Pael R es selectivamente tóxico para neuronas de dopaminérgic. Esta toxicidad y la de a-synuclein es disminuida por parkin.

## 7. a-synuclein y cuerpos de Lewy

En la EP idiopática hay cuerpos de Lewy con a-synuclein, lo que es compatible con el estudio de Yang et al en el que la sobreexpresión de parkin suprime la formación de cuerpos Lewy pero parece contrario a hallazgos en individuos de ARJP, donde la pérdida de la función de parkin se asocia, generalmente, con una ausencia de cuerpos de Lewy. Y si se supone que esas inclusiones del cuerpo de Lewy son tóxicas, parece contradictoria la ausencia de estas inclusiones en la mayoría de los

individuos de PJAR. Quizá los niveles bajos de la actividad de parkin son suficientes para formar cuerpos de Lewy y los niveles más altos de la actividad de parkin evitan simplemente su formación por destrucción de la  $\alpha$ -synuclein aberrante.

## 8. Ciclina E como sustrato de parkin

La ciclina E y su kinasa cdk2 son reguladores clave de la transición G1/S durante el ciclo de la célula. La ciclina E es sustrato de SCF y también es ubiquitinado in vitro por el complejo parkin-Cul1.

La sobreexpresión de parkin –con una paralela disminución de la cantidad de ciclina E- parece proteger de la muerte de neuronas dopaminérgicas inducida por excitotoxinas como kainato. Por el contrario, reduciendo los niveles de parkin mediante interferencia de RNA se sensibilizan frente a excitotoxinas como kainato, pero con menos toxicidad y por una vía independiente para un tóxico dopaminérgico como MPP+. La elevación de cyclin E y marcadores relacionados del ciclo de la célula es característico en isquemia y modelos de daño neuronal in vivo, como es la expresión de parkin. Elevación que se desconoce si forma parte de apoptosis o de una activación del ciclo celular, pero que en cualquier caso forma parte de la muerte celular. Paradójicamente, in vivo la ciclina E aumenta en cerebros de pacientes de Parkinson esporádico y no en Alzheimer, aunque postmortem la situación se invierte.

En este respecto, los autores ven un aumento en niveles de ciclina E en cerebros de pacientes con la enfermedad esporádica de Parkinson, pero no en enfermedad de Alzheimer, porque la acumulación de proteínas de ciclo de célula es un hecho prominente del tejido de cerebro de postmortem de pacientes con la enfermedad de Alzheimer, pero no de pacientes con la enfermedad de Parkinson (Hussernan et al., 2000).

## 9. Parkin y mitocondrias

Parkin podría anclarse en la membrana mitocondrial externa y su pérdida desencadenar disfunción mitocondrial. La neuroprotección frente a neurotóxicos, al menos en parte, de parkin podría deberse al retraso en el hinchamiento mitocondrial y consiguiente liberación de citocromo característico apoptóticos.

## 10. Gen DJ-1

DJ-1 codifica un producto polivalente con varias interacciones conocidas proteína-proteína y efectos en la expresión de genes. DJ-1 tiene siete exones y codifica una proteína de 20 kDa de 189 aminoácidos. Se da en pocos casos. Los heterocigotos parecen no ser afectados, mientras homocigotos tienen la enfermedad. Esta segregación de dos mutaciones diferentes sostiene la contienda sobre su patogenia. El parkinson asociado es de comienzo temprano, con síntomas típicos de parkinsonismo, el curso prolongado y la respuesta buena a L-DOPA. Aparece pérdida de sustancia nigra.

DJ-1 también afecta a la expresión génica por interacción proteína-proteína con PIASxα que interactúa con el receptor de andrógenos inhibiendo la expresión génica. PIASxα es un enzima tipo E3 ubiquitina ligasa que añade SUMO-1 a las proteínas diana, entre ellas la misma PIASxα.

Posiblemente DJ-1 produzca respuesta a estrés oxidativo, tamponando los cambios redox citosólicos y/o modulando la expresión génica. La alteración de DJ-1 puede producir estrés oxidativo, tal como producen los inhibidores del complejo I de mitocondrias MPTP (conlleva disminución de Glutathion reducido GSH) y rotenona, o a-synuclein, que también es sustrato de modificaciones oxidativas como nitrosilación.

La ubiquitinación parece que está implicada en la formación de sinapsis, desarrollo y orientación axonal mientras la sumoilación por DJ-1 modula la actividad neuronal vía CAMKII (proteín kinasa dependiente de Ca-calmodulina, revelando el vínculo entre homeostasis del calcio y neurotoxicidad).

## **11. Quelación de hierro como protección neurotóxica in vivo**

La acumulación de Fe cerebral asociado con la producción de especies reactivas de oxígeno (radicales libres como el anión peróxido) es parte del proceso de envejecimiento normal, sobre todo de los ganglios basales, en los que, conjuntamente, la ausencia en neuronas dopaminérgicas de ferritina parece hacerlas susceptibles a estrés oxidativo

Los estudios en cerebros postmortem de pacientes de Parkinson revelan hierro elevado en la sustancia nigra en los cuerpos de Lewy. La muerte selectiva de la célula en esta región de cerebro se asocia con el estrés oxidativo, que puede ser exacerbado por la presencia de hierro de exceso como catalizante. Los niveles de Fe libre se han encontrado altos en dos mutaciones genéticas en la que la ferritina pierde afinidad por el mismo.

Los niveles de hierro de la sustancia nigra son altos en la EP. La reducción en el hierro reactivo por medios genéticos o farmacológicos parece proteger contra neurotóxicos como MPTP, sugiriendo que la quelación de Fe puede ser una terapia efectiva para la prevención y el tratamiento de la enfermedad. Se encuentra en fase clínica II CQ como tratamiento de la EP suplementado con vitamina B12.

## 12. Bibliografía

Parkin: A Multipurpose Neuroprotective Agent?. Mel B. Feany and Leo J. Pallank et al. *Neuron*, Vol. 38,13-16,10 abril 2003.

Pathways to Parkinsonism. Mark R. Cookson et al. *Neuron* Vol. 37, 7-10, 9 enero,2003.. *Neuron*, Vol. 36, 1007-1019, 19 diciembre 2003.

Genetic or Pharmacological Iron Chelation Prevents MPTP-Induced Neurotoxicity In Vivo: A Novel Therapy for Parkinson's Disease. *Neuron* Vol. 37, 899-909,27 marzo, 2003.

Parkin Protects against the Toxicity Associated with Mutant  $\alpha$ -synuclein: Proteasome Dysfunction Selectively Affects Catecholaminergic Neurons.