

Mecanismos fisiopatológicos involucrados en la enfermedad de Parkinson

Margarita Gómez-Chavarín^{1,5}, G. Roldan-Roldan¹, R. Morales-Espinosa², G. Pérez-Soto³,
C. Torner-Aguilar^{4,5}

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson es una condición neurológica devastadora que afecta a millones de persona en el mundo; su característica fisiopatológica es la pérdida de las neuronas dopaminérgicas en el mesencéfalo. Se han buscado las causas posibles de ésta enfermedad y se ha encontrado una diversidad que incluye mutaciones genéticas y toxinas ambientales, pero la causa precisa que conduce a la muerte neuronal aún se desconoce. En la actualidad se han caracterizado algunos mecanismos patogénicos que son básicos para la degeneración de las células dopaminérgicas. Principalmente, la deficiencia en el almacenamiento de la dopamina en las vesículas sinápticas deriva en la generación en el citoplasma de radicales libres y especies reactivas del oxígeno, lo que parece ser el punto de inicio en el proceso de la muerte de estas neuronas, lo que eventualmente progresará a enfermedad de Parkinson. Esto parece ser la vía fisiopatológica común que subyace tanto a las formas genéticas como esporádicas de esta enfermedad.

Palabras claves: enfermedad de Parkinson, dopamina, estrés oxidativo, α -sinucleína, sistema proteosómico de ubiquitina.

Physiopathological mechanisms of Parkinson's disease

ABSTRACT

Parkinson's disease is a progressive neurological condition that affects millions of people in the world. Its pathophysiological feature is the loss of the dopaminergic neurons in the midbrain. The possible causes of this disease are diverse and that includes genetic mutations and environmental toxins, but the exact cause leading to the neuronal death remains unknown. Some pathogenic mechanisms that are basic to the degeneration of the dopaminergic cells has been characterized, and the evidence is presented and discussed in this work. Briefly, the deficiency in the dopamine storing into the synaptic vesicles leads to its uncontrolled metabolism, generating free radicals and reactive oxygen species in the cytoplasm. This seems to be the kick off of the processes for annihilating these neurons, and eventually progressing to a Parkinson's disease. This seems to be the common pathophysiological pathway underlining both, the genetic and the sporadic forms of the disease.

Key words: Parkinson's disease, dopamine, oxidative stress, α -synuclein, ubiquitin proteasome system.

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno crónico y progresivo, que se manifiesta por una combinación variable de temblor, rigidez, bradicinesia y una alteración característica de la marcha y postura¹. La característica patológica de esta enfermedad es la pérdida pronunciada de neuronas productoras de dopamina que se

localizan en la *substantia nigra pars compacta* (SNpc); estas células normalmente liberan dopamina en sus terminales axónicas en el cuerpo estriado y forman parte del sistema extrapiramidal de regulación motora, por lo mismo, su pérdida se traduce en los trastornos del movimiento antes descritos.

El desarrollo de la forma idiopática de la EP se ha asociado con la exposición a factores ambientales, aunque también hay formas familiares o hereditarias; en estos casos la enfermedad se ha asociado a mutaciones en los genes que codifican para proteínas como α -sinucleína y parkina¹. En los pacientes que carecen de una clara carga genética los mecanismos patogénicos son difíciles de entender, debido a la variedad de factores que participan, entre los que están toxinas ambientales, estrés oxidativo y disfunción mitocondrial². Sin embargo, la ruta final común de los mecanismos patógenos que deterioran a las neuronas de la *substancia nigra* es la muerte neuronal, proceso en el que participa de manera importante el estrés oxidativo dependiente de la dopamina.

Esta revisión explora algunos mecanismos fisiopatológicos involucrados en la neurodegeneración de las células dopaminérgicas, la cual se acompaña en la EP de la agregación de proteínas en las neuronas de la *substancia nigra*, que conforman los cuerpos de Lewy³. Los cuerpos de Lewy aparecen en fases tempranas de la EP, son agregados de la proteína α -sinucleína principalmente, aunque también se han encontrado el estriado de ratas tras la administración de 6-hidroxidopamina (6-OHDA), neurotóxina que induce estrés oxidativo, aumento en la actividad de células gliales, y degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la *substancia nigra*, para producir un modelo de EP en rata⁴.

En algunas formas familiares de la EP se han encontrado proteínas mutantes, en particular en la proteína α -sinucleína; la pérdida de la función normal de esta proteína, aunada al efecto tóxico de sus formas alteradas, favorece la acumulación de dopamina en los sitios donde se sintetiza y acumula, como son el citoplasma y terminales nigroestriales, donde inician cambios neurodegenerativos en los sujetos con EP.

La mutación de las proteínas parkina y ubiquitina C-terminal hidrolasa L1 (UCHL1) también se relaciona con una forma hereditaria de EP; las mutaciones en los genes que codifican para éstas proteínas originan la acumulación de dopamina en el citoplasma, y disminuyen la eliminación de las formas tóxicas de la α -sinucleína; ambas mutaciones favorecen la formación de poros en las vesículas sinápticas, lo que incrementa la salida de dopamina al citoplasma, e inhiben el reciclado de éstas vesículas, y estos eventos aumentan la acumulación de dopamina libre en el citoplasma. La mutación de estas proteínas afecta el adecuado funcionamiento de las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal y provocan la muerte de éstas neuronas^{5,6}.

El metabolismo de la dopamina

En condiciones de pH normal, las neuronas dopaminérgicas se exponen a estrés oxidativo por el metabolismo propio de la dopamina, que produce varias

moléculas que actúan como neurotoxinas endógenas tales como: la dopamina-quinona, los radicales superóxido, y el peróxido de hidrógeno (FIG. 1)⁷. Alternativamente, la dopamina puede desaminarse por la enzima monoamino oxidasa (MAO) produciendo ácido 3,4-hidroxifenilacético (DOPAC) y peróxido de hidrógeno⁸. El superóxido no es una molécula altamente reactiva, pero al convertirse en peróxido de hidrógeno por acción de la superóxido dismutasa (SOD), o en radicales peroxinitritos lábiles en presencia de óxido nítrico, se vuelve altamente reactivo. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es relativamente inocuo, pero por una reacción catalizada por hierro (Fe^{2+}) se producen radicales hidroxilo altamente citotóxicos. Cabe mencionar que en la *substancia nigra* la concentración de Fe^{2+} siempre es más alta que en otras regiones del cerebro, lo que puede facilitar el desarrollo y establecimiento de la EP si la reacción entre el H_2O_2 y el Fe^{2+} estuviese aumentada.

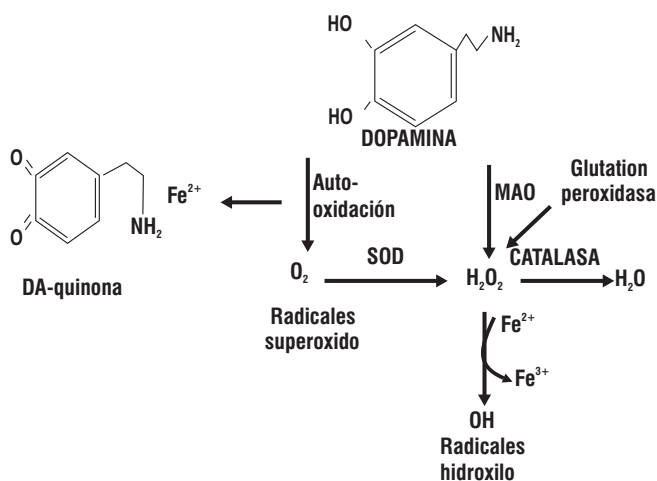


Figura 1. Generación de estrés oxidativo por el metabolismo de la dopamina, y su participación en el proceso neurodegenerativo. En las neuronas dopaminérgicas el metabolismo de la DA puede ocurrir espontáneamente por auto-oxidación o puede ser catalizada por la monoaminoxidasa (MAO), ambas reacciones generan peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El H_2O_2 por sí sólo no daña a la neurona, aunque induce citotoxicidad al formar radicales libres hidroxilo. A su vez, la DA-quinona y los radicales súperóxido también son citotóxicos.

Las especies reactivas de oxígeno generadas por metabolismo de la dopamina originan alteraciones en las funciones de las proteínas del DNA, y de algunos lípidos de

Recibido: 16 junio 2011. Aceptado: 11 enero 2012.

¹Departamento de Fisiología, ²Departamento de Microbiología y Parasitología, ³Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina UNAM. ⁴División Atención a la Salud. Laboratorio de Neurociencias, ⁵Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas UAM-Xochimilco. Correspondencia: Margarita Gómez-Chavarín. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Edificio A de Investigación 5^o piso. E-mail: chavarin@servidor.unam.mx

la neurona. Una consecuencia inmediata del daño en los lípidos es la pérdida de la integridad membranal, lo que modifica la permeabilidad iónica, lo cual puede perturbar las propiedades eléctricas de la membrana, facilitando la toxicidad⁹.

Por todo lo anteriormente expuesto es imperativo que la dopamina sea inocua para la neurona, y esto se logra almacenándola rápidamente dentro de las vesículas sinápticas, donde gracias al pH bajo y ausencia de la MAO, se tienen las condiciones adecuadas para mantener estable a la dopamina. El secuestro de dopamina por las vesículas sinápticas es el principal mecanismo por el cual las neuronas de la *substancia nigra* se protegen de los efectos dañinos de su oxidación (figura 2).

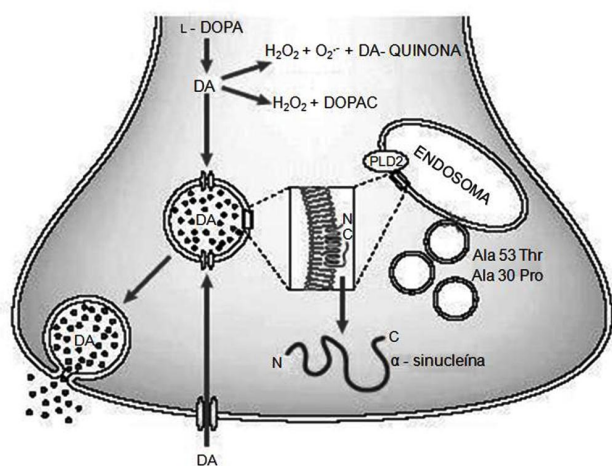


Figura 2. α-sinucleína y el almacenaje intravesicular de la dopamina. Esquema de una terminal presináptica de una neurona dopaminérgica, en la que es posible observar la función de la α-sinucleína en el almacenaje de la dopamina (DA). Una vez sintetizada, la DA es secuestrada en las vesículas. En los casos en los que es deficiente el secuestro, la DA se oxida y forma en el citoplasma peróxido de hidrogeno (H₂O₂), radicales súperoxido (O₂⁻) y DA-quinona, que son productos altamente citotóxicos. El 50% de la α-sinucleína se encuentra asociada a la membrana presináptica, y el resto se une a la membrana fosfolipídica de las vesículas donde modifica su estructura secundaria en α-hélice.

Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una condición dañina para las neuronas dopaminérgicas, y resulta de la eliminación deficiente de las especies reactivas de oxígeno que se generan por las reacciones relacionadas con la dopamina.

Normalmente las especies reactivas son eliminadas por sistemas antioxidantes intracelulares, sin embargo, como resultado del proceso normal de envejecimiento, o por alguna alteración patológica, estos mecanismos se encuentran dañados. En los organismos senescentes la actividad del glutatión se encuentra reducida¹⁰, lo que aumenta los carbonilos de las proteínas en todos los tejidos, incluyendo al cerebro; adicionalmente, el daño oxidativo del

DNA mitocondrial aumenta más de 15 veces en comparación con el DNA nuclear, lo que se atribuye a fallas en la capacidad del glutatión para eliminar los radicales libres, condición que se aumenta proporcionalmente al incremento de la edad.

En la enfermedad de Parkinson las células de la *substancia nigra* parecen estar en un elevado estado de estrés oxidativo, lo que se deduce por el aumento en productos de la oxidación de lípidos, proteínas y DNA; sin embargo, es posible que este aumento sea compensado por el incremento en la actividad de los sistemas antioxidantes¹¹⁻¹⁵ (tabla 1).

Tabla 1. Todos los valores son el porcentaje del índice evaluado, comparados (primera columna) con pacientes sanos en edad adulta. La peroxidación de lípidos se evaluó midiendo las concentraciones de malondialdehído, la oxidación de proteínas midiendo el contenido de los carbonilos de proteínas y la oxidación de DNA midiendo los niveles de 8-hidroxiguanina.

Evidencia de daño por estrés oxidativo en la enfermedad de Parkinson		
Índice evaluado	Región cerebral	Porcentaje
Concentración total de hierro ¹¹	Substancia negra	129%
	Corteza	100%
Superoxido dismutasa ¹²	Substancia negra	133%
	Cerebelo	95%
Peroxidación de lípidos ¹³	Substancia negra	135%
	Corteza	94%
Oxidación de proteínas ¹⁴	Substancia negra	220%
	Corteza prefrontal	100%
Oxidación de DNA ¹⁵	Substancia negra	238%
	Cerebelo	110%

En la *substancia nigra* de pacientes parkinsonicos es posible detectar las alteraciones oxidativas utilizando diferentes marcadores como el malondialdehído, el cual se encuentra aumentado hasta diez veces más de su valor normal. La concentración de 4-hidroxinonenal (que indica la oxidación de lípidos), se encuentra incrementada en un 58% de las neuronas sobrevivientes en comparación con el 9% encontrado en individuos sanos. La 8-hidroxiguanosina (producto de la oxidación de RNA y DNA) se encuentra marcadamente aumentada en las neuronas¹¹⁻¹⁷, y los niveles de carbonilos de proteínas (utilizados para detectar oxidación de proteínas) se encuentran incrementados en la *substancia nigra* más del doble en comparación con otras regiones del cerebro^{15,18}.

Adicionalmente, el glutatión (co-sustrato para la detoxificación del peróxido de hidrógeno por las enzimas glutatión peroxidasa y la catalasa) se encuentra marcadamente disminuido en la EP¹⁹, mientras que la actividad de la súperoxido dismutasa se incrementa²⁰. Por último, la concentración de Fe²⁺ que en condiciones norma-

les es alto en las neuronas de la *substancia nigra* en comparación con otras regiones de cerebro, se encuentra aun más elevado en pacientes con EP^{13,17}.

Las anomalías genéticas y la exposición a tóxicos ambientales favorecen el estrés oxidativo, lo que puede dañar específicamente a las neuronas dopaminérgicas de la *substancia nigra*. En condiciones experimentales en ratas, se ha probado que el eliminar antioxidantes como la vitamina E en la dieta induce la pérdida del 33% de neuronas dopaminérgicas en la *substancia nigra*, mientras que otras regiones cerebrales permanecen sin alteraciones²¹. Adicionalmente, el alto potencial de oxidación del propio metabolismo de la noradrenalina y la serotonina aumentan el estrés oxidativo en los pacientes afectados por la EP, lo que explica el daño encontrado en el *locus coeruleus* y los núcleos del *rafe*, regiones en donde se sintetizan ambos neurotransmisores, respectivamente²¹.

Existen evidencias que muestran la participación del estrés oxidativo en la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la EP, provienen de estudios en los que se utilizó la administración en ratas de la neurotóxica inductora de parkinsonismo: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), la cual induce una pérdida neuronal en la *substancia nigra* y síntomas similares a los de la enfermedad de Parkinson²². El metabolito del MPTP, el 1-metil-4-fenilpiridio (MPP⁺), penetra a la terminal dopaminérgica a través del transportador de dopamina (DAT) de la membrana plasmática, y bloquea el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, y posteriormente se une con alta afinidad al transportador 2 de las vesículas de monoaminas (VMAT2)²³, de modo que dentro de éstas células reduce el ATP de las pozas intracelulares²⁴, redistribuye a la dopamina en el citoplasma, y promueve el estrés oxidativo dependiente de dopamina. Algunos compuestos antioxidantes pueden rescatar a las neuronas dopaminérgicas de los efectos tóxicos del MPP⁺ y disminuir la muerte celular, sugiriendo que el mecanismo principal por el que el MPP⁺ induce tal muerte es por estrés oxidativo. Las anfetaminas que son transportadas por el DAT²⁵ también favorecen la acumulación de dopamina en las terminales, porque inhiben la fuerza protónica necesaria para capturar la dopamina en las vesículas²⁶. Al igual que el MPP⁺, las anfetaminas y sus derivados producen degeneración de neuronas dopaminérgicas *in vivo*²⁷, aunque su toxicidad podría atenuarse al inducir la liberación de dopamina por las vesículas sinápticas, o por el tratamiento con antioxidantes²⁸.

Los pesticidas como la rotenona^{29,30} o paraquat^{31,32} producen degeneración selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la *substancia nigra* en roedores; algunos estudios han encontrado una asociación positiva entre la exposición a pesticidas y la EP. La rotenona, el MPP⁺ y el paraquat se caracterizan por inhibir el complejo I de la ca-

dena de transporte de electrones²⁹⁻³¹; el paraquat y el MPP⁺ son transportadas por VMAT2, por lo que ambas neurotoxinas alteran el almacenamiento de la dopamina en las vesículas sinápticas, y consecuentemente aumentan la concentración de dopamina en el citoplasma³¹, mientras que la alta liposolubilidad de la rotenona le permite cruzar libremente la membrana celular.

Los cuerpos de Lewy y la vía proteosómica de la ubiquitina (VPU)

Los cuerpos de Lewy son inclusiones eosinófilas que se encuentran entre las células de la *substancia nigra* de pacientes diagnosticados con parkinsonismo³³; estos se habían considerado marcadores patológicos de la enfermedad de Parkinson, pero fueron desestimados al encontrarse en otras áreas cerebrales por el envejecimiento normal, además de en cerebros de pacientes con enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y demencia con cuerpos de Lewy (DCL)^{33,34}. Un componente importante de los cuerpos de Lewy son los filamentos de α -sinucleína, que es una de proteína de la que hasta ahora no se tienen bien definidas sus funciones.

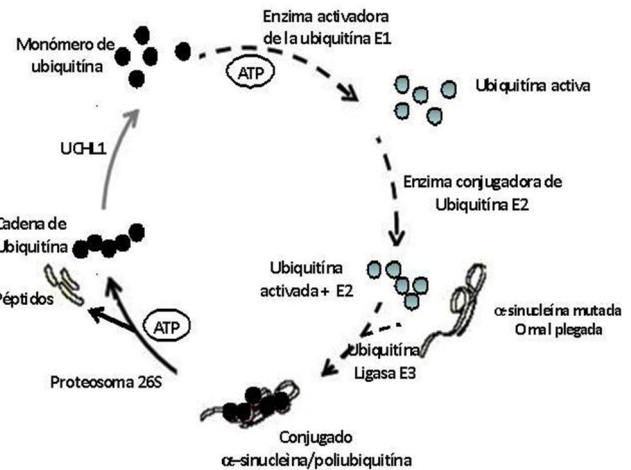


Figura 3. Degradación de α -sinucleína por la vía proteosómica de ubiquitina. Esta vía regula la concentración de las proteínas intracelulares mediante un proceso cíclico, en donde múltiples moléculas de ubiquitina activadas se conjugan con una proteína, y una vez dentro del proteosoma 26S, la proteína será desdoblada en péptidos y cadenas de ubiquitina, estas últimas serán recicladas hacia monómeros de ubiquitina, para ser nuevamente activadas y reiniciar su unión a otras proteínas que requieran ser degradadas. En la enfermedad de Parkinson es posible que existan deficiencias en varios componentes de esta vía, que pueden ser en: proteínas dañadas, mal plegadas o mutadas (ej. α -sinucleína), en la ubiquitina ligasa (E3) y en la ubiquitina C-terminal hidrolasa (UCHL1), estas alteraciones son componentes importantes en el desarrollo de los procesos neurodegenerativos, e indican que el deterioro en la eliminación adecuada de las proteínas dañadas es determinante para el desarrollo y progreso de la enfermedad.

Tres genes han sido asociados con la enfermedad de Parkinson e implicados en la formación de los cuerpos de Lewy: *PARK1*, *PARK2* y *PARK5*, estos genes codifican para la síntesis de las proteínas: α -sinucleína^{35,36}, parkina³⁷ y la hidrolasa C-terminal de ubiquitina L1 (UCHL1)³⁸, respectivamente; estas dos últimas proteínas participan en el sistema proteosómico de la ubiquitina encargado de regular la concentración de las proteínas en las células (figura 3).

En el gen *PARK1* se identificaron dos mutaciones antisentido: Ala53Thr y Ala30Pro, en miembros de una familia Europea^{35,36}, las mutaciones en este gen producen enfermedad de Parkinson autosómica dominante, que se inicia en promedio a los 46 años de edad. El gen *PARK2* codifica para la enzima parkina, una ligasa de la ubiquitina E3 que participa en la degradación de proteínas dañadas o mal plegadas en la vía proteosómica de la ubiquitina (VPU)^{37,38}. Varias mutaciones en *PARK2* también se han asociado con la enfermedad de Parkinson autosómica recesiva, con una edad promedio de 28 años al inicio de la enfermedad³⁷, y finalmente *PARK5* que codifica para la enzima UCHL1, que también participa en la VPU durante el reciclado de moléculas de ubiquitina que se encuentran unidas a los carbonilos terminales de proteínas ubiquitinadas; sin embargo, a la fecha sólo se han reportado dos pacientes con enfermedad de Parkinson autosómica dominante a los que se les ha identificado una mutación puntual en *PARK5*.

Pero aún se desconoce cómo están relacionadas las mutaciones de los tres genes en el desarrollo de los cuerpos de Lewy, y cómo se asocian con el estrés oxidativo.

Mecanismos participantes en la formación de los cuerpos de Lewy

Los cuerpos de Lewy contienen filamentos de α -sinucleína³³ que tienen 200-600 nm de largo y 5-10 nm de diámetro³⁹. Aunque también contienen otras proteínas como ubiquitina³⁹, subunidades del proteosóma⁴⁰, proteínas de choque térmico⁴¹ y neurofilamentos⁴². En condiciones normales la α -sinucleína se encuentra en su forma nativa no plegada, el aumento en sus concentraciones favorece la formación de oligómeros en forma de placas β llamadas protofibrillas, que al sedimentar forman fibras amiloides dentro de los cuerpos de Lewy. Las mutaciones Ala53Thr y Ala30Pro en el gen *PARK1* aumentan la tendencia de la α -sinucleína para formar protofibrillas⁴³ las cuales generan citotoxicidad⁴⁴, indicando que los cuerpos de Lewy son estructuras dañinas para las neuronas⁴⁵⁻⁴⁹.

Sin embargo, se ha propuesto que las neuronas que presentan cuerpos de Lewy son aquellas que tratan de evadir el mecanismo tóxico involucrado en las enfermedades neurodegenerativas como el parkinson. La habilidad de los cuerpos de Lewy para secuestrar proteínas que han adop-

tado formas fibrilares potencialmente citotóxicas podría ser inicialmente benéfica para las neuronas dopaminérgicas, pero es difícil imaginar que estas inclusiones no contribuyan a la pérdida de funciones celulares una vez que hayan aumentado su volumen dentro del soma celular. El aumento en la concentración de α -sinucleína también incrementa la probabilidad de la formación de fibrillas hasta generar un colapso de estas proteínas, alterando sus funciones y favoreciendo su toxicidad⁵⁰.

La formación de moléculas de dopamina-quinona por la auto-oxidación de dopamina provoca el cambio de la estructura protofibrilar de la α -sinucleína, que junto con el aumento de la concentración de dopamina en el citoplasma exacerbaban el daño celular⁵¹. Adicionalmente, los filamentos de α -sinucleína alteran la integridad de la membrana de las vesículas sinápticas en donde forman poros. La formación de estos poros se favorece por las mutaciones Ala53Thr y Ala30Pro en el gen *PARK1*^{52,53}, y por efectos del estrés oxidativo se estimula tanto el plegamiento como la agregación de la α -sinucleína en el citoplasma, ambos eventos aumentan la salida de la dopamina de las vesículas⁵⁴. De tal manera que la α -sinucleína mutada produce directamente la acumulación de dopamina en el citoplasma, con los resultados tóxicos ya mencionados.

Mutaciones en los genes PARK2 y PARK5 y la función de la α -sinucleína

Las proteínas productos de los genes *PARK2* y *PARK5* están involucradas en la vía de ubiquitinación de proteínas (VPU) o proteosóma; en condiciones normales, las proteínas mal plegadas o dañadas por la acción de los radicales libres son degradadas por el proteosóma⁵⁵. La degradación de la α -sinucleína se inicia con su ubiquitinación y su unión a la enzima E1 activadora de la ubiquitina, ésta enzima transfiere la ubiquitina activada a un enzima conjugadora E2, y con la ligasa E3 o parkina transfiere moléculas de ubiquitina activadas a la α -sinucleína⁵⁶. Múltiples moléculas de ubiquitina se unen a la α -sinucleína antes de que se transfiera al proteosóma 26S encargado de cortar a la proteína, finalmente la UCHL1 recicla las moléculas de ubiquitina para reutilizarlas en el proteosóma (figura 3).

La enfermedad de Parkinson relacionada con la mutación en el gen *PARK2*, se presenta de una manera autosómica recesiva⁵⁷, y muestra pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *sustancia nigra* atribuida a la disfuncionalidad de las proteínas del proteosóma: la parkina o E1 y el UCHL1⁵⁸⁻⁶¹.

La parkina ubiquitinada promueve la degradación de la proteína CDCREL1, es la encargada de regular el recambio de las vesículas sinápticas, lo que indica que la ubiquitinación de proteínas modula la disponibilidad y la

función de las proteínas sinápticas. La mutación en la proteína UCHL1 hace deficiente el reuso de la ubiquitina al disminuir la actividad del proteosoma e incrementar el plegado de la α -sinucleína, facilitando su acumulación en los cuerpos de Lewy.

Existen evidencias que muestran que la actividad de las subunidades del proteosoma (26/20S) en la *substancia nigra* en los pacientes con parkinson esporádico se encuentra disminuida, mientras su actividad en el estriado es normal⁵⁹⁻⁶⁵. La administración estereotáxica de lactacistina (inhibidor de la subunidad proteosómica 26/20S) en la *substancia nigra* de ratas, conduce a la formación de inclusiones semejantes a cuerpos de Lewy y a la muerte de las células dopaminérgicas, adicionalmente los animales manifiestan trastornos motores parecidos a los que se presentan en el parkinsonismo⁶⁶⁻⁶⁹.

Deterioro neuronal por daño en el proteosoma

Una explicación breve de la secuencia de eventos es que, la reducción en el funcionamiento de proteosoma afecta la degradación de proteínas, por lo tanto la inadecuada eliminación de protofibrillas disfuncionales de α -sinucleína aumenta su concentración y rompe la homeostasis de la dopamina, induciendo neurotoxicidad por el incremento del estrés oxidativo en las células de la *substancia nigra*.

En todas las formas de la enfermedad de Parkinson la muerte de las neuronas dopaminérgicas es el mecanismo clave en el que convergen el estrés oxidativo inducido por la dopamina, así como la desorganización del proceso de plegado y eliminación de la proteína α -sinucleína.

Probable función de la α -sinucleína

La α -sinucleína se ha encontrado concentrada en el citoplasma de las terminales presinápticas y cercana a las vesículas sinápticas en modelos de EP, tanto *in vivo* como *in vitro*. La interacción de la α -sinucleína con fosfolípidos de membrana⁷⁰, se lleva a cabo con el amino terminal de la proteína para formar en un 80% un estructura secundaria de α -hélice⁷¹. Las propiedades de la unión de la α -sinucleína a las vesículas sinápticas se eliminan si ésta tiene la mutación Ala30Pro^{71,72}, quizás porque el enrollamiento de la proteína no permita su asociación con las membranas vesiculares, mientras la mutación Ala53Thr no cause alteraciones en su unión con las vesículas⁷⁰. La asociación deteriorada de la α -sinucleína mutada en Ala30Pro con membranas lipídicas planas, sugiere que otras funciones se encuentran afectadas, aun cuando no dependan de la unión de α -sinucleína a las vesículas⁷² (figura 2).

Se ha propuesto que la principal función de la α -sinucleína es regular el reciclado de las vesículas sinápticas a través de la fosfolipasa D2 (PLD2)⁷³, esta enzima se lo-

caliza en la membrana plasmática e hidroliza a la fosfatidilcolina en ácido fosfatídico en respuesta a un estímulo externo como la activación por un neurotransmisor, la PLD2 es muy importante para la formación de vesículas, dado que aporta su principal producto, el ácido fosfatídico, al ser reclutado por moléculas atraparoras induce el brote de vesículas a partir de membranas donadoras⁷³⁻⁷⁵. La capacidad de reciclado de las vesículas sinápticas en las terminales nerviosas es una característica de las sinápsis en el sistema nervioso, ya que por su reducido número en la poza de reserva deben reutilizarse durante el periodo de inicio de la actividad neuronal. Diversos estudios indican de manera independiente que la PLD2 regula el reciclado de las vesículas sinápticas cerca de la membrana plasmática, en respuesta a un estímulo externo^{76,77}, de tal manera que modulándose la actividad de la PLD2 por la α -sinucleína, se regula la formación de vesículas en la terminal presináptica⁷⁷.

En ambos modelos, el número de vesículas en la poza de liberación rápida, (que es la disponible para liberarse de inmediato) permanece intacta, lo que indica que hay una liberación apropiada de neurotransmisor dependiendo de la frecuencia de estimulación. Las terminales nigroestriales de ratones *knockout* para α -sinucleína responden normalmente a un tren de estimulación, debido a que generalmente no vacían todas sus vesículas en la zona activa^{71,78}, lo que sugiere que esta poza de vesículas no puede ser reaprovisionada por vesículas de la poza de reserva o por un mecanismo de reciclado local.

Estos datos son la evidencia de que la α -sinucleína es un importante regulador del ciclo de las vesículas sinápticas. En las neuronas dopaminérgicas, la reducción en el número de vesículas está determinado por la mutación en la α -sinucleína, en especial si hubiese una inhibición de la tirosina hidroxilasa, lo que conduciría al aumento del estrés oxidativo dependiente de dopamina, como lo indican los estudios en neuronas mesencefálicas que expresan α -sinucleína mutante^{73,74}. Adicionalmente, el déficit en el reciclado de las vesículas resulta de alteraciones en la actividad de la PLD2, y recordemos que la α -sinucleína mutada también puede producir la acumulación del neurotransmisor en el citoplasma al permeabilizar las vesículas dopaminérgicas. Mientras que el primer mecanismo es el resultado de la pérdida normal de la función de la α -sinucleína, la permeabilización vesicular representa una ganancia en la función efectuada por la formación de protofibrillas de la α -sinucleína.

El ciclo destructivo

Es probable que diferentes razones provoquen la cascada de eventos que involucran el inadecuado plegamiento y la pérdida de las funciones normales de la

α -sinucleína, y que en las neuronas dopaminérgicas promuevan el aumento de la dopamina citoplásmica. Estos cambios consecuentemente aumentan las especies reactivas de oxígeno y sus efectos dañinos, la acumulación de protofibrillas de α -sinucleína o la saturación del proteosoma. La alteración de la estructura y función de la α -sinucleína (figura 4) y los cambios en la homeostasis de la dopamina, favorecen y exacerbarían un círculo vicioso destructivo que puede aumentar de manera exponencial. Las mutaciones o el polimorfismo en otras proteínas que participen en la biogénesis de las vesículas, o su reciclado, también podrían estar favoreciendo este círculo. Simultáneamente, el efecto del envejecimiento de las neuronas de la *substancia nigra* puede disminuir las funciones del proteosoma, conducir a la atrofia neuronal, y al empacotamiento celular de la α -sinucleína nativa, promoviendo su agregación.

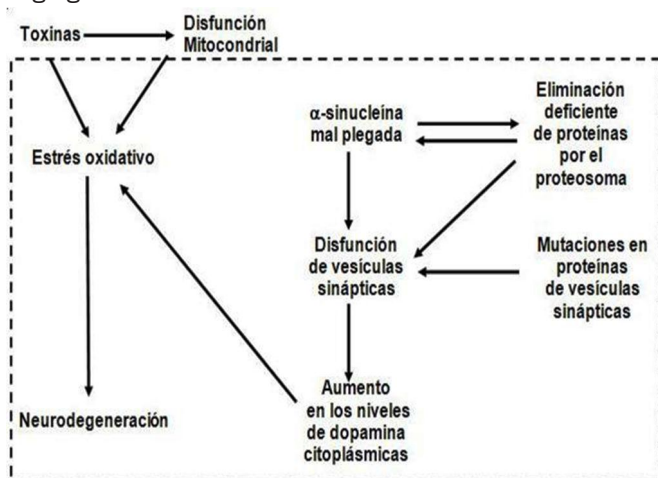


Figura 4. Procesos que incrementan la concentración citoplásmica de la DA en la degeneración de la nigra en la EP. Dentro de la línea punteada están representados los procesos dañinos que forman un círculo vicioso que conduce a la muerte neuronal. Aunque existen diferentes procesos que desencadenan las formas esporádica y familiar de la EP, estos convergen dando como resultado la acumulación de DA en el citoplasma. Dada la alta susceptibilidad de la DA oxidarse; al no almacenarse adecuadamente en las vesículas sinápticas, aumenta la formación de especies reactivas de oxígeno lo que induce la neurodegeneración. En la enfermedad de Parkinson, la disfunción de las neuronas dopaminérgicas, obliga a las neuronas sobrevivientes a trabajar en exceso, lo que también facilita la formación de especies reactivas.

Investigar la patología de las neuronas dopaminérgicas responsable de la enfermedad de Parkinson requiere del estudio de un conjunto de eventos que tienen efectos devastadores. Estas son malas noticias para los interesados en encontrar una sola causa de la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, pueden ser buenas para aquellos que tratan de desarrollar nuevas terapias para estos desordenes, ya que ésta perspectiva multifactorial abre múltiples posibilidades, tanto profilácticas como terapéuticas,

dado que brinda la posibilidad de generar moléculas o estrategias terapéuticas dirigidas hacia cada evento para controlar sus efectos dañinos.

El conocimiento del efecto destructivo de la auto-oxidación de la dopamina y consecuentemente la formación de radicales libres, nos brinda una perspectiva inmediata: la prevención de la enfermedad de Parkinson va de la mano de la disminución del proceso oxidativo y los efectos de los radicales libres. Para esto se cuenta con diversos antioxidantes como son las vitaminas y quelantes naturales de radicales libres como es la melatonina.

Agradecimientos

Agradecemos a la doctora Rosalinda Díaz Pérez, sus acertados comentarios sobre el manuscrito.

REFERENCIAS

1. Aminoff MJ. Enfermedad de Parkinson y otros trastornos piramidales. Principios de Medicina Interna. ed. Mc Graw Hill Interamericana. México 1998.
2. Sherer TB, Betarbet R, Greenamyre JT. Pathogenesis of Parkinson's disease. *Curr Opin Invest Drugs* 2001;2:657-62.
3. Duda JE, Giasson BI, Mabon ME, Lee VM, Trojanowski JQ. Novel antibodies to synuclein show abundant striatal pathology in Lewy body diseases. *Ann Neurol* 2002;52, 205-10.
4. Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience* 1994;59:401-15.
5. Leroy E. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 1998;395:451-2.
6. Liu Y, Fallon L, Lashuel HA, Liu Z, Lansbury PT Jr. The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect α -synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility. *Cell* 2002;111,209-18.
7. Graham DG. Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinones. *Mol Pharmacol* 1978; 14:633-43.
8. Maker HS, Weiss C, Silides DJ, Cohen G. Coupling of dopamine oxidation (monoamine oxidase activity) to glutathione oxidation via the generation of hydrogen peroxide in rat brain homogenates. *J Neurochem* 1981;36:589-93.
9. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992;59,1609-23.
10. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996;273, 59-63.
11. Jenner P. Oxidative mechanisms in nigral cell death in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998;13(Suppl. 1):24-34.
12. Sofic E. Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain. *J Neural Transm* 1988;74,199-205.
13. Saggi H. A selective increase in particulate superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. *J Neurochem* 1989;53,692-7.
14. Dexter DT. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1989;52,381-9.
15. Floor E, Wetzel MG. Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *J Neurochem* 1998;70, 2682-75.

16. Alam ZI. Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem* 1997;69,1196-203.
17. Dexter DT. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1989;52,1830-6.
18. Alam ZI. A generalised increase in protein carbonyls in the brain in Parkinson's but not incidental Lewy body disease. *J Neurochem* 1997;69,1326-9.
19. Schul JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem* 2000;267,4904-11.
20. Marttila RJ, Lorentz H, Rinne UK. Oxygen toxicity protecting enzymes in Parkinson's disease. Increase of superoxide dismutase-like activity in the substantia nigra and basal nucleus. *J Neurol Sci* 1988;86,321-31.
21. Dexter DT. Nigral dopaminergic cell loss in vitamin E deficient rats. *Neuroreport* 1994;5,1773-6.
22. Przedborski S, Jackson-Lewis V. Mechanisms of MPTP toxicity. *Mov Disord* 1998;13 (Suppl. 1), 35-8.
23. Del Zompo M, Piccardi MP, Ruiu S, Corsini GU, Vaccari A. High-affinity binding of [3H]1-methyl-4-phenyl-2,3-dihydropyridinium ion to mouse striatal membranes: putative vesicular location. *Eur J Pharmacol* 1991;202,293-4.
24. Krueger MJ, Singer TP, Casida JE, Ramsay RR. Evidence that the blockade of mitochondrial respiration by the neurotoxin 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) involves binding at the same site as the respiratory inhibitor, rotenone. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;169,123-8.
25. Jones SR, Gainetdinov RR, Wightman RM, Caron, MG. Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter. *J Neurosci* 1998;18, 1979-86.
26. Sulzer D. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. *J Neurosci* 1995;15, 4102-8.
27. Sonsalla PK, Jochowitz ND, Zeevalk GD, Oostveen JA, Hall ED. Treatment of mice with methamphetamine produces cell loss in the substantia nigra. *Brain Res* 1996;738, 172-5.
28. Schmidt CJ, Ritter JK, Sonsalla PK, Hanson GR, Gibb JW. Role of dopamine in the neurotoxic effects of methamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;233,539-44.
29. Betarbet R. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neurosci* 2000;3,1301-6.
30. Gomez-Chavarin M, Torner C, Díaz-Pérez R, Morales-Espinosa R, Giordano M, Fernandez-Ruiz J, et al. Perinatal exposure to rotenone diminishes dopaminergic neurons and increases α -synuclein content in the nigrostriatal pathway (En prensa).
31. Fukushima T, Yamada K, Isobe A, Shiwaku K, Yamane Y. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. I. NADH oxidation and paraquat radical formation via complex I. *Exp Toxicol Pathol* 1993;45, 345-9.
32. McCormack, AL. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis* 2002;10,119-27.
33. Goedert M. α -Synuclein and neurodegenerative diseases. *Nature Rev Neurosci*. 2001;2, 492-501.
34. Spillantini MG. α -Synuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997;388, 839-40.
35. Polymeropoulos MH. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276,2045-47.
36. Krüger R. Ala30Pro mutation in the gene encoding α -synuclein in Parkinson's disease. *Nature Genet* 1998;18,106-8.
37. Kitada T. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;392, 605-8.
38. Giasson BI, Lee VM. Parkin and the molecular pathways of Parkinson's disease. *Neuron* 2001;31,885-8.
39. Kuzuhara S, Mori H, Izumiya M, Yoshimura M, Ihara Y. Lewy bodies are ubiquitinated. A light and electron microscopic immunocytochemical study. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75,345-53.
40. Ii K, Ito H, Tanaka K, Hirano A. Immunocytochemical colocalization of the proteasome in ubiquitinated structures in neurodegenerative diseases and the elderly. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997;56,125-31.
41. Auluck PK, Chan HY, Trojanowski JQ, Lee VM, Bonini NM. Chaperone suppression of α -synuclein toxicity in a Drosophila model for Parkinson's disease. *Science* 2002;295,865-8.
42. Galvin JE. Monoclonal antibodies to purified cortical Lewy bodies recognize the mid-size neurofilament subunit. *Ann Neurol* 1997;42,595-603.
43. Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. Fibrils formed *in vitro* from α -synuclein and two mutant forms linked to Parkinson's disease are typical amyloid. *Biochemistry* 2000;39,2552-63.
44. Bucciantini M. Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases. *Nature* 2002;416, 507-9.
45. Goldberg MS, Lansbury PT. Jr. Is there a cause-and-effect relationship between α -synuclein fibrillization and Parkinson's disease? *Nature Cell Biol* 2002;2,E115-E119.
46. Lee HJ, Lee SJ. Characterization of cytoplasmic α -synuclein aggregates: fibril formation is tightly linked to the inclusion forming process in cells. *J Biol Chem*. 2002;277(50):48976-83
47. Gosavi N, Lee HJ, Lee JS, Patel S, Lee SJ. Golgi fragmentation occurs in the cells with prefibrillar α -synuclein aggregates and precedes the formation of fibrillar inclusion. *J Biol Chem* 2002;277(50):48984-92.
48. Tompkins MM, Hill WD. Contribution of soma Lewy bodies to neuronal death. *Brain Res* 1997;775, 24-9.
49. Hurtig, HI. α -Synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease. *Neurology* 2000;54,1916-21.
50. Shtilerman MD, Ding, TT, Lansbury PT. Jr. Molecular crowding accelerates fibrillization of α -synuclein: could an increase in the cytoplasmic protein concentration induce Parkinson's disease? *Biochemistry* 2002;41:3855-60.
51. Conway KA, Rochet JC, Bieganski RM, Lansbury PT Jr Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct. *Science* 2001;294(5545):1346-9.
52. Volles MJ, Lasbury PT Jr. Vesicle permeabilization by protofibrillar α -synuclein is sensitive to Parkinson's disease-linked mutation and occurs by a pore-like mechanism. *Biochemistry* 2002;41: 4595-602.
53. Volles MJ. Vesicle permeabilization by protofibrillar α -synuclein: implications for the pathogenesis and treatment of Parkinson's disease. *Biochemistry* 2001;40:7812-9.
54. Lashuel H. α -Synuclein, especially the Parkinson's disease-associated mutants, forms pore-like annular and tubular protofibrils. *J Mol Biol* 2002;322:1089.
55. Hashimoto M. Oxidative stress induces amyloid-like aggregate formation of NACP/ α -synuclein *in vitro*. *Neuroreport* 1999;10:717-21.
56. Sherman MY, Goldberg AL. Involvement of molecular chaperones in intracellular protein breakdown. *EXS*. 1996;77: 57-78.
57. Shimura H. Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature Genet* 2000;25:302-5.
58. West AB. Functional association of the parkin gene promoter with idiopathic Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2002;11: 2787-92.
59. Farrer M. Lewy bodies and parkinsonism in families with parkin mutations. *Ann Neurol* 2001;50:293-300.
60. Chung KK. Parkin ubiquitinates the α -synuclein interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. *Nature Med* 2001;7:1144-50.
61. Ribeiro CS, Carneiro K, Ross CA, Menezes JR, Engelender S. Synphilin-1 is developmentally localized to synaptic terminals, and its association with synaptic vesicles is modulated by α -

- synuclein. *J Biol Chem* 2002;277:23927-33.
62. Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 2001; 292:1552-5.
 63. Zhang Y, Gao J, Chung KK, Huang H, Dawson VL, Dawson TM. Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin-protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(24):13354-9.
 64. McNaught K St P, Jenner P. Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2001;297: 191-4.
 65. Furukawa Y. Brain proteasomal function in sporadic Parkinson's disease and related disorders. *Ann Neurol* 2002;51:779-82.
 66. Rideout HJ, Larsen KE, Sulzer D, Stefanis L. Proteasomal inhibition leads to formation of ubiquitin/ α -synuclein-immunoreactive inclusions in PC12 cells. *J Neurochem* 2001;78:899-908.
 67. McNaught KS. Impairment of the ubiquitin-proteasome system causes dopaminergic cell death and inclusion body formation in ventral mesencephalic cultures. *J Neurochem* 2002;81:301-6.
 68. McNaught KS. Proteasome inhibition causes nigral degeneration with inclusion bodies in rats. *Neuroreport* 2002;13:1437-41.
 69. McNaught KS, Belizaire R, Jenner P, Olanow CW, Isacson O. Selective loss of 20S proteasome α -subunits in the substantia nigra pars compacta in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2002;326:155-8.
 70. Jo E, McLaurin JA, Yip CM, St George-Hyslop PH, Fraser P. α -Synuclein membrane interactions and lipid specificity. *J Biol Chem* 2000;275:34328-34.
 71. Davidson WS, Jonas A, Clayton DF, George JM. Stabilization of α -synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. *J Biol Chem* 1998;273:9443-9.
 72. Jensen PH, Nielsen MH, Jakes R, Dotti CG, Goedert M. Binding of α -synuclein to rat brain vesicles is abolished by familial Parkinson's disease mutation. *J Biol Chem* 1998;273:26292-4.
 73. Jenco JM, Rawlingson A, Daniels B, Morris AJ. Regulation of phospholipase D2: selective inhibition of mammalian phospholipase D isoenzymes by α - and α -synuclein. *Biochemistry* 1998;37:4901-9.
 74. Cockcroft S. Signalling roles of mammalian phospholipase D1 and D2. *Cell Mol Life Sci* 2001;58:1674-87.
 75. Liscovitch, M, Czarny, M, Fiucci, G. & Tang, X. Phospholipase D: molecular and cell biology of a novel gene family. *Biochem J* 2000;345:401-15.
 76. Lotharius J, Brundin P. Impaired dopamine storage resulting from α -synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2000;11:2395-407.
 77. Murphy DD, Rueter SM, Trojanowski JQ, Lee VM. Synucleins are developmentally expressed, and α -synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J Neurosci* 000;220:3214-2310.
 78. Stein TD, Johnson JA. Lack of neurodegeneration in transgenic mice overexpressing mutant amyloid precursor protein is associated with increased levels of transthyretin and the activation of cell survival pathways. *J Neurosci* 2002;22(17):7380-8.