

MODELOS NEUROTÓXICOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL*

Alarcón Aguilar Adriana¹, Abel Santamaría del Ángel², Mina Königsberg Fainstein¹

¹Departamento de Ciencias de la Salud, CBS. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México D.F. Tel: 5804-4732; Fax: 5804-4727; mkf@xanum.uam.mx

²Laboratorio de Aminoácidos Excitadores, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, S.S.A., México D.F. 14269, México. Tel. 5606-3822, ext. 2013.

RESUMEN

Existen numerosas enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la progresiva atrofia o muerte selectiva de determinadas poblaciones de neuronas, lo cual lleva a la interrupción de circuitos neuronales específicos y en consecuencia, a la aparición de distintos déficits neurológicos, manifestándose a través de diversos síntomas. La enfermedad de Parkinson es el segundo trastorno neurodegenerativo más frecuente en las personas de la tercera edad, sin embargo, aún no existen fármacos terapéuticos eficientes que logren detener su progresión. Para el estudio de esta enfermedad a nivel experimental se emplean modelos neurotóxicos, en roedores y primates no humanos, que semejan algunas características de la enfermedad y son muy útiles para tratar de entender sus causas y origen. Actualmente se sabe que el mecanismo de acción de una gran cantidad de los agentes tóxicos empleados como modelos, involucra la inhibición del complejo I mitocondrial y la generación de especies reactivas de oxígeno, por lo que el papel de la mitocondria durante el desarrollo de la enfermedad de Parkinson es fundamental. En este trabajo haremos una breve revisión de estos modelos y su relevancia para el estudio de la enfermedad, dando especial atención a las alteraciones en la funcionalidad mitocondrial.

ABSTRACT

Most neurodegenerative disorders are characterized by the progressive atrophy of specific neuronal populations. These events currently lead to the interruption of specific neuronal pathways as well as the expression of several neurological deficits and disorders. Parkinson's disease is the second more frequent neurodegenerative disease worldwide affecting mature people. Unfortunately, up to now there are not efficient therapeutic drugs available that can counteract its progression. In order to investigate the causes and origins of this disorder, several neurotoxic models mimicking some characteristics of the disease have been used in rodents and non-human primates. Currently, it is known that the mechanisms of action exerted by most of the employed toxicants for this purpose involve the inhibition of mitochondrial complex I and the generation of reactive oxygen species; hence, the role of mitochondrial dysfunction in the development of Parkinson's disease is fundamental. In this work we will bring a brief review on these models and their relevance for the study of this disorder, giving special attention to the alterations in mitochondrial function.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es el segundo padecimiento neurodegenerativo más frecuente en las personas de la tercera edad, superado

únicamente por la enfermedad de Alzheimer, con una incidencia de 1 por cada 200 habitantes en población abierta (1). Las estadísticas oficiales sobre enfermos con EP en México tienen un severo atraso y el dato más reciente es de hace 13 años:

PALABRAS

CLAVE:

Enfermedad de Parkinson, MTPP, paraquat, rotenona, 6- hidroxidopamina, estrés oxidativo.

KEY WORDS:

Parkinson, MTPP, paraquat, rotenone, 6- hydroxydopamine, oxidative stress.

en 1997 se estimaba que había entre 500 y 600 mil personas que padecían esta enfermedad, sin embargo, el año pasado la Asociación Mexicana de Parkinson A.C. reportó que en nuestro país existen al menos dos millones de personas afectadas por este padecimiento.

La EP es una neuropatía degenerativa que afecta tanto a hombres como a mujeres y se desarrolla más frecuentemente después de los 50 años de edad. Esta enfermedad fue descrita originalmente por James Parkinson en 1817 y se caracteriza por síntomas tales como bradicinesia (movimiento lento), temblor en reposo y rigidez (2).

A nivel histopatológico y molecular se relaciona con un deterioro gradual y progresivo de las neuronas que se localizan en la sustancia nigra pars compacta (SNpc) del cerebro, las cuales sintetizan dopamina y la liberan en el estriado. Otra característica que se ha encontrado en cerebros de pacientes con EP son las inclusiones intracelulares de agregados enriquecidos de la proteína α -sinucleína, llamados también cuerpos de Lewy (3).

La degeneración de las neuronas dopaminérgicas (NDA) y la consecuente pérdida de dopamina (DA) en las terminales nerviosas en el cuerpo estriado son aparentemente las responsables de la mayoría de los trastornos del movimiento. De hecho, se cree que una de las causas que conducen a una degeneración preferente de las NDA es que precisamente el metabolismo de dicho neurotransmisor conlleva a la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual acentúa el estrés oxidativo en esta población (4).

Si bien la EP es mayoritariamente una enfermedad esporádica asociada al envejecimiento (1), también se han encontrado mutaciones responsables de un cierto número de casos en los genes que codifican para la α -sinucleína, la parkina y el DJ-1 o Nurr-1, entre otros, que propician el desarrollo de la enfermedad (5). Además, se han detectado algunas mutaciones en el DNA mitocondrial que también podrían estar relacionadas con la aparición de la EP en algunos casos.

Aunque la etiología de la EP sigue siendo un misterio, su patogenia comienza a ser entendida como una cascada de múltiples factores nocivos concurrentes y responsables, en su conjunto, de las alteraciones mayores en esta enfermedad. Una gran cantidad de ideas sobre la patogénesis de la EP provienen de investigaciones realizadas en modelos experimentales, especialmente aquellos producidos por diversas toxinas (3).

AGENTES NEUROTÓXICOS INDUCTORES DE MODELOS DE PARKINSON

Para reproducir algunas de las características que semejan los fenómenos que tienen lugar en diversas neuropatologías, actualmente se emplean modelos experimentales, tanto *in vivo* como *in vitro*, que involucran el uso de agentes neurotóxicos. En el caso de la EP, el modelo más estudiado y utilizado hasta ahora es el producido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinio (MPTP), o por su ión aún más tóxico, el 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), por lo que será el más discutido en esta revisión, aunque también se abordarán otros modelos de agentes tóxicos como el paraquat, la rotenona y la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Fig. 1).

Generalidades de MPTP y MPP⁺

El MPTP genera un modelo que ha sido ampliamente utilizado para estudiar la EP y poner a prueba estrategias protectoras. Este agente tóxico se descubrió cuando una gran cantidad de jóvenes adictos a la heroína comenzaron a presentar síntomas de Parkinson al consumir accidentalmente al MPTP, lo que se ha denominado como síndrome parkinsoniano. El cuadro parkinsoniano generado en estas personas se caracteriza por temblor, acinesia, rigidez, postura en flexión, alteración de reflejos posturales y tendencia al sigilo, y todo ello se revierte con la administración de L-DOPA o agonistas dopaminérgicos. Como resultado de los estudios realizados, se encontró que el responsable de dichos síntomas era el MPP⁺, el metabolito directamente proveniente del MPTP (6).

Ahora se sabe que el MPTP es un compuesto que atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y es oxidado en las células de la glía, principalmente en astrocitos. La enzima responsable de este proceso es la monoamino-oxidasa-B (MAO-B), la cual convierte al MPTP en 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridinio (MPDP⁺), que a su vez se transforma en MPP⁺ por oxidación espontánea. El MPP⁺ sale de los astrocitos y es selectivamente incorporado por las NDA a través del transportador de dopamina, ejerciendo allí su acción neurotóxica a través de la inhibición del complejo I mitocondrial (7).

Por lo anterior, el MPTP se ha utilizado para inducir una degeneración selectiva de NDA en la sustancia nigra (SN), generando así modelos de Parkinson murinos y primates por denervación de la vía nigro-estriatal. Sin embargo, una limitación inicial de este modelo es que al principio no se observaban los característicos cuerpos de Lewy, que son inclusiones de proteínas características de

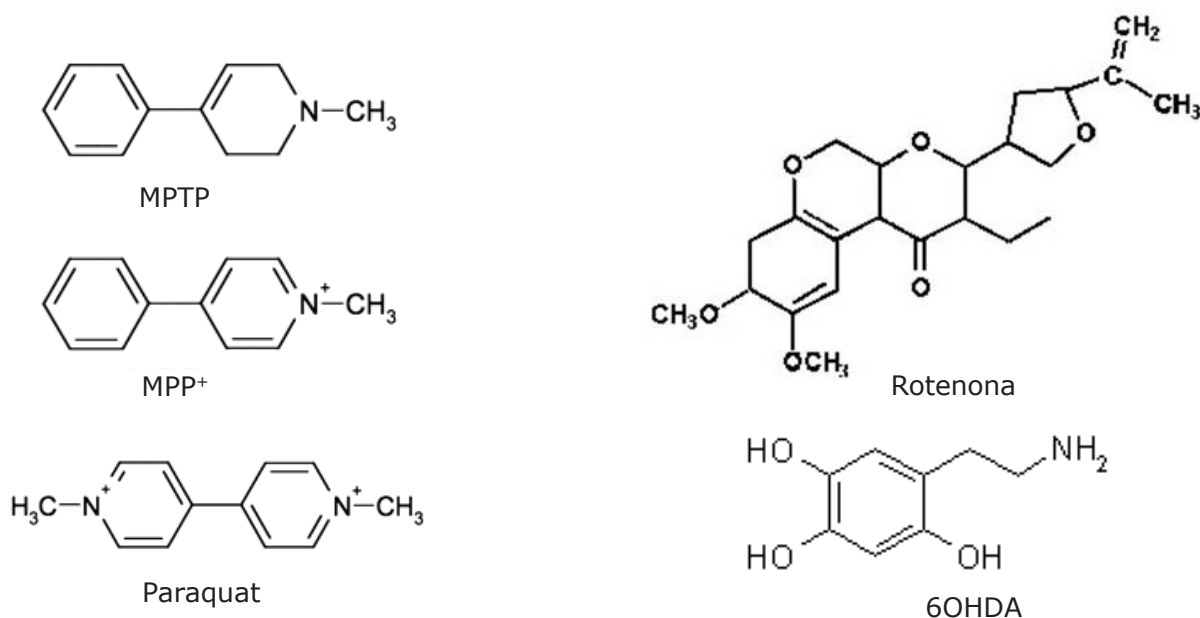


Figura 1. Estructuras químicas de los agentes neurotóxicos

la enfermedad, aunque recientemente se ha visto que la infusión continua de dosis más bajas de MPTP durante un largo período de tiempo si logra reproducir las marcas histopatológicas de la EP.

Modelos animales con MPTP

La neurotoxicidad del MPTP ha sido demostrada en diversas especies animales, incluyendo macacos, ratones (C57 negro) y gatos (8). No existe una explicación adecuada para la diferente vulnerabilidad de las distintas especies animales al MPTP; no obstante, se ha postulado que puede estar relacionada con diferencias en el metabolismo del MPTP y la distribución y retención cerebral de su metabolito, el MPP⁺. Para algunos autores, la neurotoxicidad del MPTP es dependiente del contenido de neuromelanina, ya que la afinidad del MPP⁺ por la neuromelanina es muy alta y dicho pigmento está presente en las NDA, mientras que para otros está relacionada con la actividad de la MAO-B a nivel de los capilares cerebrales. Aunque especies animales como la rata son resistentes a la administración sistémica de MPTP, su metabolito MPP⁺ es una potente toxina que produce destrucción de las NDA de la SNpc cuando se administra directamente en el estriado. Por lo tanto, es posible que la vulnerabilidad diferencial que presentan las especies animales al MPTP sea dependiente de factores relacionados con la distribución y metabolismo cerebral de dicho agente tóxico (9).

En cuanto a las alteraciones conductuales, se ha reportado que una gran variedad de primates

no humanos desarrollan también un síndrome parkinsoniano cuando se les administra MPTP. Estos animales muestran una reducción muy importante de la actividad espontánea, rigidez, bradicinesia y temblor; muy pocos desarrollan el temblor de reposo característico de la EP. Los síntomas parkinsonianos son inicialmente transitorios, pero se hacen permanentes con la administración repetida de la toxina. Los mecanismos implicados en la recuperación espontánea que experimentan estos animales no se conocen, pero pueden estar relacionados con una modificación transitoria de otros sistemas de neurotransmisión, diferentes al nigroestriado (10).

Características histopatológicas y neuroquímicas del modelo con MPTP

Un estudio histopatológico de uno de los individuos que desarrollaron síndrome parkinsoniano tras inyectarse una droga que contenía MPTP mostró una lesión selectiva de las células dopaminérgicas de la SNpc; sin embargo, los estudios realizados en primates han demostrado que la lesión inducida por MPTP no afecta de forma exclusiva a esta población neuronal. A este respecto, diversos grupos han demostrado que en macacos adultos, la administración de MPTP induce además una degeneración de las NDA del área tegmental ventral (ATV) y del locus coeruleus, donde se han descrito cuerpos de inclusión eosinofílicos que se asemejan a los cuerpos de Lewy. La degeneración del ATV, aunque en menor grado, es evidente también en los primates

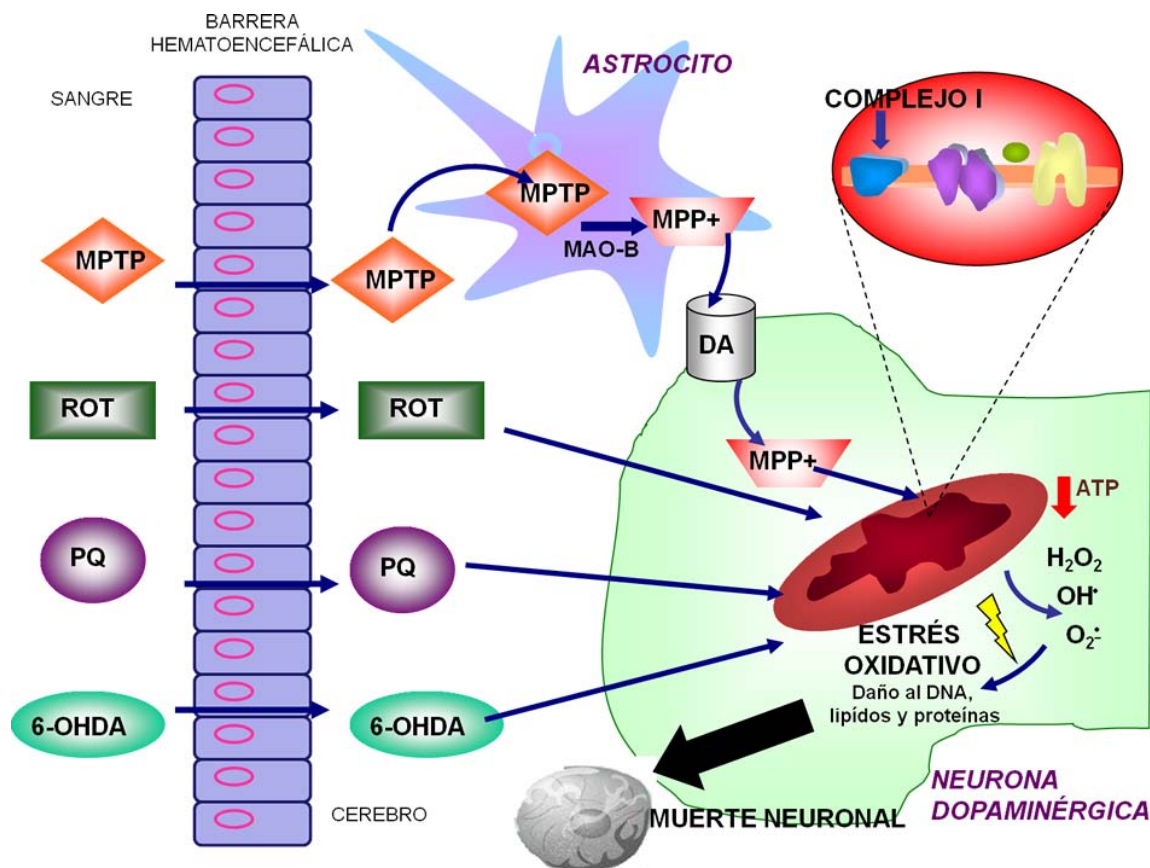


Figura 2. Efecto tóxico de los agentes neurotóxicos. Los tóxicos descritos: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinio (MPTP), Rotenona (ROT), paraquat (PQ), 6 hidroxidopamina (6OHDA), atraviesan la barrera hematoencefálica. El MPTP entra al astrocito donde es metabolizado por la monoamino oxidasa B, y se transforma en el 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), se libera al espacio presináptico y entra en las neuronas dopaminérgicas a través del transportador de dopamina y se va directamente a la mitocondria. La ROT, PQ, y 6OHDA atraviesan la membrana de las neuronas y también se dirigen a la mitocondria. Todos los tóxicos actúan inhibiendo el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, lo cual aumenta la generación de especies reactivas de oxígeno, disminuye el potencial redox y por lo tanto la síntesis de ATP. La generación de especies reactivas de oxígeno induce estrés oxidativo, propiciando daño a las biomoléculas. Todo ello fomenta la muerte de las neuronas dopaminérgicas.

jóvenes aunque la pérdida neuronal es siempre de mayor intensidad en las NDA de la SNpc.

Desde el punto de vista neuroquímico también existe una gran similitud entre el parkinsonismo inducido por MPTP y la EP. La acción neurotóxica del MPTP se caracteriza, como la EP, por una reducción de la concentración de dopamina (DA) y de sus metabolitos, el ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido homovanílico (HVA), así como una disminución de la actividad del enzima tirosina hidroxilasa y una alteración en la densidad de receptores dopaminérgicos. Al contrario de lo que sucede en la EP, donde la disminución de DA es más intensa en el putamen que en núcleo caudado, los primates expuestos de forma crónica a la acción del MPTP muestran una disminución homogénea y no selectiva del contenido de DA estriatal, siendo de igual intensidad en ambas estructuras estriatales.

Otras áreas cerebrales con inervación dopaminérgica como el núcleo accumbens, el hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral, también son afectadas por MPTP y la reducción en el contenido de DA es similar a la descrita en estriado. En contraste, los niveles de DA no se alteran en estructuras como el globo pálido lateral y medial, que recibe proyecciones directas de la SNpc. Adicionalmente, las concentraciones de noradrenalina y serotonina en estriado no se modifican con la administración aguda de MPTP, aunque se reducen de forma significativa en estriado y corteza en los animales tratados de forma crónica. De igual manera, no existe evidencia de que el MPTP induzca alteraciones en los sistemas colinérgico, GABAérgico o glutamatérgico en primates, aunque los niveles de diferentes neuropéptidos y encefalina en el estriado, SN y pálido están reducidos en animales tra-

tados crónicamente, y estas mismas alteraciones han sido descritas en pacientes con EP. A pesar de que el modelo ha sido ampliamente explorado, aún no se sabe si estos cambios son consecuencia de la degeneración de neuronas que contienen estos péptidos o apenas representan cambios adaptativos a la denervación nigroestriada.

Mecanismo de acción del MPTP y del MPP⁺

Una de las hipótesis propuestas para explicar la muerte neuronal inducida por MPTP sugiere que el daño celular se origina por la producción intraneuronal de radicales superóxido y otros radicales libres altamente citotóxicos que se originan durante la oxidación intracelular del MPP⁺, en cantidades que exceden la capacidad celular para neutralizarlos.

Se ha reportado que en homogenados de cerebro de animales, el MPTP induce la producción de radicales hidroxilo y acelera el acúmulo de lipofuscina, especialmente si el medio carece de vitamina E. Por otro lado, tanto el MPTP como el MPP⁺ incrementan la autooxidación de la DA, que a su vez genera ERO y disminuye los niveles intracelulares de glutatión reducido (GSH) en roedores, efecto que es bloqueado por antioxidantes como la vitamina E (11).

Cierta evidencia que se contrapone con esta hipótesis es que la administración de ácido ascórbico, o bien de α -tocoferol, no reducen el daño dopaminérgico inducido por MPTP, mientras que la adición de potentes quelantes de metales de transición no sólo no protege contra el daño inducido por MPTP, sino que además exacerba su toxicidad.

Por otro lado, recientemente se ha demostrado que inhibidores de la oxido nítrico sintasa (ONS), protegen de forma eficaz a la lesión de NDA inducida por el MPTP en roedores y primates. La ONS es un enzima dependiente de calcio cuya activación se produce por estimulación de receptores NMDA. De su activación depende la síntesis de óxido nítrico, el cual a su vez puede producir una inhibición directa de la cadena respiratoria mitocondrial o dar lugar a la formación de peroxinitrito, de manera que el debate en cuanto a la participación del estrés oxidativo en este fenómeno sigue vigente.

Otra de las hipótesis de toxicidad del MPTP se ha centrado en los hallazgos de que el MPP⁺ es un potente inhibidor de la respiración mitocondrial. Nicklas y colaboradores a principios de los años 90 (12) fueron los primeros en describir *in vitro* que el MPP⁺ a altas concentraciones (1 mM) producía una inhibición completa de la oxidación de los sustratos piruvato/malato y glutamato/malato ligados a NAD⁺. *In vivo*, donde se requieren concentraciones mayores del agente tóxico (10 mM) para que ten-

ga lugar la inhibición de la cadena transportadora de electrones, se ha comprobado que el MPP⁺ es transportado desde el citoplasma al interior de la mitocondria en contra de un gradiente. Los efectos del MPP⁺ sobre las mitocondrias también han sido bien caracterizados: a altas concentraciones se bloquea la oxidación de NADH, existiendo una clara correlación entre el acúmulo de MPP⁺ y la disminución de ATP. Por su parte, la inhibición del transporte de electrones mitocondrial induce una disminución en la producción de ATP celular, que a su vez da lugar a una alteración en la organización de los microfilamentos celulares, provocando así una alteración de los potenciales transmembranales y una disminución de GSH, principal defensa de la célula frente al estrés oxidativo, conduciendo a las células a la apoptosis. Así mismo, la inhibición del complejo I mitocondrial genera ERO, por lo que no puede excluirse la posibilidad de que ambas hipótesis estén relacionadas (12).

ROTENONA

Otro modelo de gran interés que se ha utilizado para estudiar la EP es el de la rotenona. Este agente es un compuesto derivado de raíces de especies de plantas tropicales como *Derris* y *Lonchocarpus*, que se utilizan en todo el mundo como plaguicidas e insecticidas naturales. La rotenona es un isoflavonoide de origen vegetal y también se ha empleado tradicionalmente para controlar poblaciones de peces en lagos y reservas naturales, en donde se ha observado que fácilmente se descompone por la exposición a la luz solar. Debido a su extrema capacidad lipofílica, la rotenona atraviesa fácilmente las membranas biológicas y no depende de transportadores de membrana (13).

Este agente es también ampliamente conocido como inhibidor de la NADH deshidrogenasa, o complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. Dukes y colaboradores en 2005 reportaron (14) que la rotenona daña selectivamente a las NDA de animales y a cultivos celulares de experimentación, lo cual se atribuye al estrés oxidativo resultante de la generación de radicales libres como el superóxido, con la consecuente inhibición del complejo I antes mencionado. La acumulación de daño por estrés oxidativo causado por rotenona conduce a la apoptosis dependiente de caspasa-3 en las NDA.

Modelos animales con rotenona

Recientemente se ha desarrollado un modelo murino en el que la exposición a rotenona reproduce algunas de las características neuroquímicas, histopatológicas y conductuales de la EP, con degenera-

ción preferente de la zona nigroestriada, inclusión de cuerpos de Lewy y deficiencias motoras como hipocinesia, rigidez con postura encorvada y temblores en uno o más miembros (13). Este modelo ha sido reproducido por otros grupos tanto en ratas como en *Drosophila melanogaster*, aunque cabe destacar que algunos autores han puesto en duda la neurotoxicidad específica de la rotenona cuando es administrada de forma sistémica. En cualquier caso, no hay que perder de vista que en estos trabajos el modo de administración de la rotenona varía notablemente, lo cual podría explicar en gran parte las significativas diferencias observadas de un modelo a otro.

Existen algunos fármacos que se han probado como neuroprotectores en este modelo. Una propuesta ha sido la de fomentar la autofagia lisosomal. Esto pudiera ser benéfico en algunos desordenes neurodegenerativos como la EP, en los cuales existe una acumulación de agregados proteicos y un mal funcionamiento mitocondrial. Para ello, se ha usado a la rapamicina que incrementa la autofagia y se ha reportado que presenta un efecto neuroprotector contra la muerte por apoptosis inducida por rotenona (15). Otro agente neuroprotector es el ácido valpróico (VPA), un inhibidor de desacetilasas de histonas. El VPA disminuye al marcador tirosina hidroxilasa en la substantia nigra y el estriado y contrarresta la muerte de las NDA inducida por la administración de rotenona (16); el hecho de que el VPA sea un inhibidor de desacetilasas de histonas, sugiere la participación de un posible mecanismo epigenético o una regulación postrancricional de proteínas, lo cual lo hace muy interesante de ser estudiado.

PARAQUAT

El paraquat (1,1-dimetil-4,4-dipiridinio o PQ) se produjo por primera vez con fines comerciales en 1961 y es un compuesto utilizado ampliamente como herbicida cuaternario de amonio, principalmente para el control del pasto y la maleza. Este agente es altamente venenoso para los humanos si es ingerido. Otros miembros de esta clase incluyen al diquat, al ciperquat, etc., y todos son reducidos a un ión radical, lo que genera radicales superóxido que reaccionan rápidamente con membranas lipídicas insaturadas. Actualmente todavía es uno de los herbicidas más utilizados alrededor del mundo, aun cuando existe una gran cantidad de reportes que lo relacionan con la EP. Por ejemplo, en Taiwán se reportó que el riesgo de contraer la EP en agricultores fue mayor entre aquellos que aplicaron PQ y otros plaguicidas que en aquellos que usaron varios plaguicidas, pero no

PQ. En Canadá se encontró que la exposición al PQ estuvo asociada con la EP (17); mientras que un estudio reciente de una población del este de Texas reveló un elevado riesgo de contraer EP por la exposición a plaguicidas orgánicos tales como la rotenona y el PQ (18).

Diversos estudios han demostrado que el PQ induce algunos síntomas de la EP en animales de experimentación. Su administración, mediante inyecciones directas en el cerebro, daña principalmente NDA en la SNpc. La estructura química del PQ es similar a la de la neurotoxina dopaminérgica MPP⁺, por lo que también pertenece a la clase de compuestos capaces de inducir daño mitocondrial, aumentando la producción de ERO y generado estrés oxidativo.

Por otro lado, ahora se sabe que la generación de ERO inducida por PQ activa a la cinasa ASK1 y consecuentemente a las MAP cinasas JNK y p38 (19). Por lo que recientemente se ha propuesto la existencia otro evento importante en el mecanismo de acción de PQ, que no se encuentra directamente relacionado con la inhibición del complejo I mitocondrial y que es la inducción de ASK1 vía el sistema de xantina/xantina oxidasa. De modo que se ha considerado la posibilidad de usar a ASK1 como blanco terapéutico para prevenir la neurodegeneración en la EP. Para ello se han empleado antioxidantes como la vitamina E y tratando de activar al factor de transcripción Nrf-2 que induce enzimas antioxidantes, en este caso se ha estudiado el aumento de la tiorredoxina (Trx). Tanto la vitamina E como la Trx bloquean el efecto de PQ sobre ASK1 y la inducción de p38 y JNK protegiendo contra algunos de los efectos deletéreos de la EP (20).

6-OHDA (6-Hidroxidopamina)

La 6-OHDA es la neurotoxina que más se utiliza en el desarrollo de modelos experimentales de EP en roedores. Cuando es administrada por vía sistémica se ha observado que destruye las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos, pero carece de acción tóxica a nivel del sistema nervioso central. En contraste, la inyección intracerebral de 6-OHDA produce una destrucción selectiva de neuronas catecolaminérgicas y esta especificidad es debida a su alta afinidad por el sistema de transporte de catecolaminas. Ungersted, en 1968, (21) estableció por primera vez que la inyección estereotáxica de 6-OHDA a animales en el haz nigroestriado inducía una lesión selectiva de las NDA. Aunque existen estudios que demuestran que la 6-OHDA posee una potente acción inhibitoria de la cadena respiratoria mitocondrial, la muerte de

NDA inducida por esta toxina está ligada fundamentalmente a la formación de H_2O_2 y radicales libres como el radical hidroxilo o algunas quinonas que se producen durante su eliminación (22). Así, se ha encontrado que sustancias antioxidantes como la vitamina E, la N-acetil-cisteína, o inhibidores de la MAO y quelantes de hierro como la desferroxamina, protegen a las NDA de la acción neurotóxica de la 6-OHDA.

Las alteraciones neuroquímicas producidas por la 6-OHDA en el estriado se caracterizan por un descenso muy importante de los niveles de DA, serotonina, encefalina y sustancia P, mientras que los niveles estriatales de neurotensina aumentan. Desde el punto de vista histológico, en general la lesión de sistema nervioso inducida por 6-OHDA es más extensa que la que se da en los pacientes parkinsonianos, en los que algunas neuronas se salvan de la muerte. Por ello, algunos autores han propuesto utilizar la inyección de 6-OHDA directamente en la SNpc como modelo de EP, evitando de esta manera la afectación de las NDA del área (23). Desde el punto de vista conductual, los animales con lesión unilateral de la SNpc inducida por inyección directa en el haz nigroestriado, o en la SNpc, presentan, inmediatamente después de la cirugía y de forma espontánea, una conducta rotatoria ipsilateral a la lesión que se mantiene durante las 24 horas siguientes. Esta conducta rotatoria es debida al desequilibrio que existe entre el contenido de DA en el estriado homolateral y contralateral a la lesión dopaminérgica, de tal forma que el animal tiende a rotar siempre hacia el lado contralateral al estriado dominante. La lesión unilateral de la SNpc induce cambios neuroquímicos y electrofisiológicos en el sistema nigroestriado que intentan compensar el déficit de DA inducido por la pérdida de NDA. Por ejemplo, se ha descrito una inducción y activación de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas) en las NDA todavía funcionales, así como un aumento en la cantidad de DA liberada en el estriado por las terminales dopaminérgicas existentes y un incremento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales postsinápticos. Este incremento aparece únicamente cuando la pérdida de NDA es superior al 90 % y tiene lugar al cabo de cuatro semanas de haberse producido la denervación dopaminérgica. En general, la mayoría de los trabajos publicados demuestran que el fenómeno de hipersensibilidad por denervación, o "up-regulation", afecta preferentemente a los receptores dopaminérgicos estriatales D_2 mientras que el número de receptores D_1 incrementa levemente o no se modifica. Sin embargo, aunque algunos cambios neuroquímicos son ya evidentes con lesiones dopaminérgicas

parciales, la actividad de las NDA de la SNpc únicamente incrementa cuando la disminución de la DA estriatal es superior al 96 %. En estos casos, la frecuencia de descarga de las NDA de la SNpc se incrementa, pero no es suficiente para compensar el déficit de DA.

Los animales con lesión unilateral de la vía nigroestriada presentan una rotación ipsilateral a la lesión cuando se les administran sustancias que aumentan la liberación de DA, tales como la amfetamina y muestran una rotación contralateral al lado de la lesión cuando reciben agonistas dopaminérgicos como la apomorfinina. Esta rotación se relaciona con el incremento del número de receptores dopaminérgicos que existe en el estriado homolateral a la lesión como consecuencia de la denervación (24). Por el contrario, la amfetamina, al incrementar la liberación de DA en las terminales presinápticas, aumenta la concentración de este neurotransmisor únicamente en estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado contralateral. La administración de 6-OHDA en la SNpc o en el haz nigroestriado, induce una degeneración estática, rápida y casi completa de las NDA de la SNpc. Esta degeneración difiere sustancialmente de la que ocurre en la EP, en la que hipotéticamente la pérdida neuronal es lenta y progresiva. Por ello, en los últimos años este modelo está siendo utilizado como una forma rápida y eficaz de degeneración neuronal dopaminérgica. En contraste, la inyección estriatal única de 6-OHDA (20 μ g), o en infusión continua, produce una atrofia y degeneración lenta y progresiva de las NDA de la SN homolateral. En este caso, la degeneración neuronal no parece ser debida a un transporte axonal retrógrado de la neurotoxina desde el estriado hacia las NDA nigrales, sino que corresponde a una degeneración neuronal retrógrada secundaria a la lesión de terminales dopaminérgicas nigroestriadas. Este modelo resulta muy interesante por varias razones: en primer lugar representaría un modelo de EP en un estadio inicial de la enfermedad, ya que la pérdida neuronal que se obtiene oscila entre un 60-70 %; por otro lado, permite obtener una lesión parcial nigroestriada y por tanto puede ser el modelo ideal a utilizar para el estudio del efecto neuroprotector de determinadas sustancias; por último, el hecho de que la inyección estriatal de 6-OHDA induzca una degeneración progresiva de las NDA de la SNpc apunta hacia la posibilidad de que en la EP la degeneración primaria ocurra a nivel de las terminales dopaminérgicas estriatales y secundariamente exista una degeneración retrógrada de las NDA de la SNpc. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que neurotoxinas dopaminérgicas

como la 6-OHDA y el MPTP, cuando se administran por vía sistémica o intracerebroventricular, resultan más tóxicas sobre las terminales dopaminérgicas que sobre el mismo soma neuronal (4)

PARTICIPACIÓN DE LA MITOCONDRIA EN LA EP: PAPEL DE PINK1 Y PARKINA

Como se ha visto a lo largo de esta revisión, la mayoría de los modelos descritos se relacionan con la inhibición del complejo I mitocondrial y la generación de estrés oxidativo, por lo que queda claro que estos factores, mitocondria y estrés oxidativo, juegan un papel importante durante el establecimiento de la EP. Al respecto existen una gran cantidad de estudios, pero aquí nos enfocaremos solamente a mencionar algunos de los hallazgos más recientes.

La mitocondria es el organelo encargado de oxidar a la glucosa para producir energía en forma de ATP. Para ello utiliza al oxígeno que respiramos y produce H₂O metabólica. No obstante, se sabe que del 0.1 al 0.5 del oxígeno consumido no genera agua, sino que se fuga en forma de radicales libres, en particular radical superóxido. Es claro que si la mitocondria está dañada, la generación de ERO puede aumentar considerablemente.

Se ha establecido que la mutación en una enzima mitocondrial llamada cinasa 1 inducida por PTEN (del inglés PTEN-induced kinase-1 o PINK1), reproduce un estadio parecido a la EP, con una función mitocondrial alterada (25). PINK1 es una proteína que se encuentra anclada en la membrana externa mitocondrial, exponiendo su dominio de cinasa hacia el citosol. Se ha mencionado que PINK1 tiene una función importante en la regulación del control de calidad y el deshecho de las mitocondrias defectuosas, vía macro-autofagia (26). PINK1 se acumula rápidamente (en minutos) en las mitocondrias que han perdido el potencial electroquímico, ya sea como respuesta a diversos agentes tóxicos o durante el envejecimiento. De esta manera, las células deficientes en PINK1 son incapaces de deshacerse de las mitocondrias dañadas o inservibles y tienden a acumularlas. Cuando esto sucede, permanecen en la célula mitocondrias que, además de ser deficientes en la producción de ATP, tienen aumentado su nivel de generación de ERO. Por el contrario, una sobre-expresión de PINK1 promueve la pérdida de mitocondrias sanas.


Por otro lado, también existe un reciente cúmulo de estudios sobre la parkina. Se sabe que el gen que codifica para esta proteína está mutado en la forma hereditaria de la EP. La parkina es una ubiquitina ligasa que marca sustratos para

su degradación vía proteosoma. Esta proteína se encuentra en el citosol, pero se transloca a la mitocondria cuando las células se tratan con agentes despolarizantes. También se ha reportado que las células que carecen de parkina son incapaces de deshacerse de las mitocondrias defectuosas. En este punto resulta interesante mencionar que el reclutamiento de la parkina a las mitocondrias despolarizadas depende de la presencia de PINK1, aunque no se ha encontrado que exista una interacción directa entre estas proteínas, ya que la parkina no se fosforila por la acción de PINK1 y a su vez, PINK1 tampoco se ubiquitina por acción de la parkina, por lo que este mecanismo aún queda por resolverse (25).

Otro punto interesante que también queda por estudiar, es cómo la parkina desencadena el evento de macro-autofagia. Se sabe que dicho evento es regulado negativamente por una cascada de señalización que involucra a PI3K/AKT y a la cinasa TOR, ya que la inhibición farmacológica de TOR, usando rapamicina, logró suprimir los efectos de parkina y PINK1 en *Drosophila*, sin embargo, el papel exacto que juegan estas moléculas aún se desconoce.

CONCLUSIONES

En resumen, los modelos neurotóxicos analizados en esta revisión apuntan hacia un daño mitocondrial como un factor importante durante el establecimiento de la EP, por lo que el estudio de este organelo y el papel de las proteínas antes mencionadas en la alteración de su función, seguirá siendo un tema prioritario a desarrollarse en los próximos años. Mientras tanto, la visión obtenida hasta ahora por los trabajos realizados a nivel experimental dan pauta para el desarrollo de estrategias terapéuticas orientadas a la prevención de la pérdida del metabolismo energético en el sistema nervioso, así como a la prevención de los efectos deletéreos provocados por el estrés oxidativo y la posible recuperación del tejido nervioso dañado a través de terapias de implantación de células indiferenciadas o con señales para diferenciarse en neuronas. En todo caso, los avances en la investigación bioquímica y molecular abrirán, en los próximos años, importantes y novedosas líneas sobre las alteraciones que se estén llevando a cabo a nivel mecanístico en los modelos para la EP, con las consecuentes implicaciones terapéuticas mayores.

Agradecimientos. Este trabajo fue apoyado por el CONACYT con el número del proyecto CB-2006-1-59659. A. Alarcón Aguilar es becaria de CONACYT para estudios de Posgrado. 

REFERENCIAS

1. Schapira AH, Olanow AW (2004) Neuroprotection in Parkinson disease: mysteries, myths, and misconceptions. *JAMA* 291:358-364.
2. Eriksen JL, Wszolek Z, Petrucelli L (2009) Molecular Pathogenesis of Parkinson Disease. *Arch Neurol* 62:353-357.
3. Lim SY, Fox SH, Lang AE (2009) Overview of the extranigral aspects of Parkinson disease. *Arch Neurol* 66:167-172.
4. Dauer W, Przedborski S (2003) Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 39: 889-909.
5. Aron L, Klein P, Pham TT, Kramer ER, Wurst W, Klein R (2010) Pro-survival role for Parkinson's associated gene DJ-1 revealed in trophically impaired dopaminergic neurons. *Plos Biol* 8:1000349.
6. Chio JS, Park C, Jeong JW (2009) AMP-activated protein kinase is activated in Parkinson's disease models mediated by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Biochem Biophys Res Commun* 391:147-151.
7. Przedborski S, Vila M (2003) The 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model: a tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 991:189-198.
8. Blesa J, Juri C, Collantes M, Peñuelas I, Prieto E, Iglesias E, Martí-Climent J, Arbizu J, Zubieta JL, Rodríguez-Oroz MC, García-García D, Richter JA, Cavada C, Obeso JA. (2010) Progression of dopaminergic depletion in a model of MPTP-induced Parkinsonism in non-human primates. An (18)F-DOPA and (11)C-DTBZ PET study. *Neurobiol Dis*. [Epub ahead of print] doi:10.1016/j.nbd.2010.03.006
9. Schildknecht S, Pörtl D, Nagel DM, Matt F, Scholz D, Lotharius J, Schmieg N, Salvavargas A, Leist M. (2009) Requirement of a dopaminergic neuronal phenotype for toxicity of low concentrations of 1-methyl-4-phenylpyridinium to human cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 241:23-35.
10. Pothakos K, Kurz MJ, Lau YS (2009) Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration. *BMC Neurosci* 10:16.
11. Zhang X, Zhou JY, Chin MH, Schepmoes AA, Petyuk VA, Weitz KK, Petritis BO, Monroe ME, Camp DG, Wood SA, Melega WP, Bigelow DJ, Smith DJ, Qian WJ, Smith RD (2010) Region-specific protein abundance changes in the brain of MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *J Proteome Res* 9:1496-1509.
12. Nicklas WJ, Saporito M, Basma A, Geller HM, Heikkilä RE (1992) Mitochondrial mechanisms of neurotoxicity *Ann N Y Acad Sci* 648:28-36.
13. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT (2000) Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 3:1301-1306.
14. Dukes AA, Korwek KM, Hastings TG (2005) The effect of endogenous dopamine in rotenone-induced toxicity in PC12 cells. *Antioxid Redox Signal* 7:630-638.
15. Pan T, Rawal P, Wu Y, Xie W, Jankovic J, Le W (2009) Rapamycin protects against rotenone-induced apoptosis through autophagy induction. *Neuroscience* 164:541-551.
16. Monti B, Gatta V, Piretti F, Raffaelli SS, Virgili M, Contestabile A (2010) Valproic acid is neuroprotective in the rotenone rat model of Parkinson's disease: involvement of alpha-synuclein. *Neurotox Res* 17:130-141.
17. Hertzmann C, Wiens M, Bowering D, Snow B, Calne D (1990) Parkinson's disease: a case control study of occupational and environmental risk factors. *Am J Ind Med* 17:349-355.
18. Dhillon AS, Tarbuton GL, Levin JL, Plotkin GM, Lowry LK, Nalbome JT, Shepherd S (2008) Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas. *J Agromedicine* 13:37-48.
19. Hattori K, Naguro I, Runchel C, Ichijo H (2009) The roles of ASK family proteins in stress responses and diseases. *Cell Commun Signaling* 7:9.
20. Niso-Santano M, González-Polo RA, Bravo-San Pedro JM, Gómez-Sánchez R, Lastres-Becker I, Ortiz-Ortiz MA, Soler G, Morán JM, Cuadrado A, Fuentes JM. (2010) Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 is a key factor in paraquat-induced cell death: Modulation by the Nrf2/Trx axis. *Free Radic Biol Med* 48:1370-1381.
21. Ungerstedt U. (1968) 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 5:107-110.
22. Przedborski S, Ischiropoulos H (2005) Reactive oxygen and nitrogen species: weapons of neuronal destruction in models of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal* 7:685-693.
23. Alvarez-Fischer D, Henze C, Strenzke C, Westrich J, Ferger B, Höglinger GU, Oertel WH, Hartmann A (2008) Characterization of the striatal 6-OHDA model of Parkinson's disease in wild type and a-synuclein-deleted mice. *Exp Neurol* 210:182-193.
24. O'Keefe G, Barker RA, Caldwell MA (2009) Dopaminergic modulation of neurogenesis in the subventricular zone of the adult brain. *Cell Cycle* 15:2888-2894.
25. Abeliovich A (2010) Parkinson's disease Mitochondrial damage control. *Nature* 463:744-745.
26. Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, Suen DF, Gautier CA, Shen J, Cookson MR, Youle RJ (2010) PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol* 8:e1000298.