ACTUALIZACIÓN SOBRE NEURODEGENERACIÓN

Laboratorio de Fisiología de la Conducta

Febrero-Marzo 2005

SERIES

1. INTRODUCCIÓN

2. PATOGENIA MOLECULAR
   2da. Parte

3. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

4. FUTURO EN PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICA

BIBLIOGRAFÍA:

* Series Neurodegeneration
  J. Clinical Investigation 111, Jan-Mar 2003

* Special Section: Brain Disease
  Science 302, 31 Oct 2003

* Neurodegeneration
  Nature Medicine 10, Jul 2004
  Nature Reviews Neuroscience 6, Jan 2005

* Genomic Medicine. Mechanisms of Disease
  NEJM 348, 3 April 2003

* *Encyclopedia of Life Sciences 2000*

II

MECANISMOS PATOGÉNICOS MOLECULARES

2da. parte

Neurodegeneración
DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL
ESTRÉS OXIDATIVO
microglia
apoptosis
?
agregación de proteínas
degradación de proteínas
necrosis
Inflamación
Metales
Excitotocicidad

1. MUERTE NEURONAL

2. ESTRÉS OXIDATIVO Y NITRATIVO

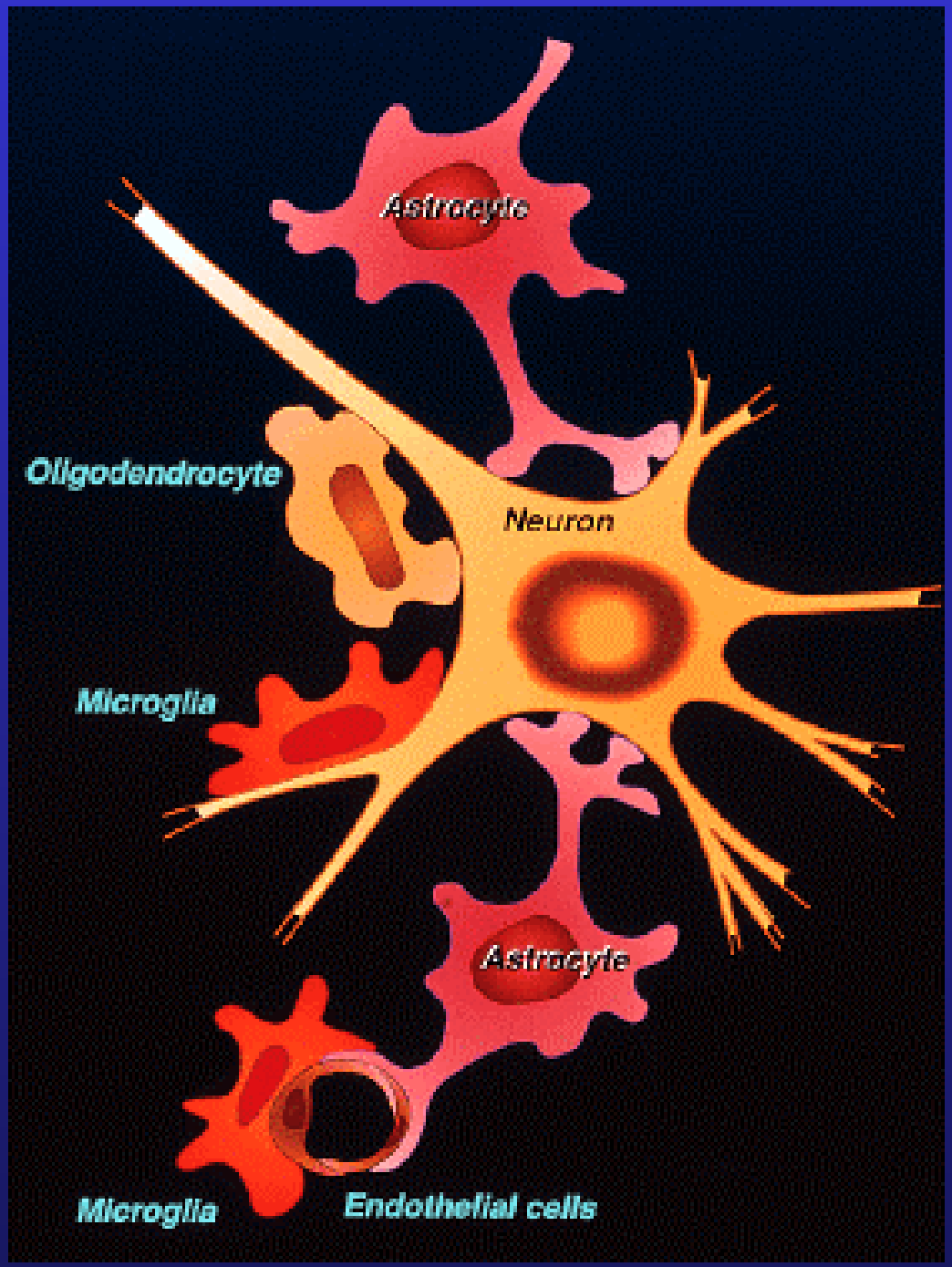
3. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

4. AGREGACIÓN DE PROTEINAS

5. DISFUNCIÓN DEL SISTEMA UBIQUITIN-PROTEOSOMA

6. OTROS

Tipos de células en el cerebro



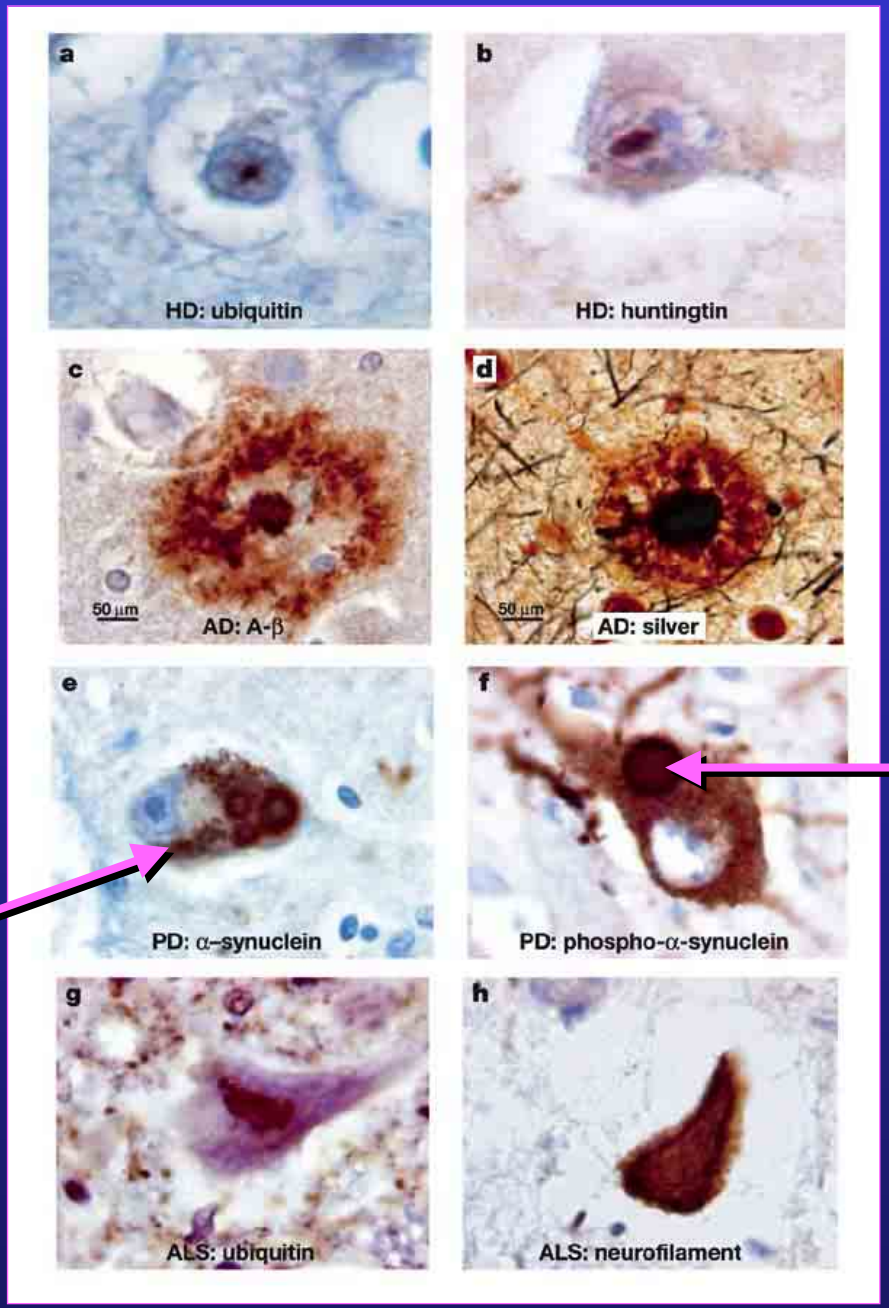
AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS

Enfermedades tan diversas
como Alzheimer, Parkinson, Huntington y ALS
tienen en común:

AGREGACIÓN Y DEPÓSITO DE UNA PROTEÍNA ANORMAL

La expresión de esas proteínas en animales transgénicos sirve de modelo de enfermedad

INCLUSIONES CELULARES
(depósitos de proteínas malplegadas)



Intra-nucleares

Extra-celulares

α-synuclein

Neuromelanina
(Granulaciones finas)
Sustancia Negra

Intra-citoplasmáticas

PROTEÍNAS ANORMALES

ß-amiloide - **ALZHEIMER**

Tau
- **ALZHEIMER**
- Pick's disease / Frontotemporal dementia
- Corticobasal degeneration
- Progressive supranuclear palsy
- FTDP-17

Synuclein
- **PARKINSON**
- Multiple system atrophy
  - Striatonigral degeneration
  - Olivopontocerebellary atrophy
  - Shy-Drager syndrome

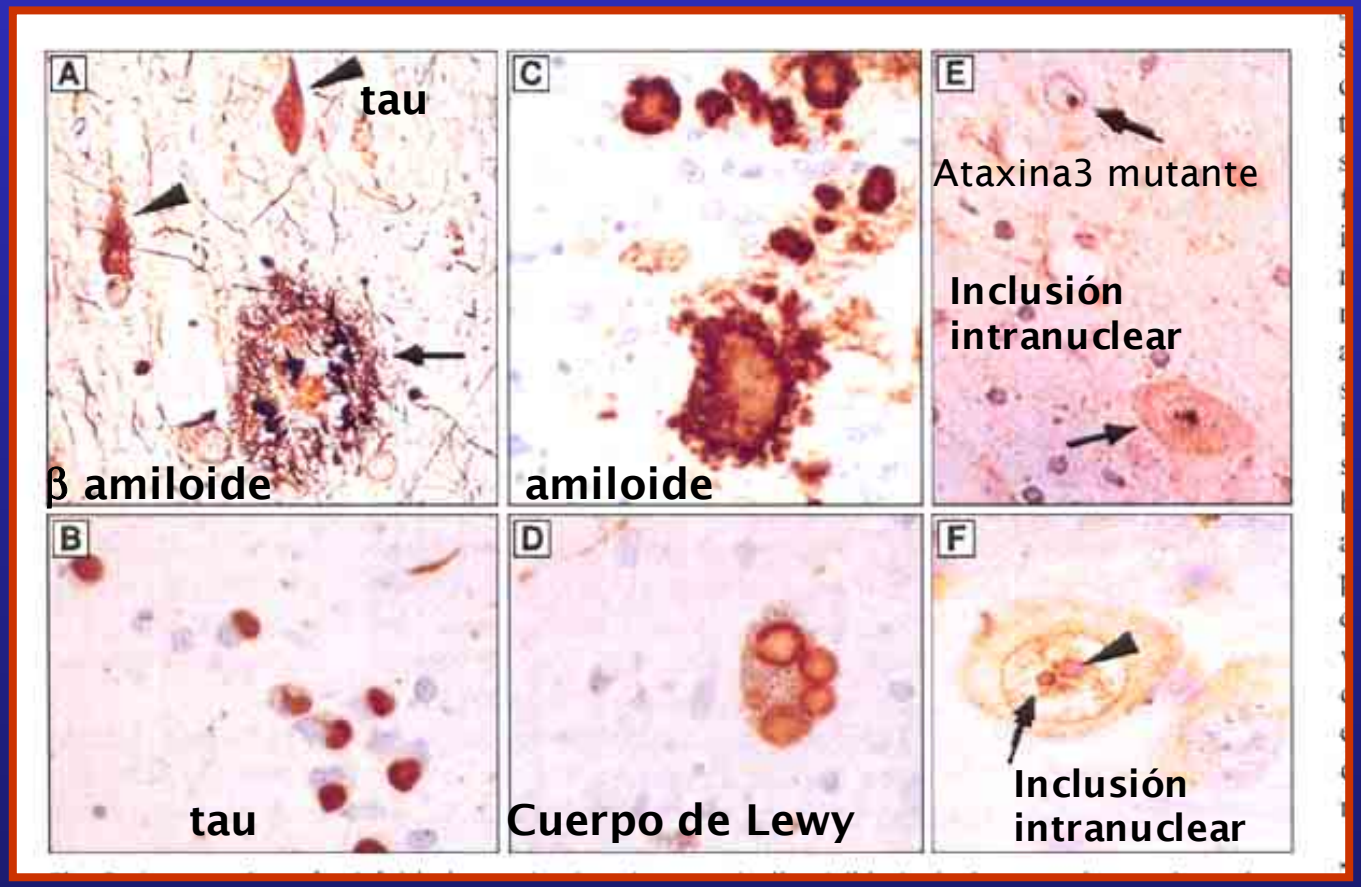
Repeticiones Trinucleotidos
- **HUNTINGTON**
- Spinocerebellar ataxias
- Friedreich's ataxia

Table 1. Features of neurodegenerative disorders characterized by aggregation and deposition of abnormal protein.

Disease	Protein deposits	Toxic protein	Disease genes	Risk factor
Alzheimer's disease	Extracellular plaques	Aβ	APP* Presenilin 1† Presenilin 2†	apoE4 allele
	Intracellular tangles	tau		
Parkinson's disease	Lewy bodies	α-Synuclein	α-Synuclein* Parkin† UCHL1†	tau linkage
Prion disease	Prion plaque	PrP^{Sc}	PRNP*	Homozygosity at prion codon 129
Polyglutamine disease	Nuclear and cytoplasmic inclusions	Polyglutamine-containing proteins	9 different genes with CAG repeat expansion*	
Tauopathy	Cytoplasmic tangles	tau	tau*	tau linkage
Familial amyotrophic lateral sclerosis	Bunina bodies	SOD1	SOD1*	

*Pathogenic mutations are associated with a toxic gain of function. †Pathogenic mutations are associated with a loss of function.

Inclusiones de proteínas anormales



CUERPOS DE INCLUSIÓN

* Estructuras dentro de la neurona visibles con MO y compuestas de:

  Fibrillas de amiloide
  Proteínas chaperonas
  Componentes del Sistema Ubiquitin Proteasoma

* Permiten la identificación anatomopatológica de algunas enfermedades ND

¿ Son causa o consecuencia
de la enfermedad

o

evidencia
de NEUROPROTECCIÓN?

La función normal de una proteína requiere que adopte

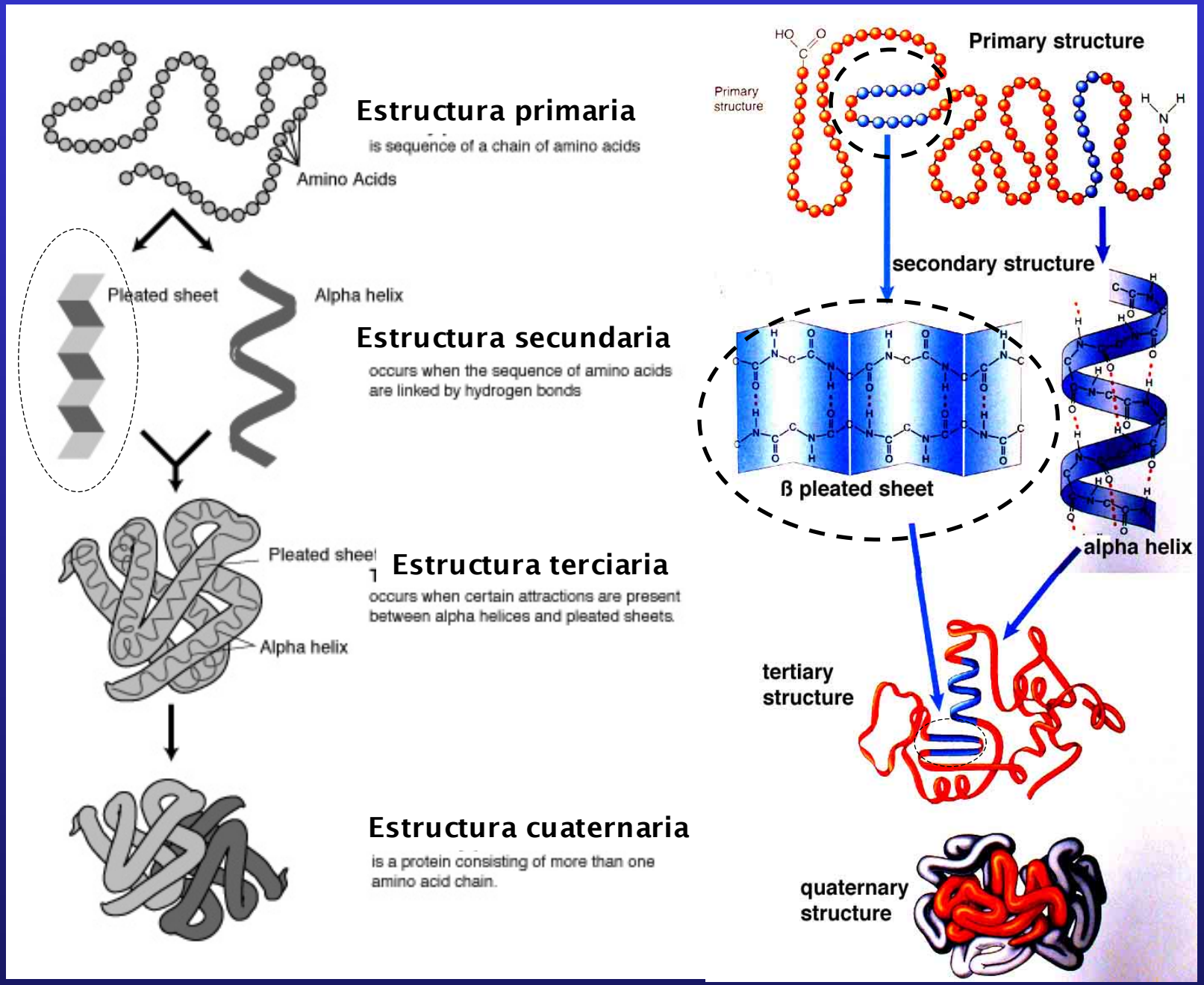
UNA
CONFORMACIÓN PARTICULAR

entre muchas posibles,
pero incorrectas

* La **FUNCIÓN** de la proteína está determinada por su **FORMA** (3D)

* La FORMA está determinada por su **ESTRUCTURA PRIMARIA**

* La ESTRUCTURA PRIMARIA está determinada por la SECUENCIA DE NUCLEÓTIDOS (**ADN**)


Amino Acids
Estructura primaria
is sequence of a chain of amino acids
Pleated sheet
Alpha helix
Estructura secundaria
occurs when the sequence of amino acids are linked by hydrogen bonds
Pleated sheet
Alpha helix
Estructura terciaria
occurs when certain attractions are present between alpha helices and pleated sheets.
Estructura cuaternaria
is a protein consisting of more than one amino acid chain.
Primary structure
Primary structure
secondary structure
ß pleated sheet
alpha helix
tertiary structure
quaternary structure

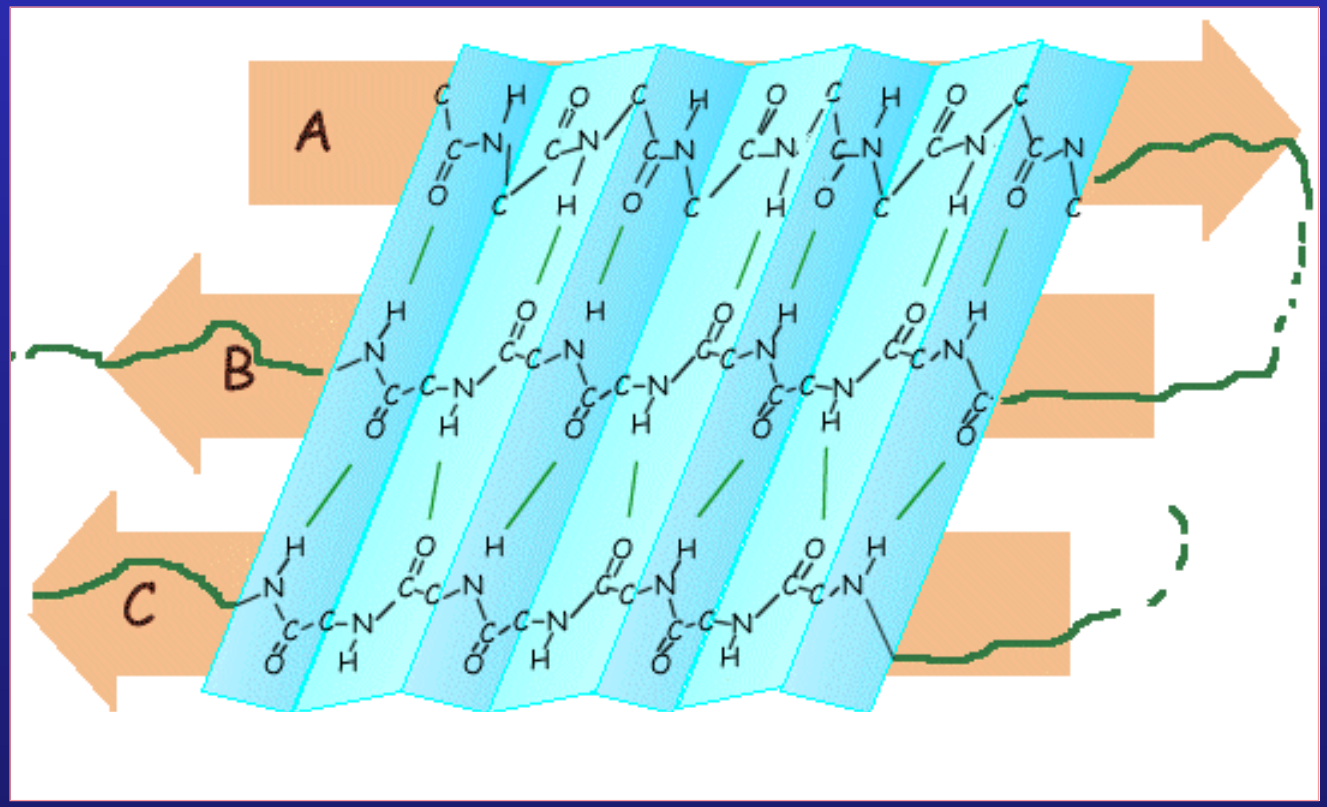
"Beta sheet"

Un tipo de estructura secundaria repetitiva encontrada en proteínas plegadas

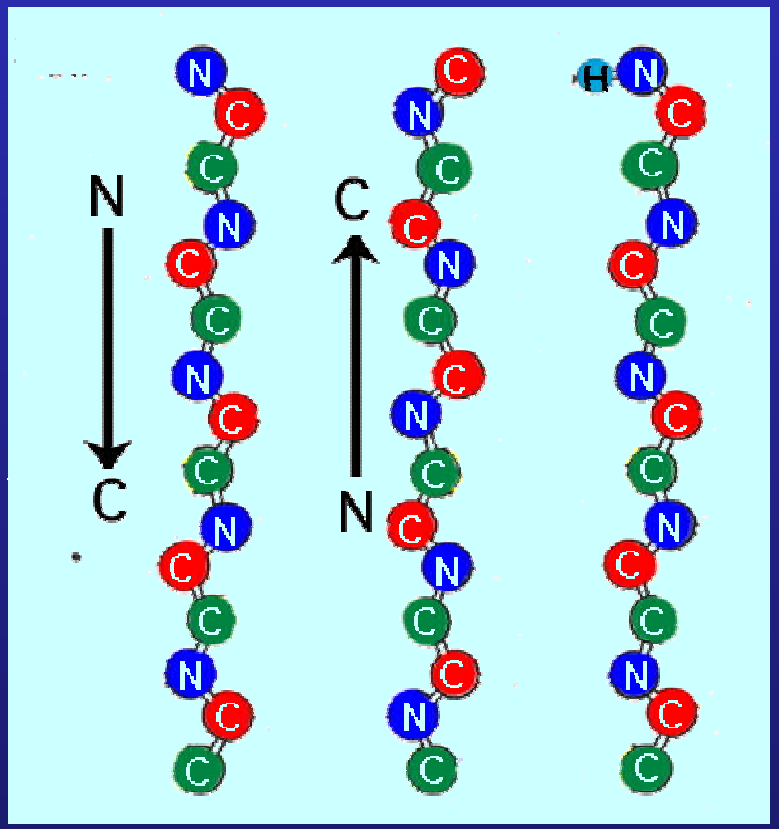
Se forman por alternativo doblez de las tiras unidas por puentes de hidrógeno entre aminoácidos y grupos carboxilos del enlace peptídico

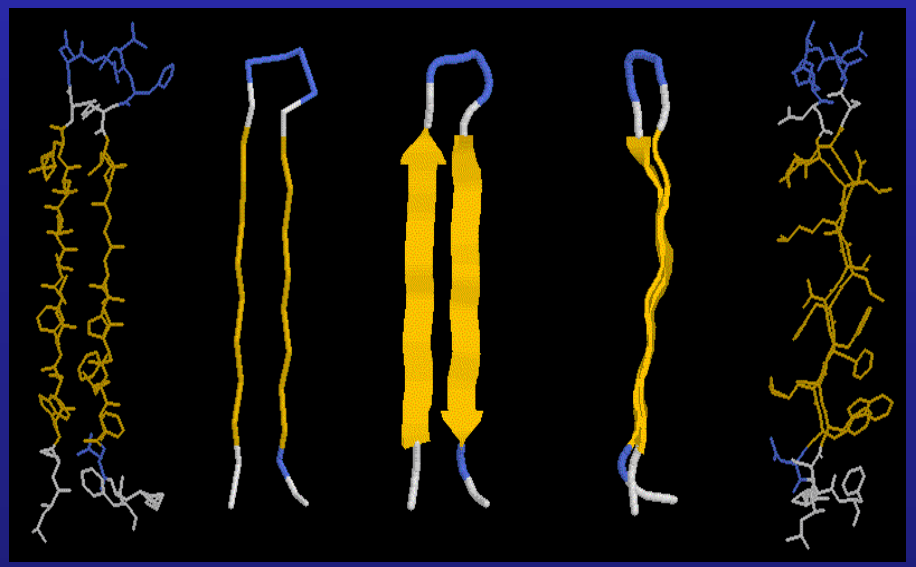
La formación de *beta sheets* puede ser estabilizada por oligomerización o agregación de proteínas

Estructura primaria de la proteína arreglada en una hoja plegada por uniones a través de puentes de hidrógeno dando una estructura secundaria



ESTRUCTURA SECUNDARIA *BETA SHEET*



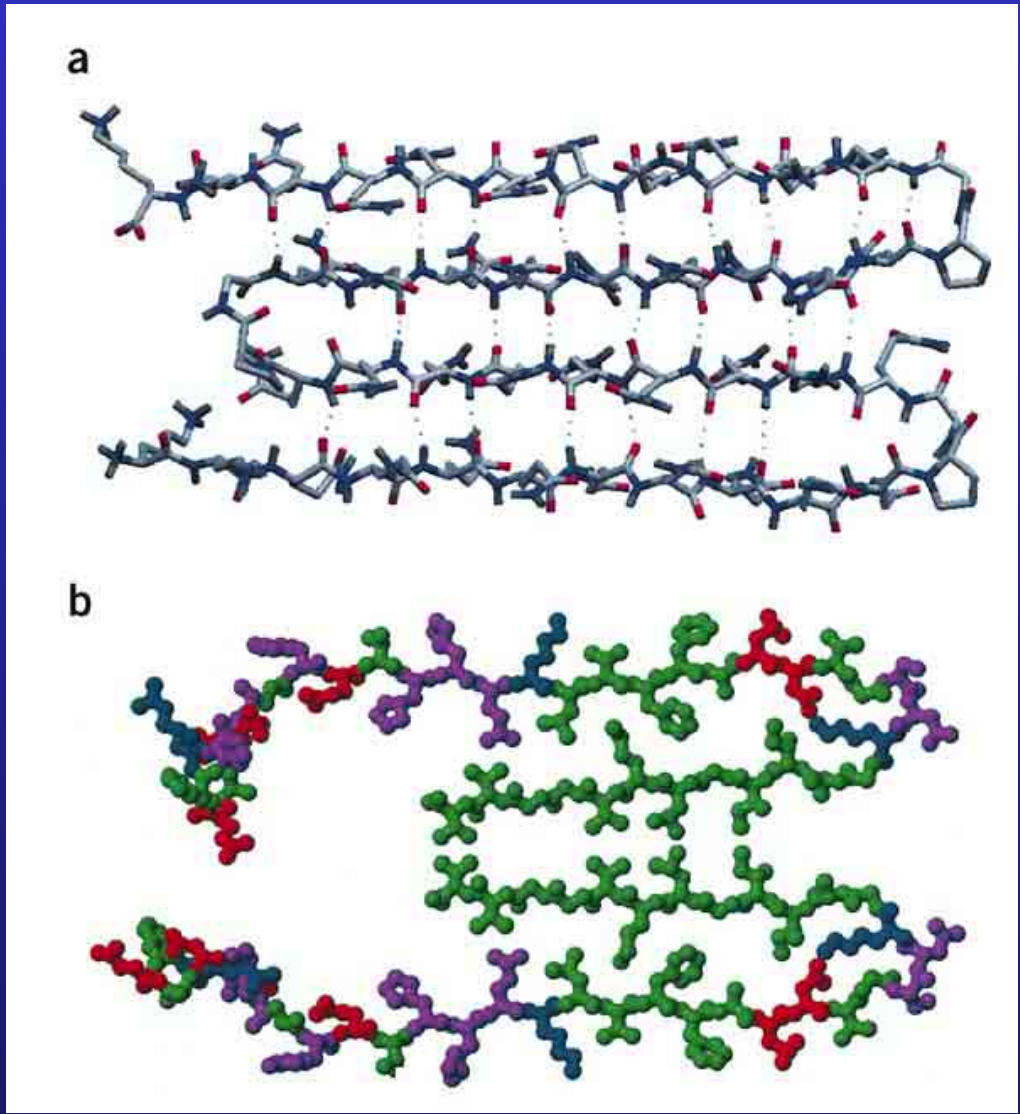


Modelo β *sheet*

Punto COMÚN en diferentes Enf. ND

PoliQ expandida Huntington

Aβ1-40 fibrilar Alzheimer



Proteínas mutadas
tienen
estructura primaria mutada

que
predispone a la
AGREGACIÓN!!

AGREGADOS PROTEÍCOS

Ensamblaje de una proteína anormal que resulta de dos o más proteínas monoméricas mal conformadas

Los agregados proteicos que forman fibrillas amiloides son a menudo insolubles

FIBRILLA AMILOIDE

Las fibrillas (10 nm x 0.1-10 μm) de:

- amiloide beta (Aβ)
- α synuclein
- poliglutamina o poliQ

Forman *beta sheets* que son comunes en las proteínas anormales en Enf. Neurodegenerativas relacionadas a AMILOIDE

AMILOIDE: que parece o contiene almidón

AMILOIDE
Sustancia translúcida que consiste en proteína en combinación con polisacáridos que es depositada en algunos órganos o tejidos animales en condiciones patológicas
Ej. En Alzheimer

INICIADORES DE AGREGACIÓN

1. MUTACIONES:
   estructura primaria ALTERADA

2. MODIFICACIONES COVALENTES:
   facilitan conversión a conformación ANORMAL

   oxidación: α synuclin,

   fosforilación: α synucleina y tau

   clivaje proteolítico: APP, *htt*

* Las proteínas relacionadas con estas Enf. ND, parecen NO estar plegadas normalmente

* Al aumentar la concentración de la proteína aumenta la probabilidad de AGREGACIÓN:

  Triplicación del locus de α synuclein

  Trisomia 21 tiene depósitos precoces de Aβ pues llevan copia extra del locus de APP

PROCESO DE AGREGACIÓN DE UNA PROTEÍNA

1. Inicio conformación ANORMAL

2. Formación de intermediarios OLIGOMÉRICOS
   difusibles, anulares, esféricos, fibrilares (MFAtómica)
   Se cree que son más tóxicos

3. Ensamblaje de estructuras PROTOFIBRILARES

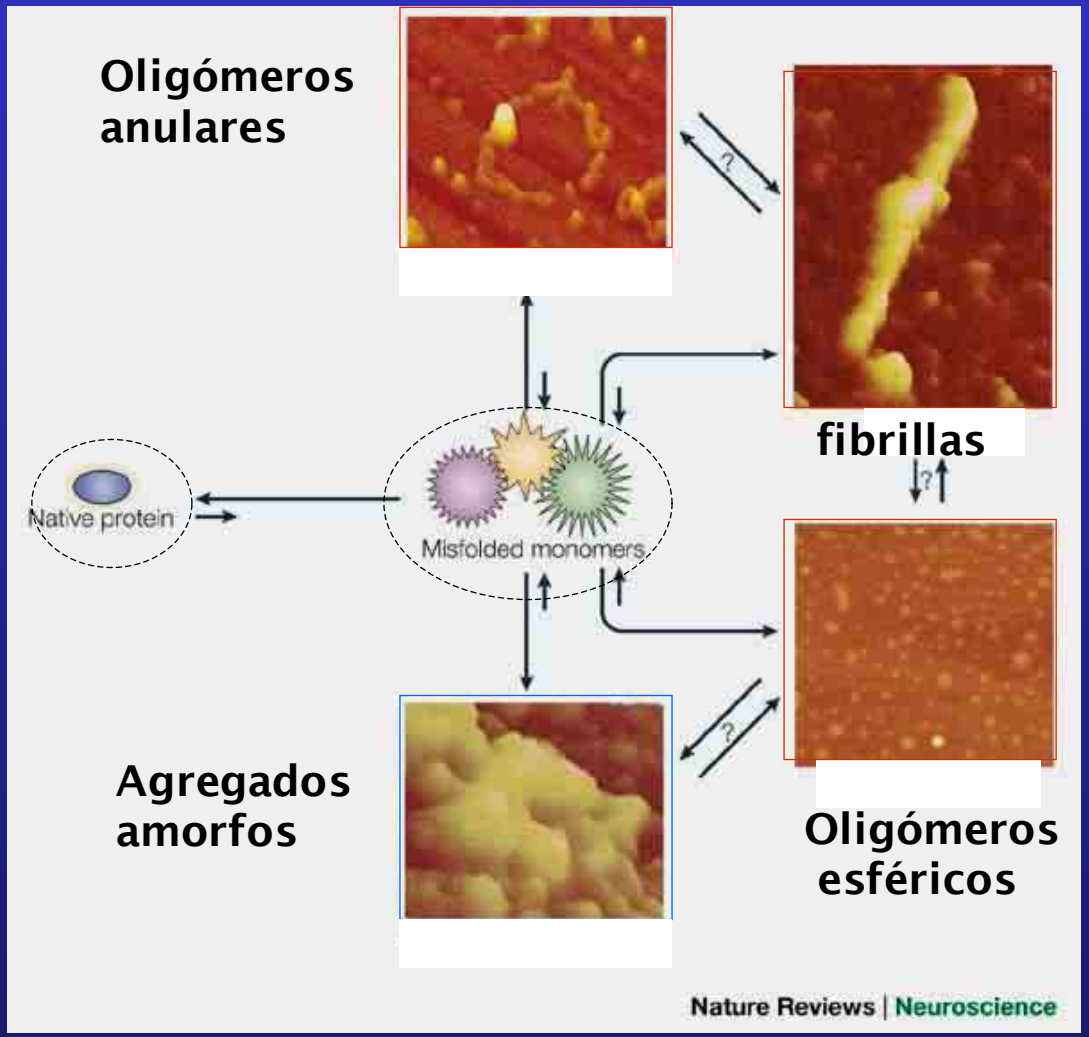
4. Ensamblaje de FIBRAS DE AMILOIDE (ME)

5. Ensamblaje de AGREGADOS O INCLUSIONES (visibles MO)
   Se cree que son protectores

INTERMEDIARIOS EN LA AGREGACIÓN

MONÓMEROS
OLIGÓMEROS
reactivos

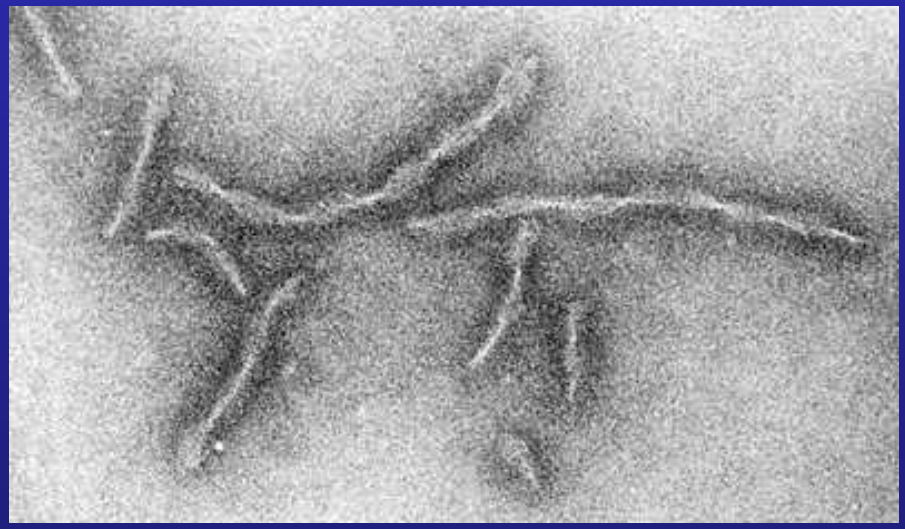
AGREGADOS
inertes
protectores?



Agregados
in vitro
Fragmentos
de htt

Imágenes con
microscopio
de fuerza atómica

ELEMENTOS PROTEICOS FIBRILARES



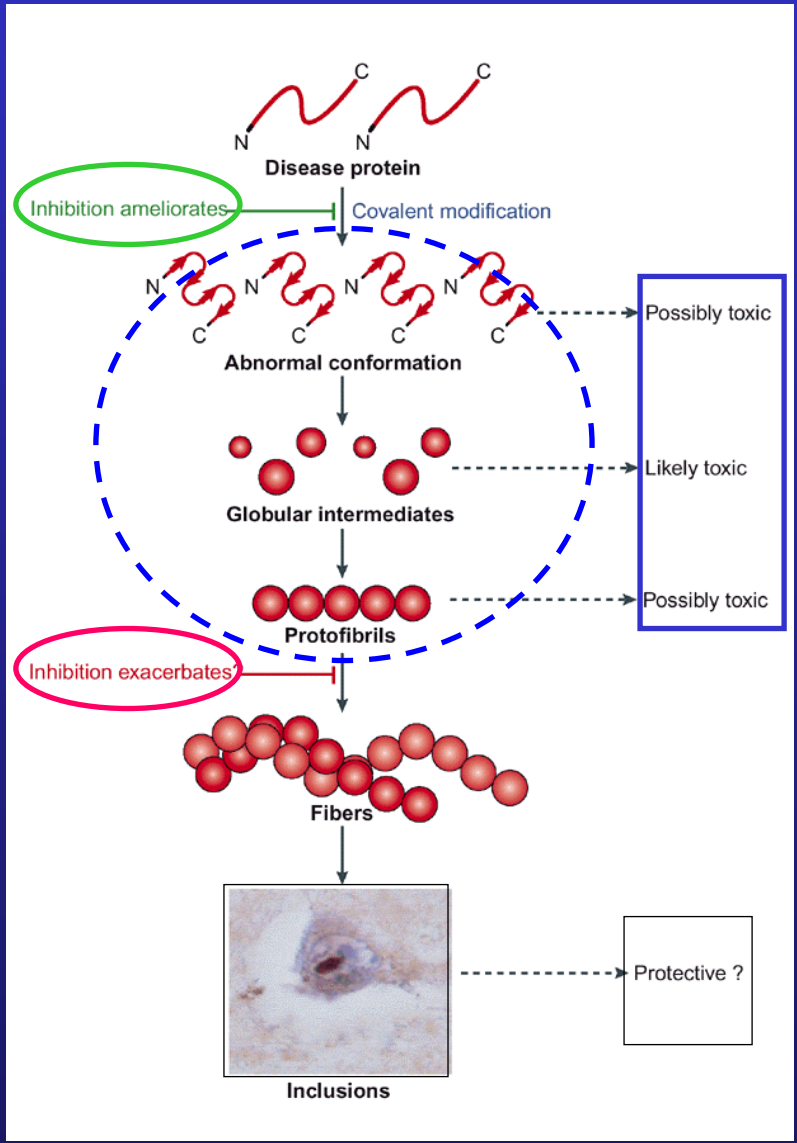
Proteínas anormales diferentes con lesiones de **amiloide fibrilar** tienen características bioquímicas comunes:

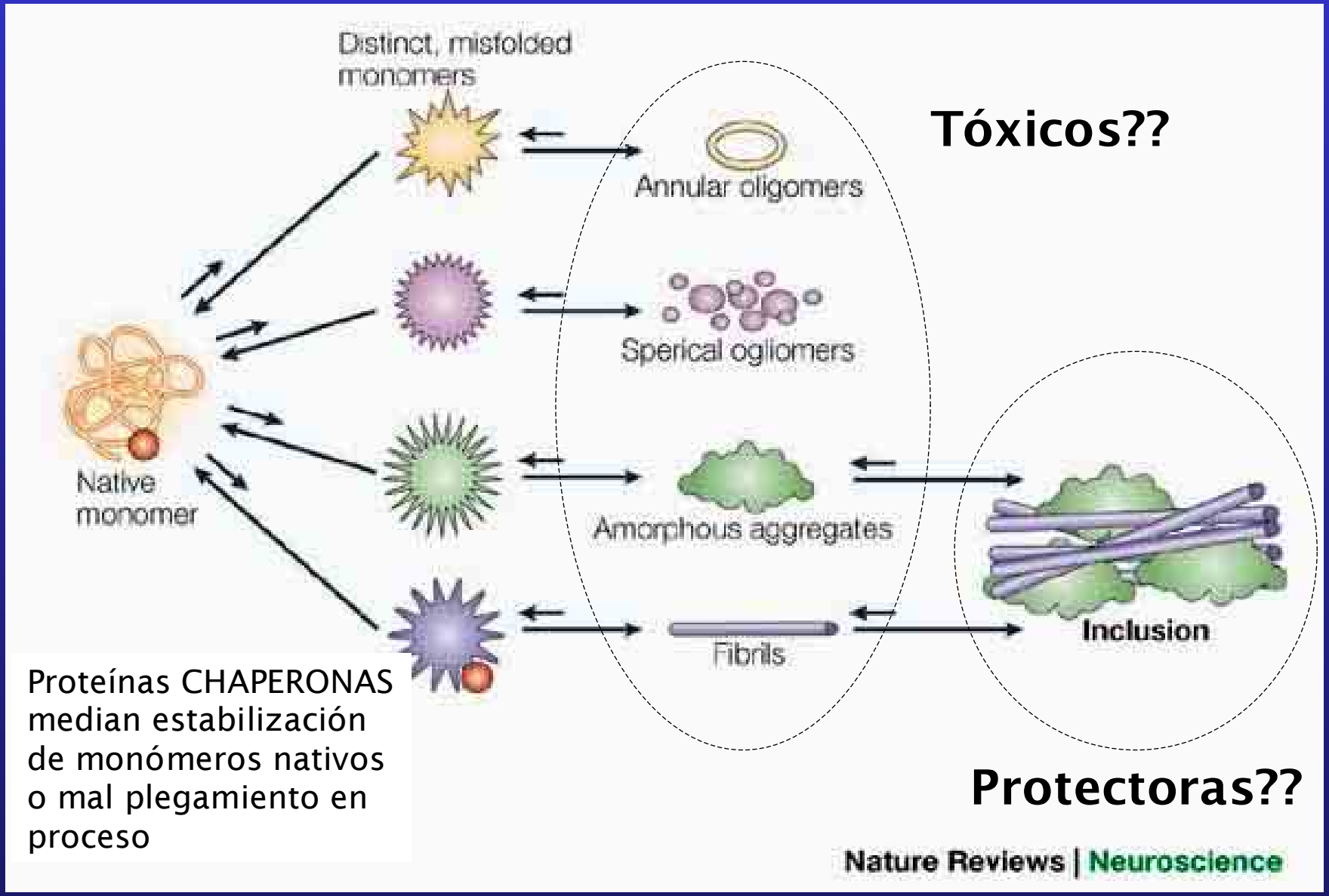
1. Insolubilidad al detergente
2. Alto contenido de *beta sheet*
3. Estructura beta cruzada
4. Resistencia a proteasa
5. Habilidad para enlazar colorantes lipofílicos como el Rojo Congo

PROCESO DE AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS

TOXICOS?

PROTECTORES?





Proteínas CHAPERONAS median estabilización de monómeros nativos o mal plegamiento en proceso

OLIGÓMEROS

Estructuras meta-estables
observadas en diversas proteínas anormales
que forman amiloide

Se cree son las principales ESTRUCTURAS TÓXICAS

Detectadas por UN MISMO ANTICUERPO
(poliQ, Aβ, α synuclein)

¿MECANISMO PATOGÉNICO COMÚN?

* Al inicio de una Enf. ND el cambio de conformación de una proteína podría llevar a “ganancia tóxica” de función

* Los intermediarios en su agregación podrían iniciar cascadas por interacción con otras proteínas que llevarían a disfunción neuronal

* Hay evidencias de que los Intermediarios pueden ser los REACTIVOS y los Agregados los INERTES!

Por Ej.

- Placas de amiloide en individuos SIN síntomas de Alzheimer

- Severidad de la demencia NO se correlaciona con la densidad de placas

- En Parkinson las células CON inclusiones son MÁS sanas que las vecinas

AGREGADOS DE PROTEÍNAS EN NEURODEGENERACIÓN

¿Son causa o consecuencia?

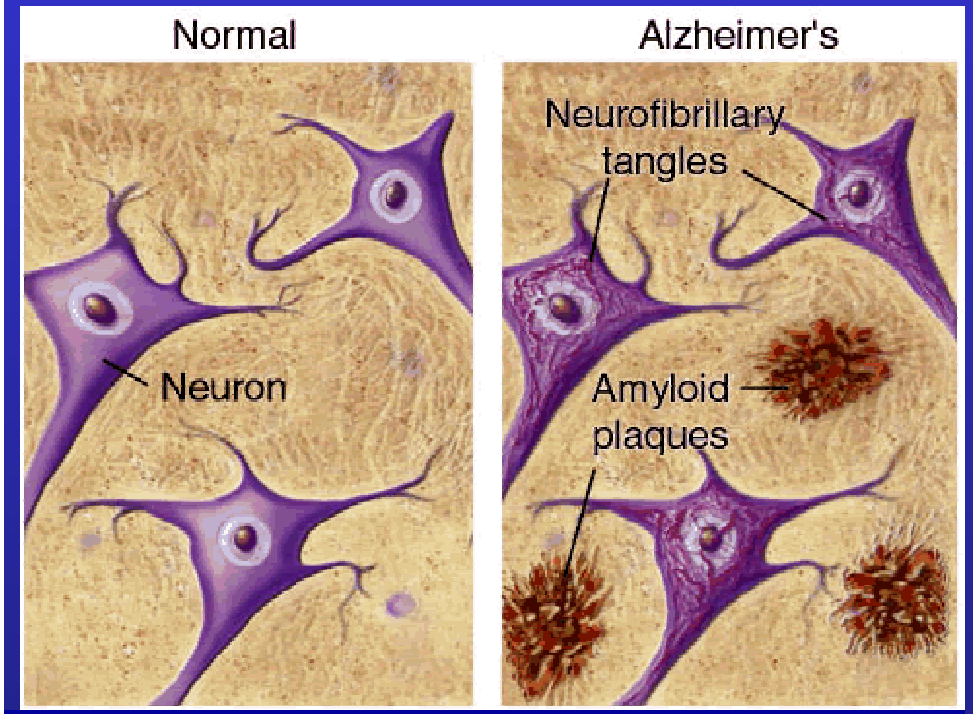
¿Son perjudiciales o protectores?

Posibles TERAPÉUTICAS FUTURAS

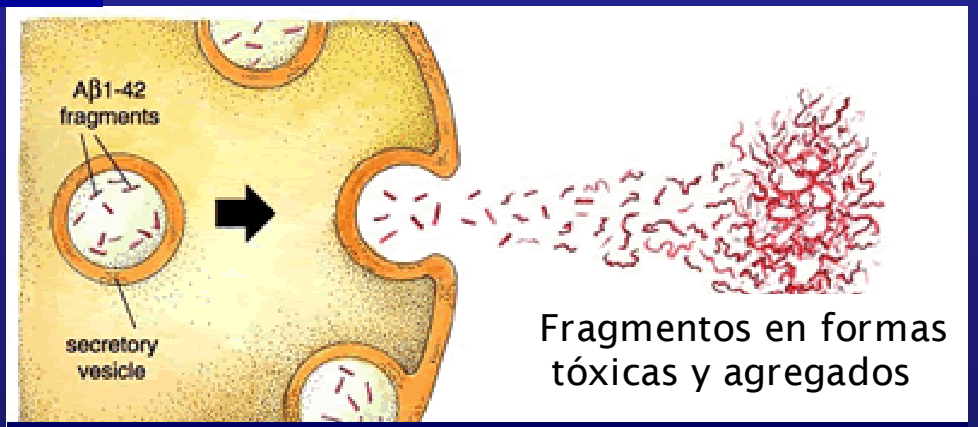
- PRECOZ:
  Inhibir formación de OLIGÓMEROS TÓXICOS

- TARDÍA:
  No sería conveniente pues se acumularían los Tóxicos y no se formarían los potencialmente Protectores

AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS Y ALZHEIMER



péptido β-amiloide
proteína tau



Fragmentos en formas tóxicas y agregados

PROTEÍNA BETA AMILOIDE Y ALZHEIMER

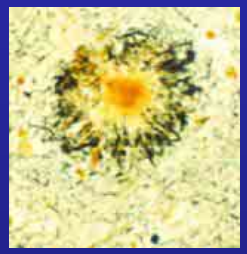
AMILOIDE BETA (Aβ)

Un amiloide particular que se deriva de una proteína precursora grande APP y que es componente de los ovillos neurofibrilares (NFT) y de las placas característicos en ALZHEIMER

No es lo mismo que amiloidosis

LESIONES EN ALZHEIMER

PLACA: lesión extracelular hecha de



péptido Aβ con estructura *beta sheet* y reactividad de amiloide con rojo congo y tioflavina, rodeada de axones y dendritas degenerados

OVILLO: lesión intracelular de

proteína tau

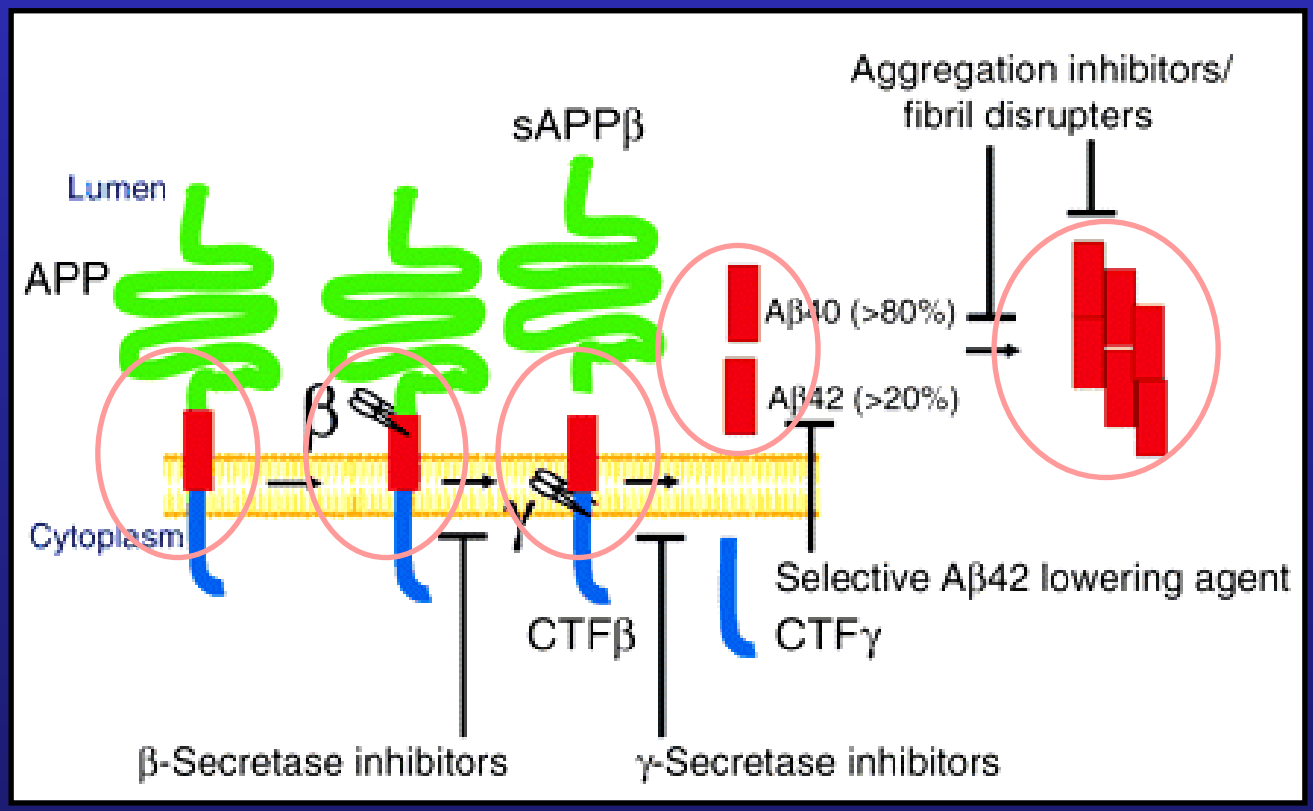
MUTACIONES en ALZHEIMER familiar

APP: proteína precursora de Aβ

PS1-PS2: parte catalítica de γ secretasa que cliva APP

No hay mutaciones de tau

SÍNTESIS, CLIVAJE Y AGREGACIÓN DE AMILOIDE BETA



SÍNTESIS DE Aβ

1. β secretasa genera el terminal N de Aβ

2. γ secretasa produce clivaje intramembrana y libera el Aβ
   Presenilin (PS) es la proteasa en γ secretasa

   Aβ 1-40 más abundante menos tóxico
   Aβ 1-42 en Alzheimer es más abundante y se agrega fácil

En Alzheimer familiar: Aβ 1-42 está aumentado

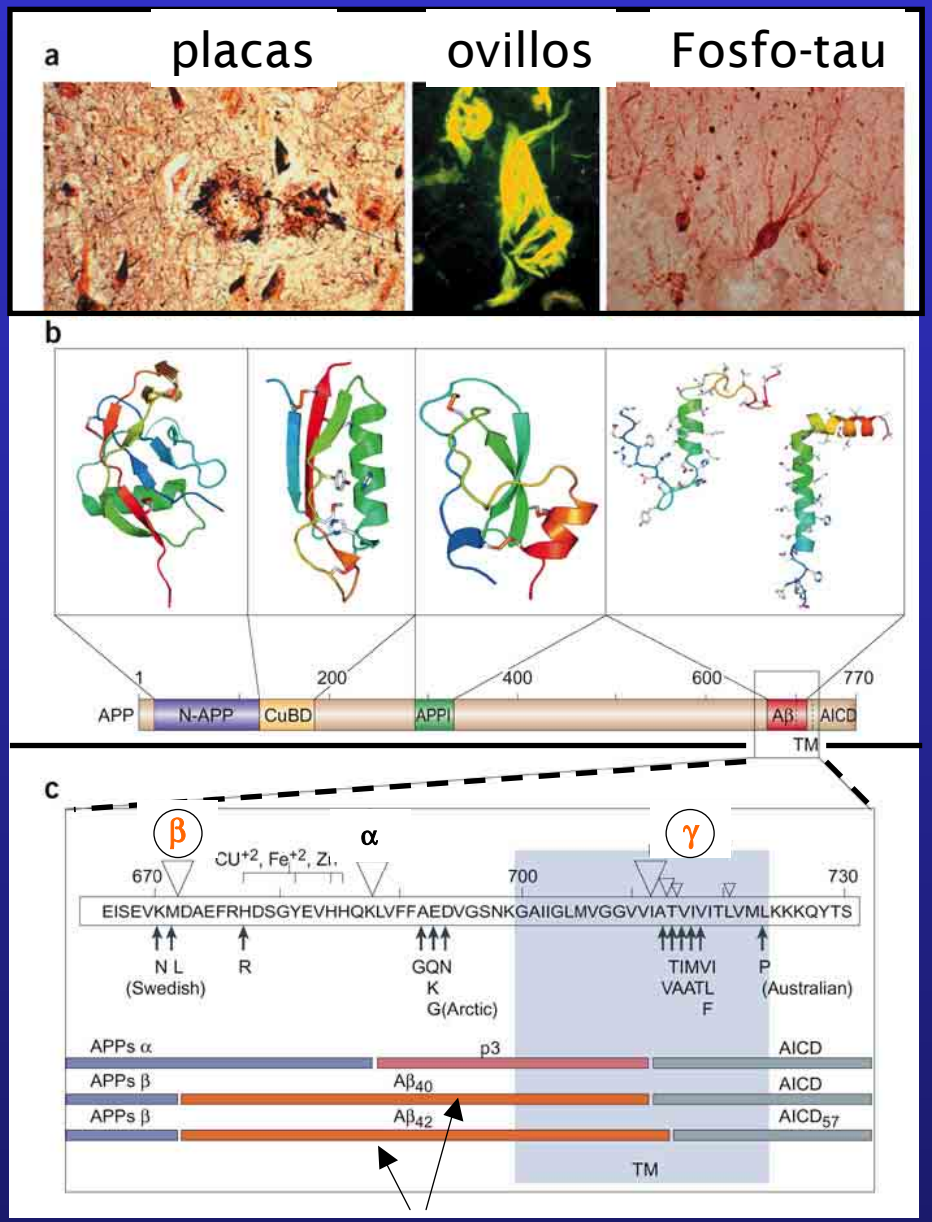
Histología
ALZHEIMER

Proteína precursora
APP
(1-770 aa)

Segmento APP
(665-730 aa)

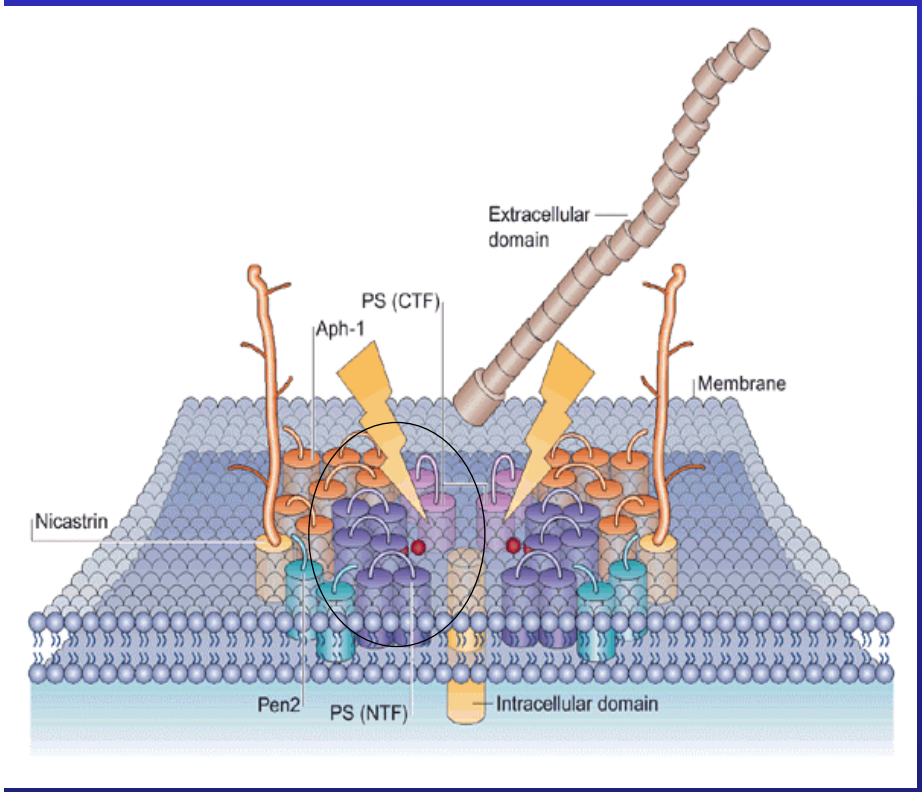
β, γ secretasas

Péptidos
Aβ40-42

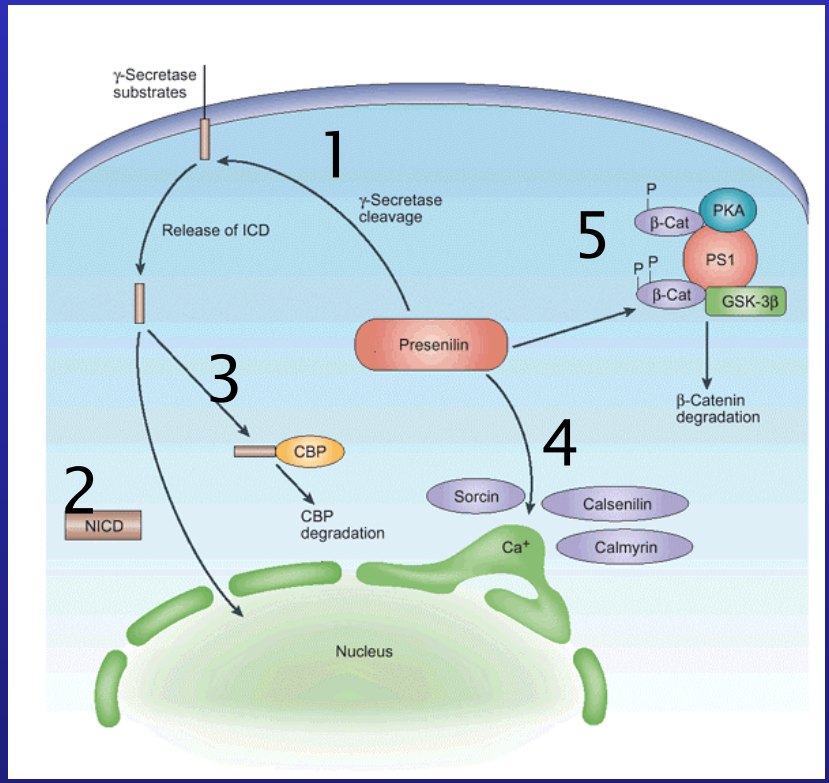


Aβ40-42

PRESENILIN (PS1, PS2)



Dímero PS
Forma parte del complejo de γ secretasa que cliva APP



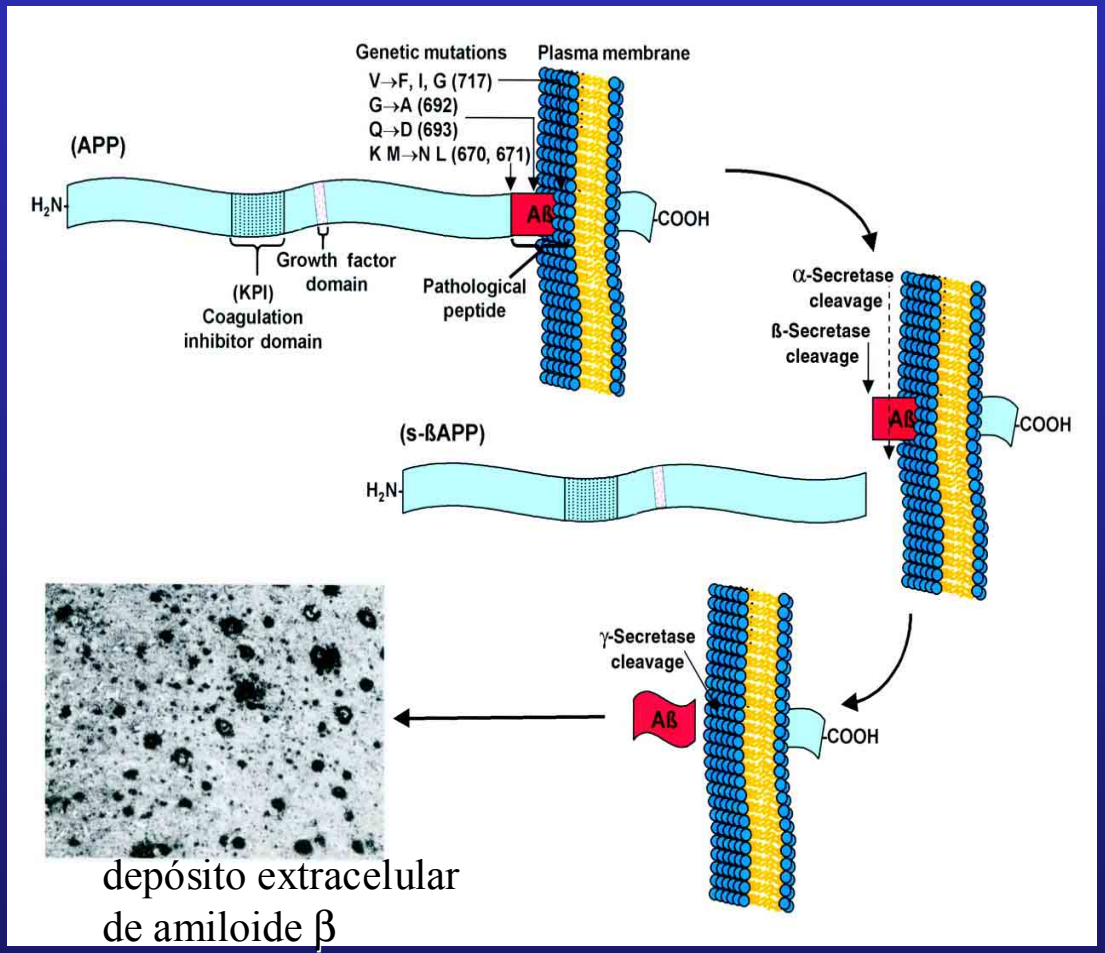
Otras funciones de PS

SECUENCIA DE FORMACIÓN DE AGREGADOS Aβ 1–42

1. Intermediarios Globulares Oligoméricos*
2. Protofibrillas
3. Protofilamentos
4. Fibras maduras
5. Placas

* Test para medir ADDL (ligando difusible)!!

Formación de PLACAS extracelulares de beta amiloide



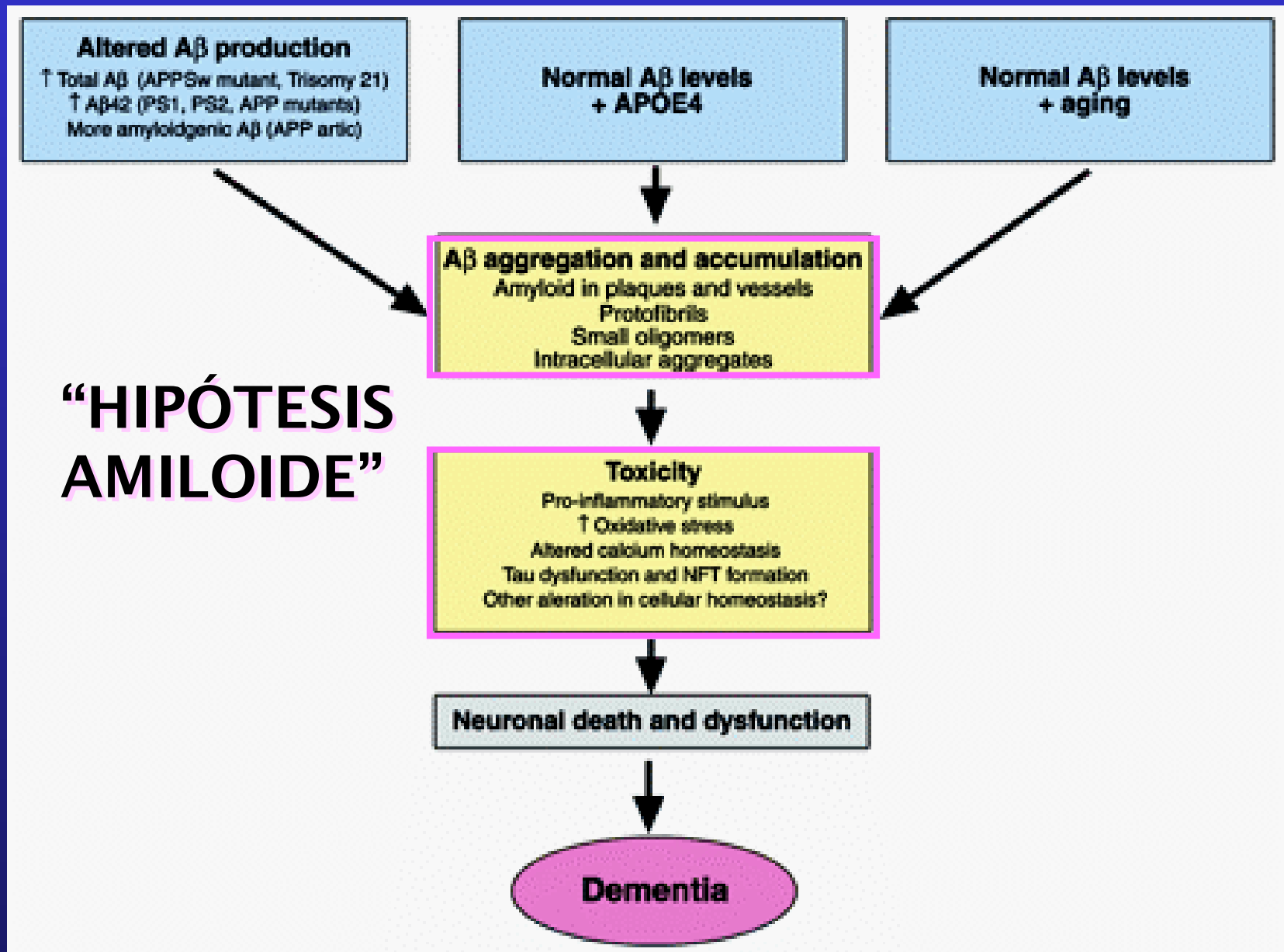
depósito extracelular de amiloide β

Impregnación de plata

HIPÓTESIS AMILOIDE

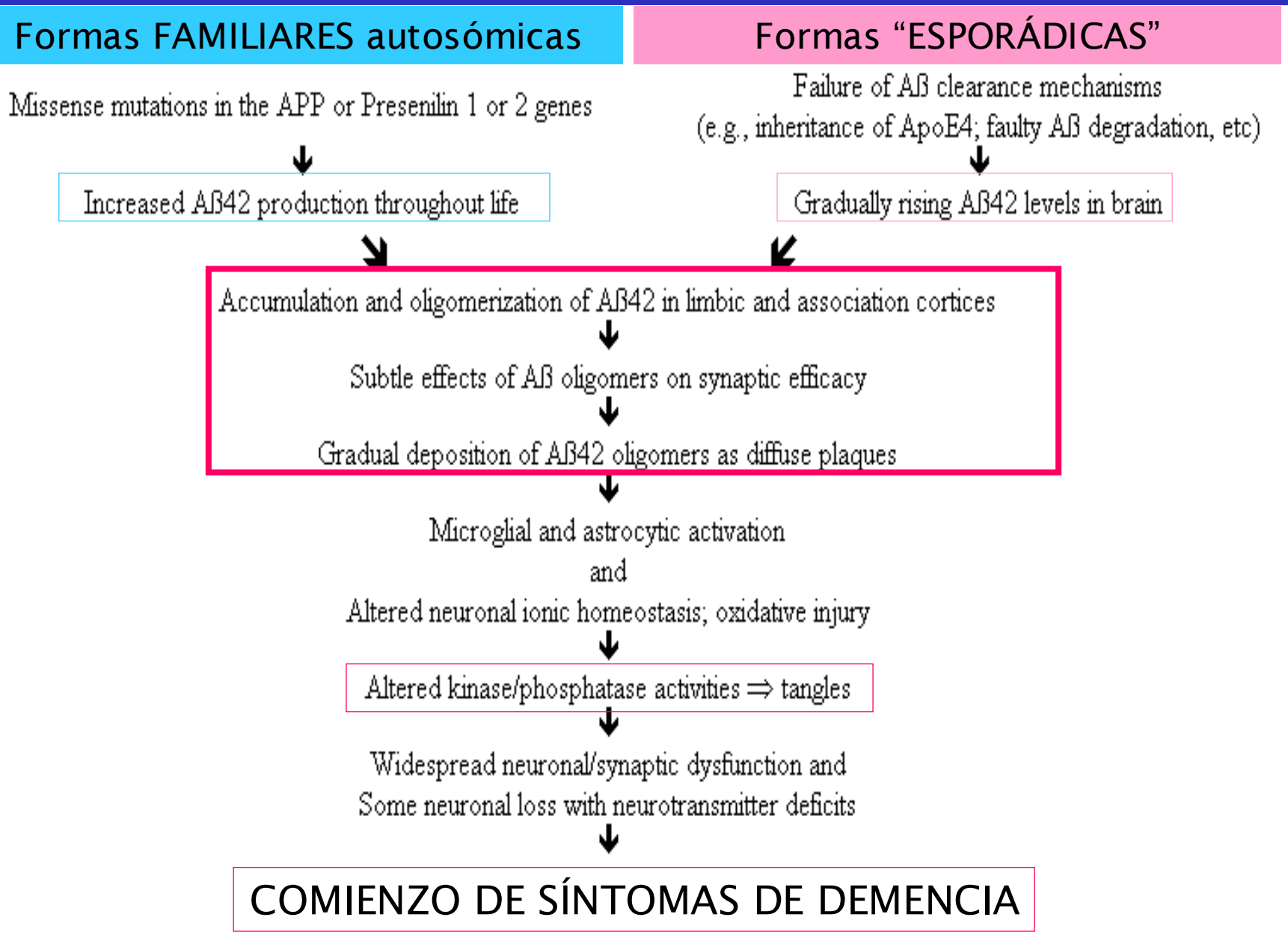
" la disfunción y muerte neuronal, degeneración neurofibrilar, activación de microglía y manifestación completa de patología de Alzheimer,

se inician por el depósito Aβ"



"HIPÓTESIS AMILOIDE"

HIPÓTESIS AMILOIDE EN ALZHEIMER



A FAVOR DE LA HIPÓTESIS

* Gen que aumenta el riesgo de Alzheimer

  APOE ε4 alelo implicado en depósito de Aβ
  Parece que afecta la "limpieza" de Aβ

  Ratones KO APOE ε4 no
  tienen depósitos Aβ en el cerebro!

* Aumento de expresión de APP

  En trisomía 21 (Down) APP (cr. 21)
  aumenta Aβ 1-42

PROBLEMAS:

* No hay relación entre formas agregadas y fibrilares en las placas, ni la densidad de placas, con la magnitud de declinación cognitiva

* Hay placas en ancianos SIN déficits intelectuales!

CAMBIO EN LA HIPÓTESIS:

De los AGREGADOS Aβ a las formas Aβ DIFUSIBLES NO fibrilares u oligoméricas o "amiloide invisible" (ADDL)

* Inyecciones de ADDL en hipocampo de ratas causan bloqueo de LTP!!
  Aβ actúa como toxina potente!!

* Acaban de lanzar un método para medir ADDL en pacientes!

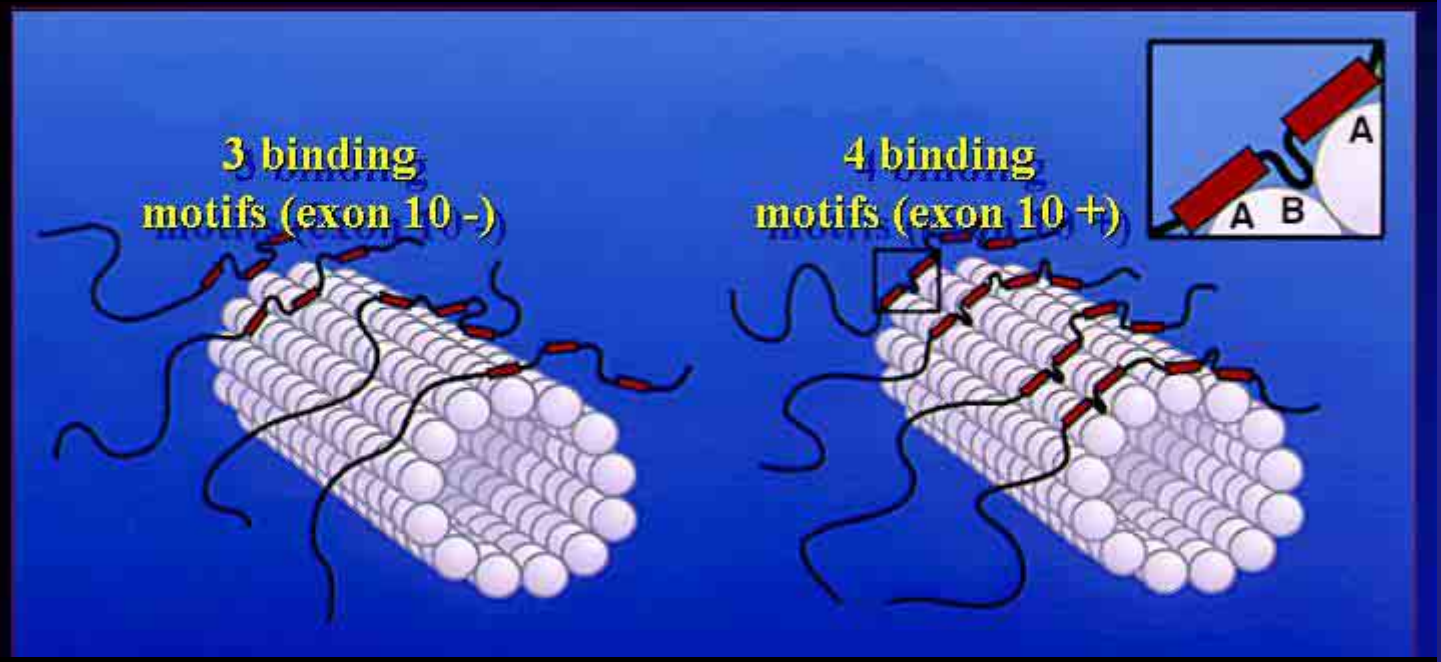
PROTEÍNA TAU Y ALZHEIMER

Tau: es una proteína asociada a microtúbulos (MAP)

FUNCIÓN DE TAU NORMAL

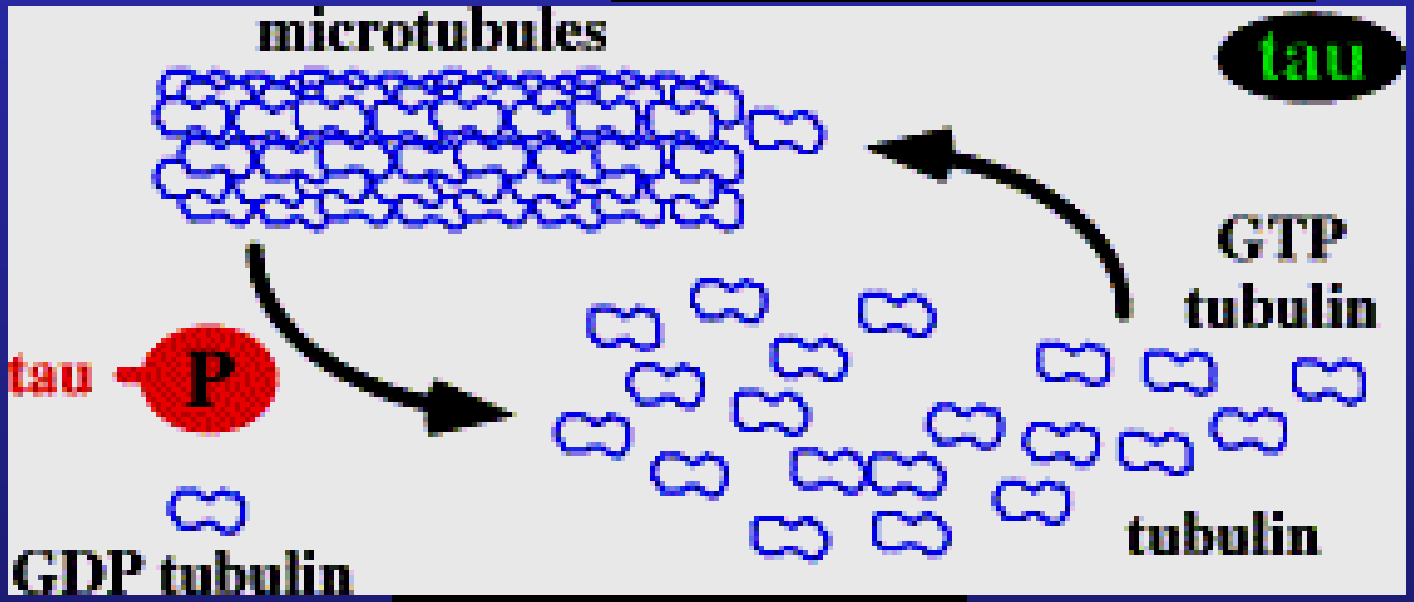
1. Mantiene estabilidad de microtúbulos
2. El grado de fosforilación influye en su función estabilizadora
3. Se encuentra principalmente en axones
   Permite transporte axónico normal

Tau estabiliza los microtúbulos



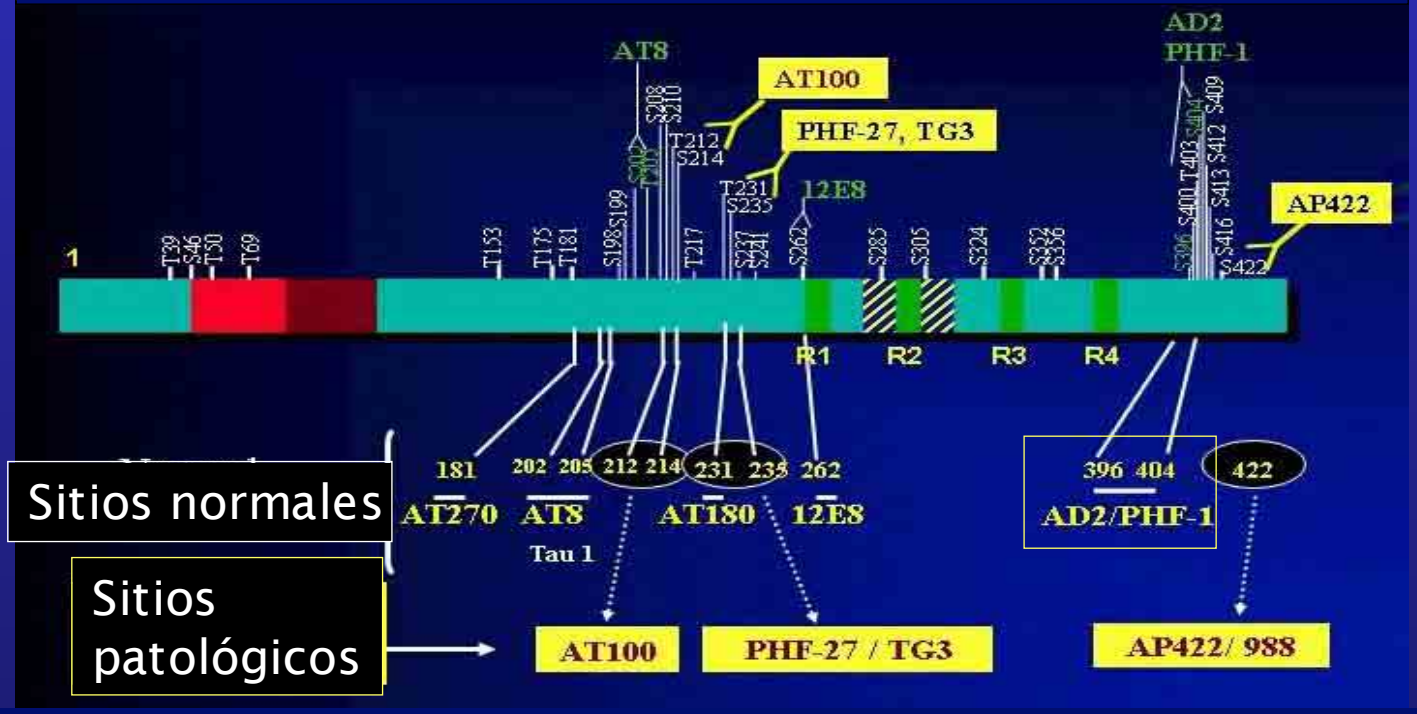
Polimerización de tubulina depende del GRADO de fosforilación tau

Tau Hipofosforilada induce polimerización y estabilización



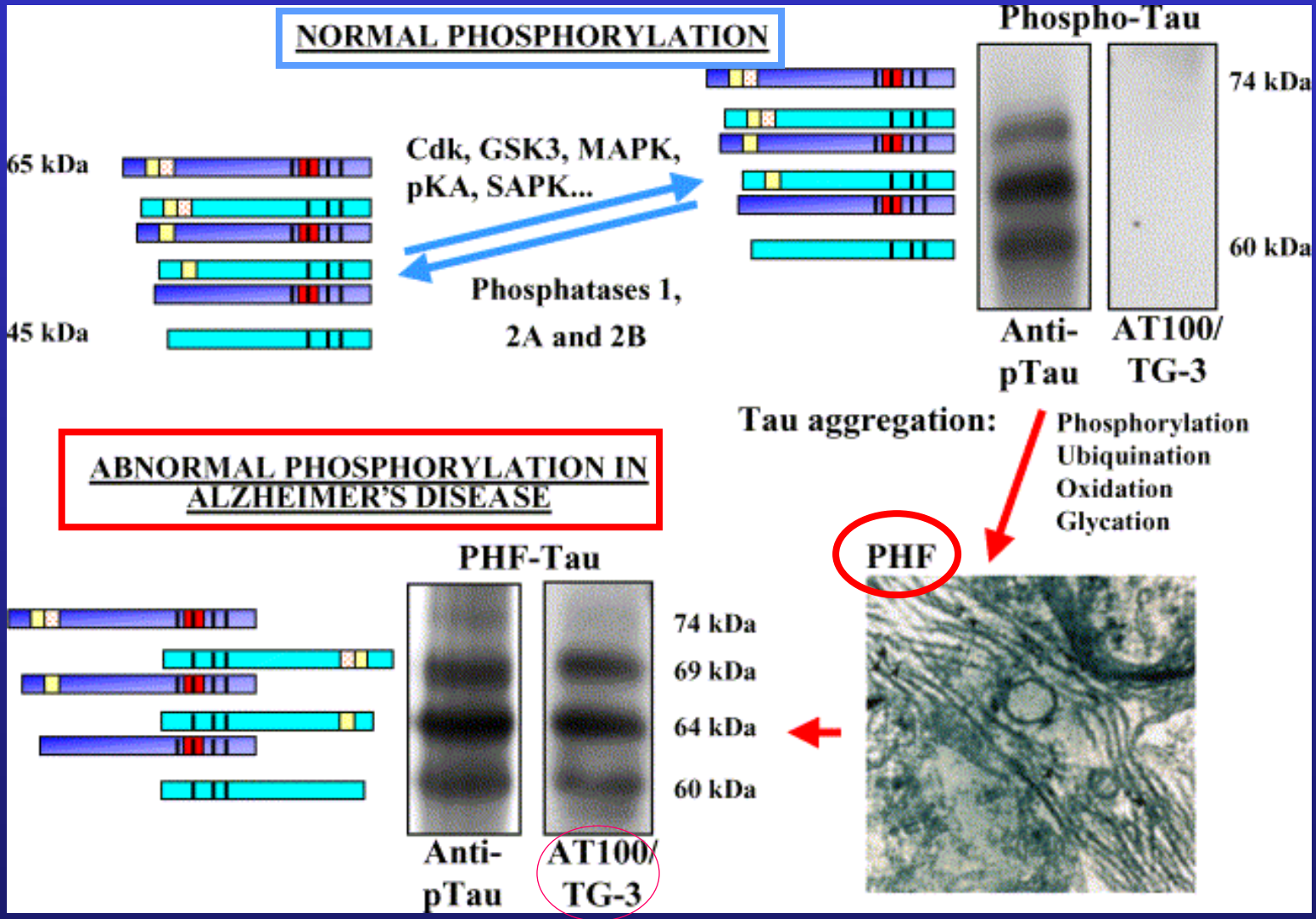
Tau Hiperfosforilada
lleva a despolimerización

Sitios de fosforilación en tau



Tau anormalmente hiperfosforilada es ubiquitinada, proteolíticamente procesada y agregada en filamentos

Balance fosforilación /defosforilación



Epitopes AT100, TG3 en Alzheimer

FOSFORILACIÓN DE TAU

* Tau es sustrato de varias kinasas como GSK3, cdk5 etc.

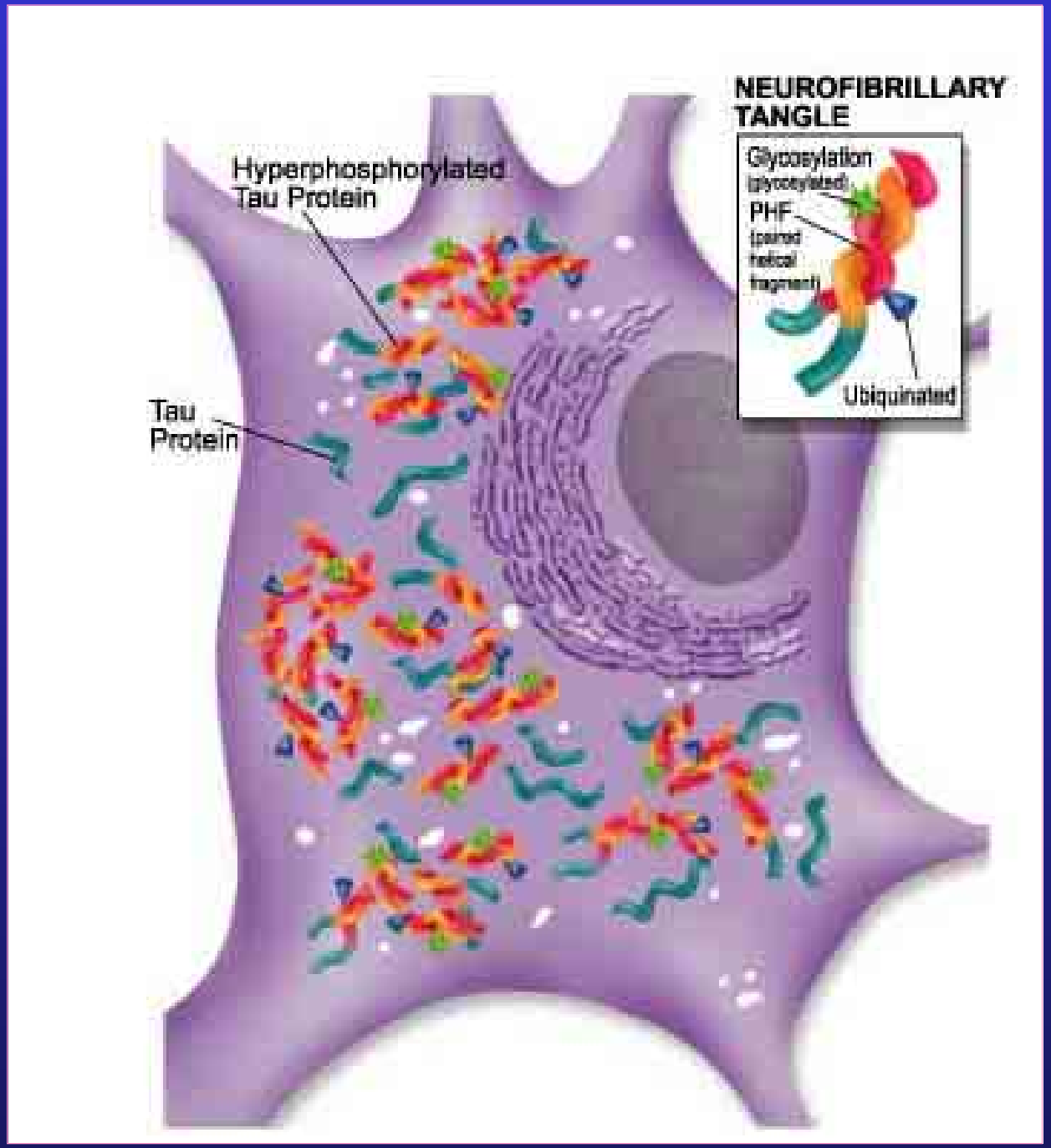
* La activación o aumento de expresión de kinasas puede tener significación en la patogénesis de tauopatias

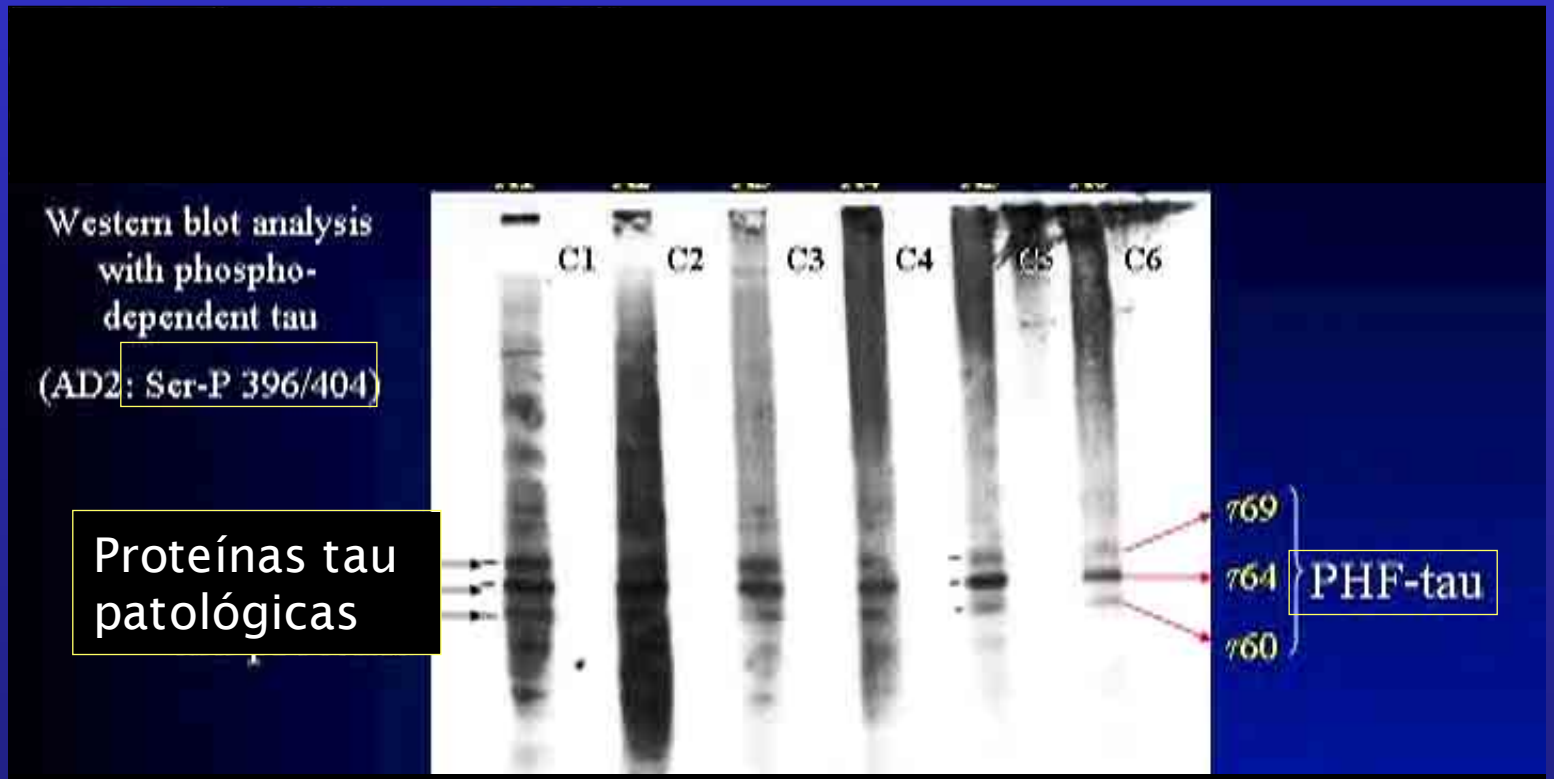
Tau anormal HIPERFOSFORILADA

1. Pierde habilidad para enlazarse a microtúbulos

2. Desestabilización de microtúbulos
   desarreglo del transporte axonal
   pérdida total de función neuronal

3. Resistencia a degradación proteolítica
   formación de filamentos helicoides pareados (PHF)


NEUROFIBRILLARY TANGLE
Hyperphosphorylated Tau Protein
Tau Protein
Glycosylation
(glycosylated)
PHF
(paired helical fragment)
Ubiquinated



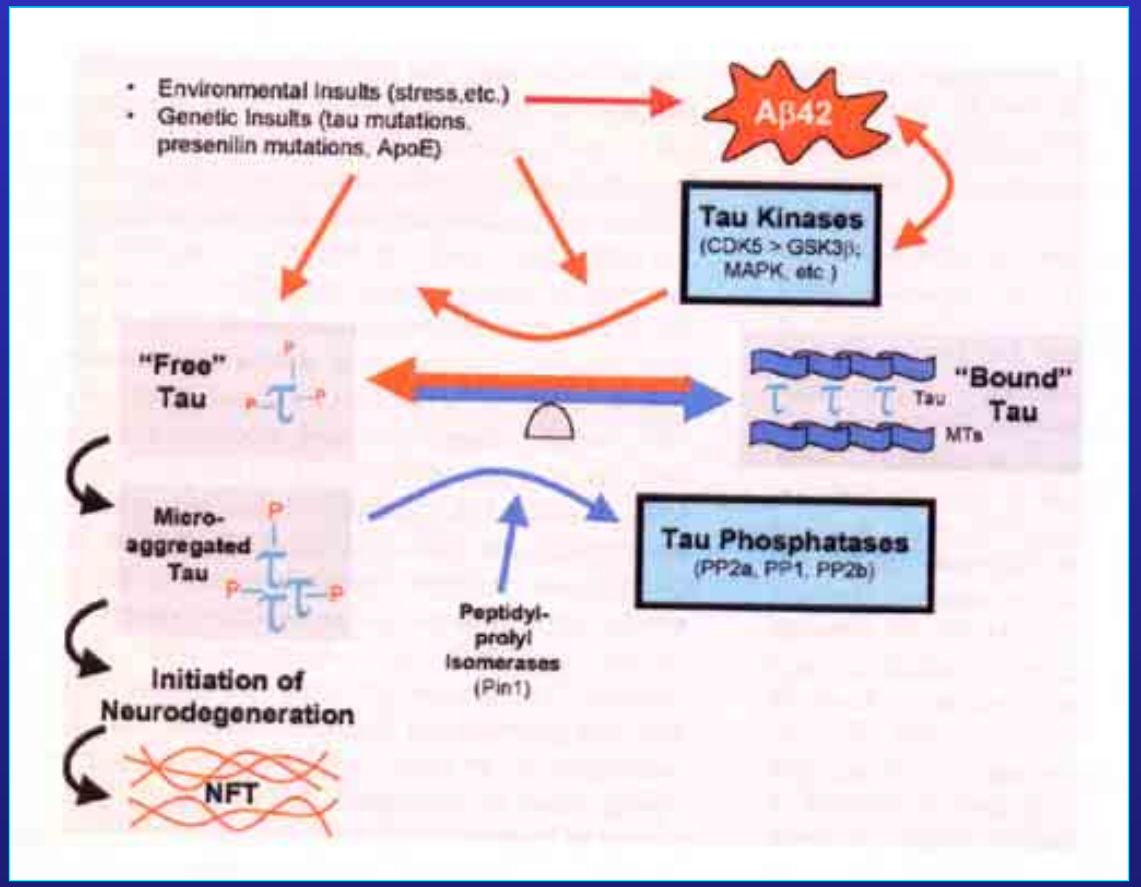
Tau Anormal en corteza cerebral Alzheimer
(A1-A6)
Control
(C1-C6)

Agregación de tau
Balance de tau libre/ fosforilada

Agregación de proteína tau

↓

Inclusiones NFT



En rojo los factores que promueven tau libre (fosfokinasas)
En azul los factores protectores (fosfatasas)

* La fosforilación aberrante:
  1. reduce la afinidad de *tau* por los microtubulos
  2. *tau* se polimeriza más rápido de lo que puede ser degradada
  3. aumenta la cantidad de *tau* libre

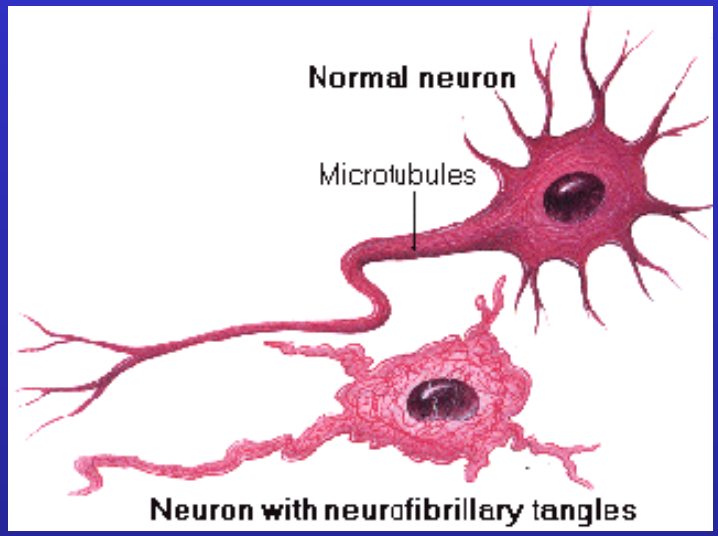
* Una vez que *tau* libre alcanza un nivel crítico, tiende a la fibrilización, lo cual estimula el aumento de agregación

Ovillos *tangles* neurofibrilares (NFT)

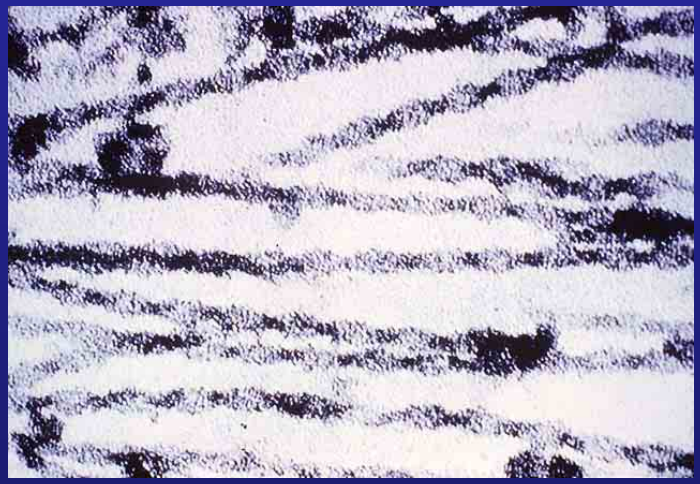
Son la característica patognomónica de tauopatías

Están compuestos de tau agregada hiperfosforilada y dispuesta en filamentos helicoides en pares (PHF),

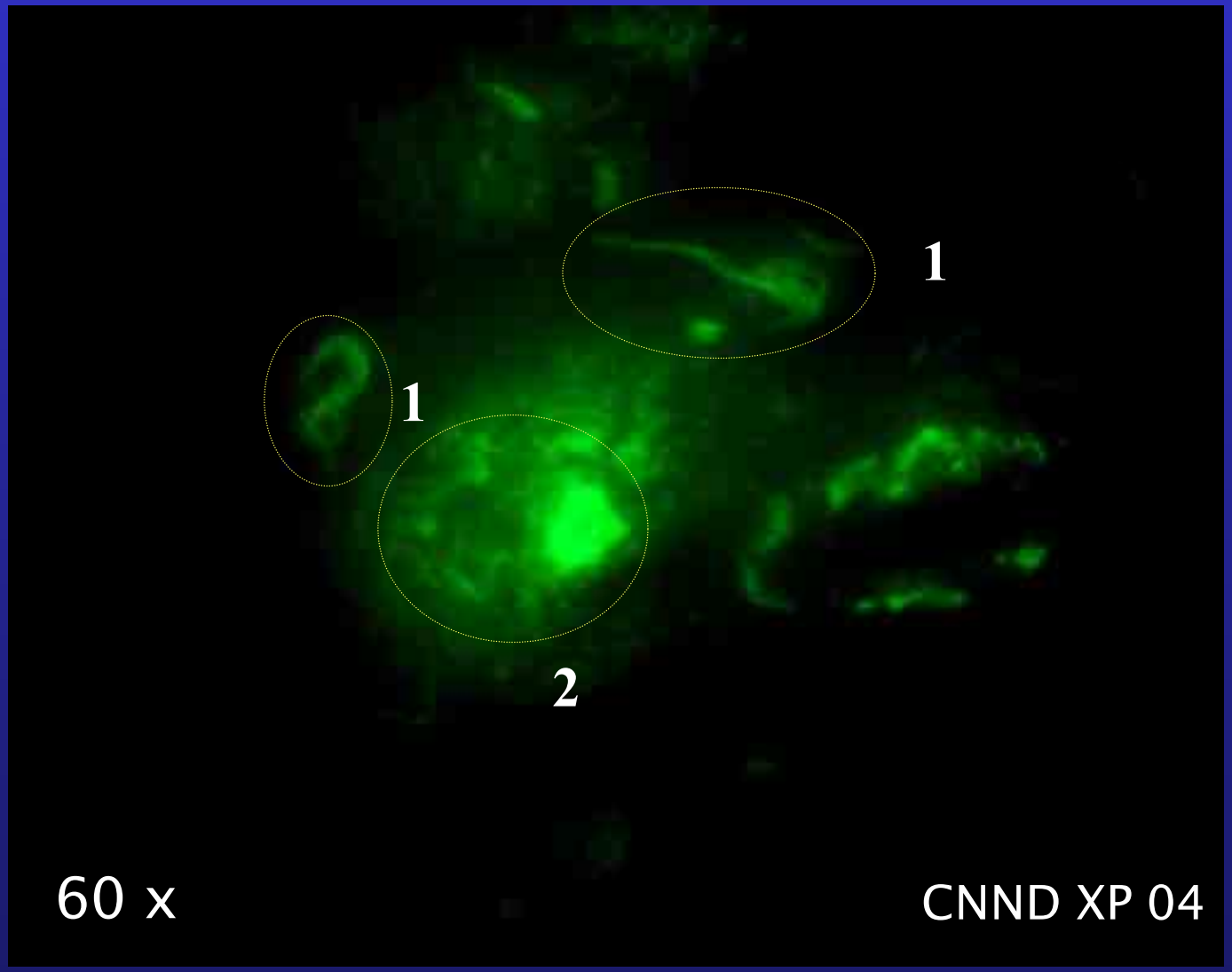
Ovillos *tangles* neurofibrilares (NFT) en ALZHEIMER



tau agregada intracelular (MO)

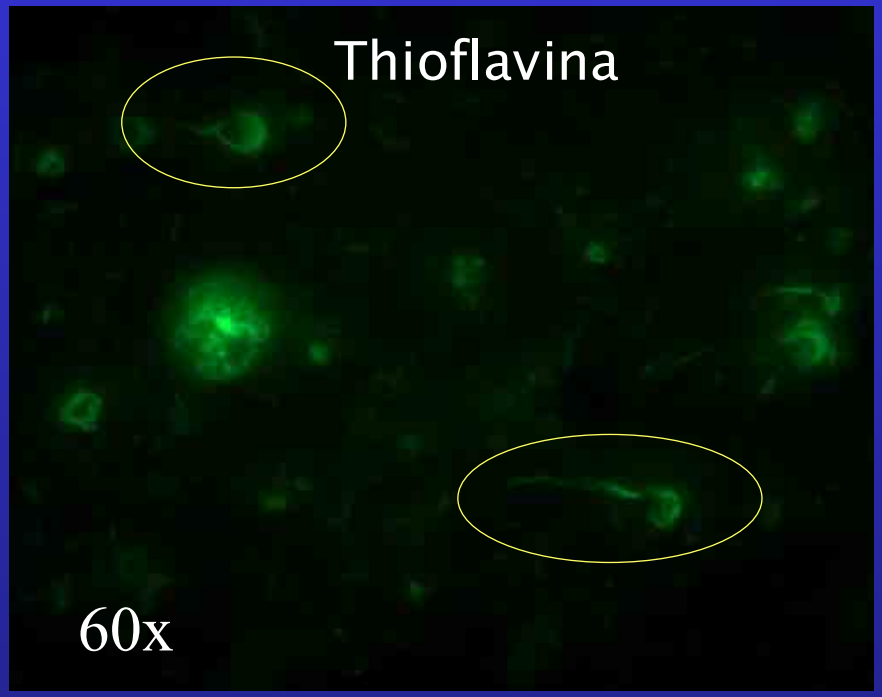


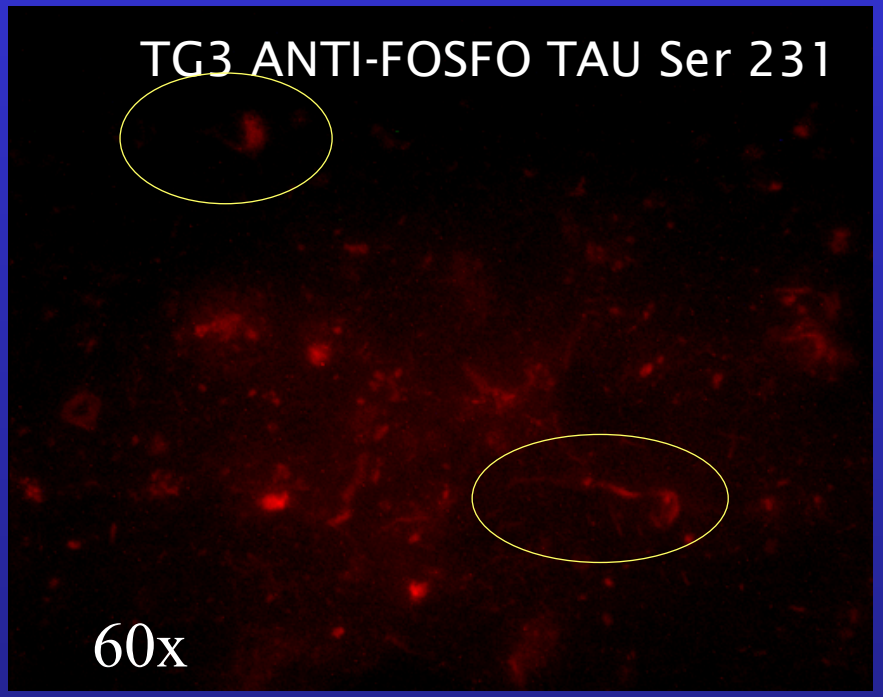
Filamentos de tau (PHF)
(microscopio electrónico)

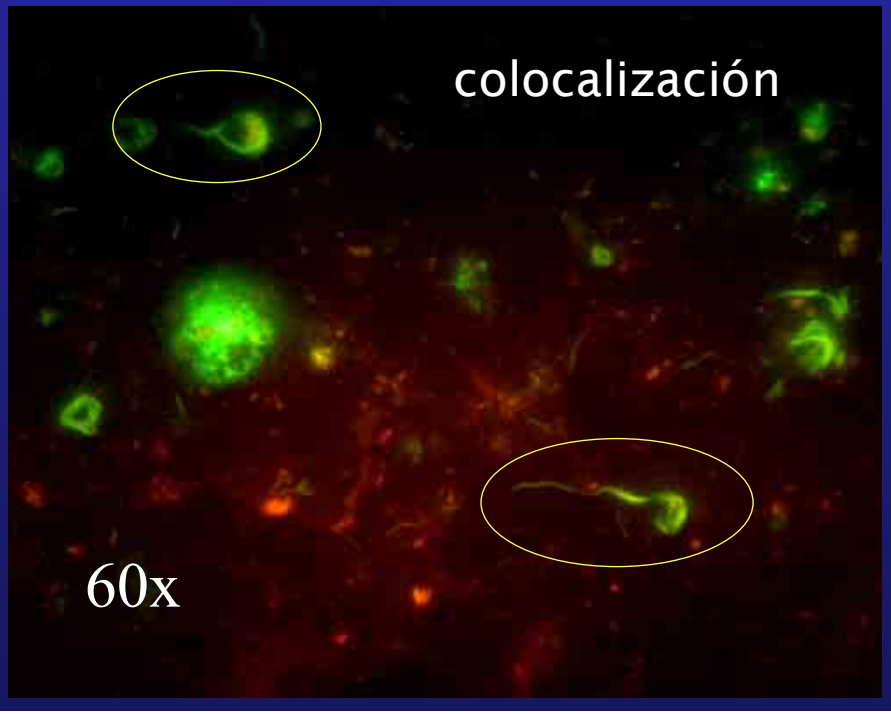


1. Tangle intracelular (proteína tau agregada)

2. Placa: β amiloide agregado

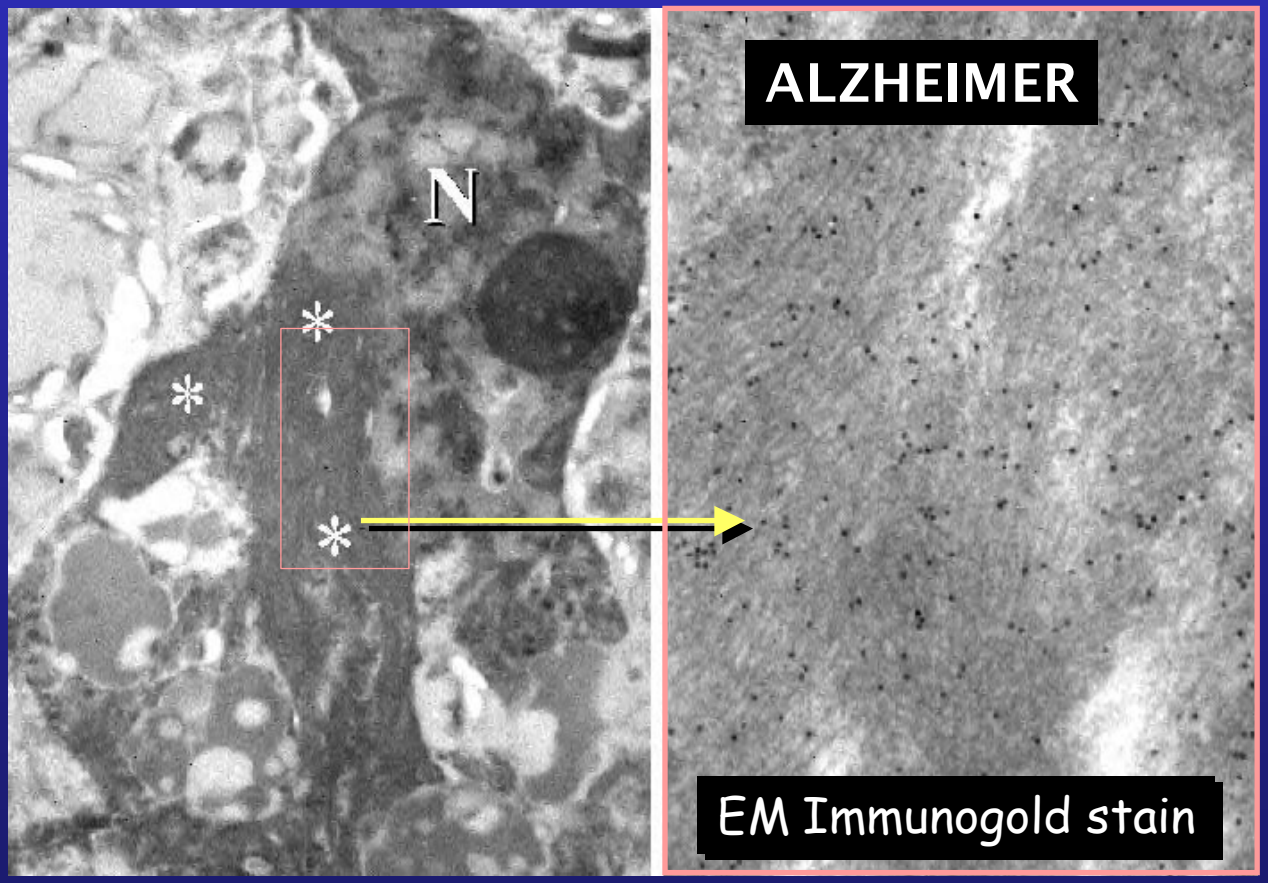

Thioflavina
60x


TG3 ANTI-FOSFO TAU Ser 231
60x

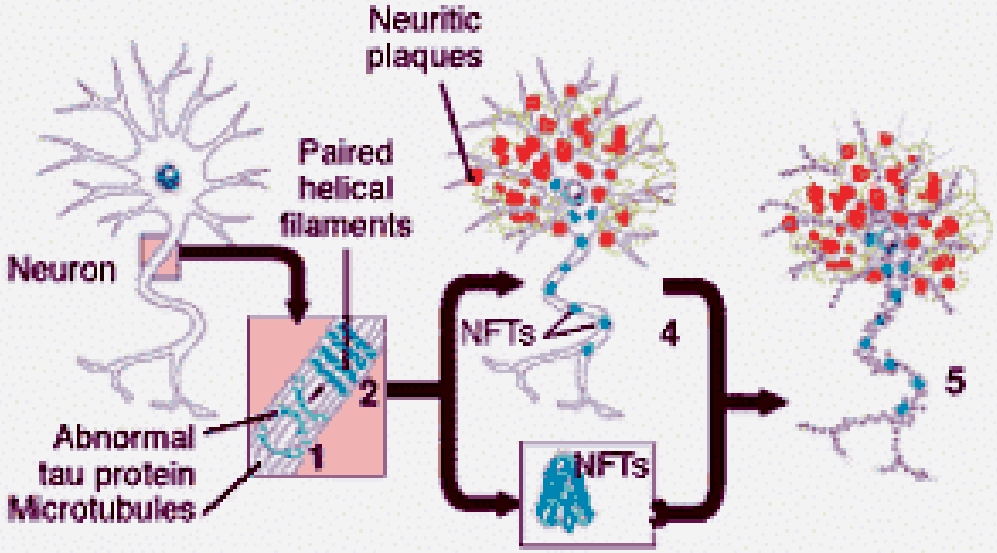

colocalización
60x

CNND XP 04

PHF Filamentos Positivos



Hipótesis de tau



1. Tau-hiperfosfo-rilada desarrolla PHF
2. PHF se acumulan en neuronas
3. PHFse convierten en NFT alterando función
4. NFT promueven desarrollo de placas
5. La neurona finalmente muere

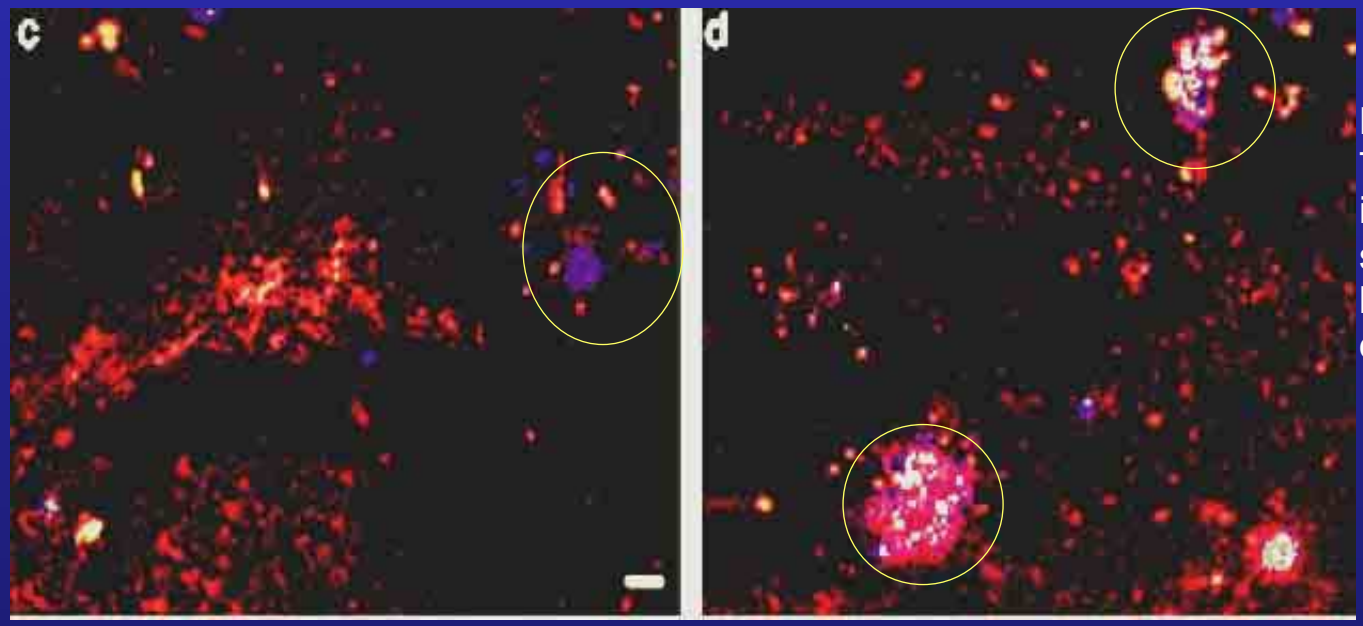
TAU Y ALZHEIMER

El hallazgo reciente del gen mutado de tau como responsable de Demencia Frontotemporal con Parkinsonismo asociada al cromosoma 17 (FTDP-17) ha dado evidencia convincente del rol de tau en ND

La mutación P301L de tau, provoca desestabilización de tau y su agregación y ha permitido construir ratones transgénicos modelos de Alzheimer

La combinación de mutaciones APP/PS y tau acelera la formación de NFT

Anti-NFT (red) 6E10 staining against amyloid (blue) after Tau AAV injections



Plaques near Tau AAV injections surrounded by rings of anti-NFT

Expresiónde tau en hipocampo de ratones doble transgénicos PSI/APP

* Aunque NFT es característica de Alzheimer, NO se ha encontrado mutaciones de tau en la enfermedad familiar!!

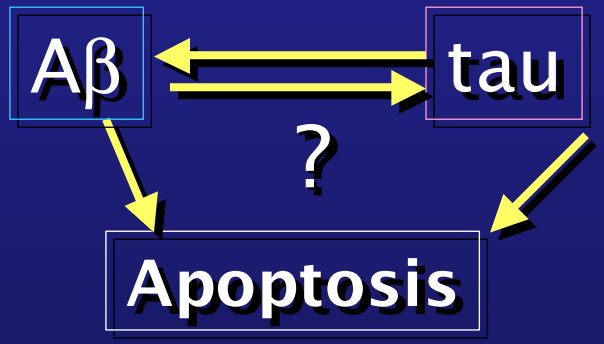
* Pero la identificación de una mutación en el gen de tau en la FTDP-17 donde no hay patología amiloide, demuestra que la alteración de tau podría ser causa primaria de ND

En ALZHEIMER hay:

* Depósito de Aβ insoluble
* Depósito de tau insoluble

Pero,

* la relación temporal entre cascada amiloide y agregación de tau,
* y la relación de Aβ y tau con la muerte neuronal NO están aun definitivamente claras!!!



INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE APP AND TAU EN EL TRANSPORTE AXÓNICO

- **APP**: parece tener función neurotrófica y es llevado en

  vesículas por transporte anterógrado

- **Tau**: a **BAJA concentración** mantiene el transporte

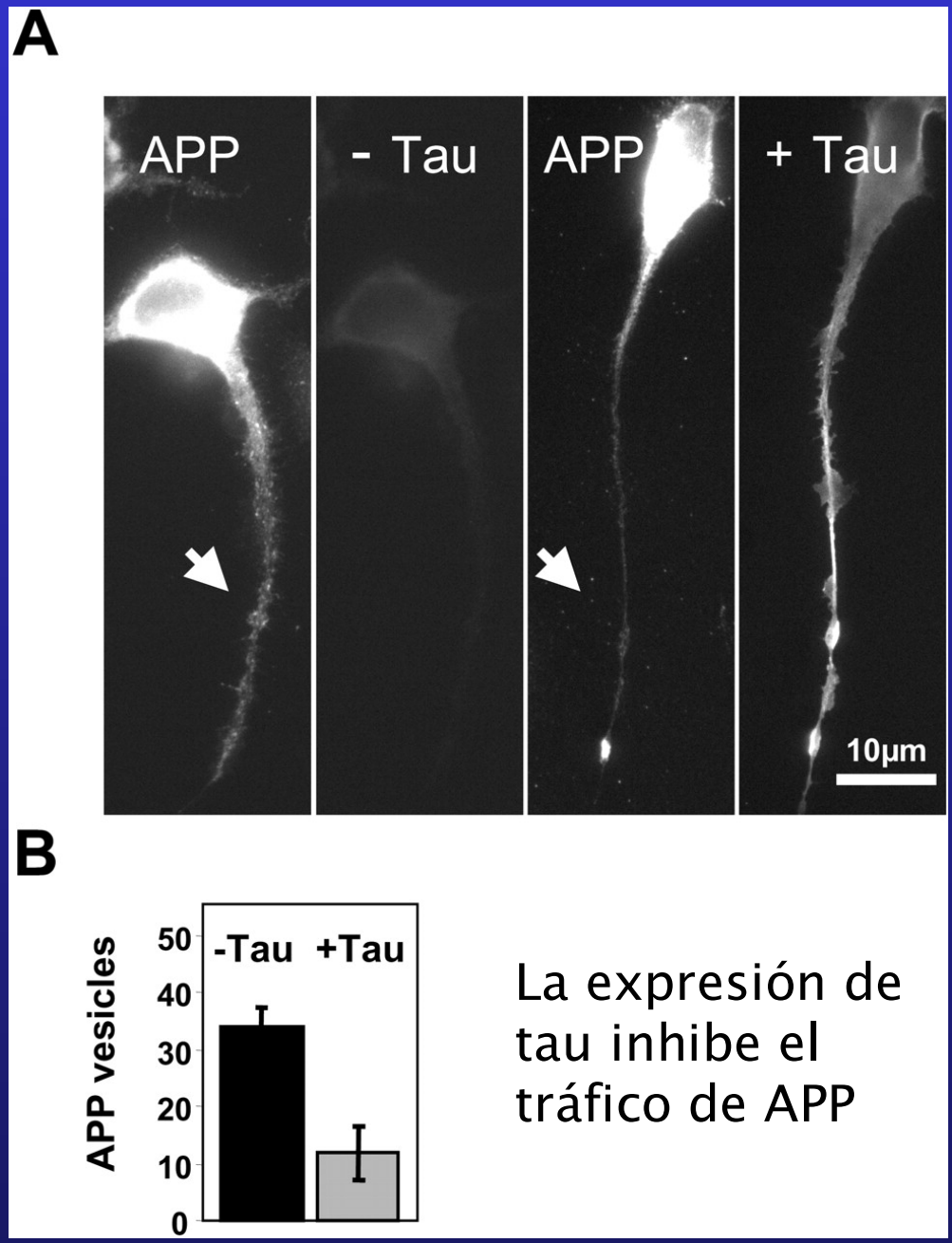
  axónico

  a ALTA concentración de tau inhibe el movimiento anterógrado de vesículas de:

  APP que se concentran en el cuerpo y aumentan Aβ ,

  Peroxisomas (vulnerabilidad a estrés oxidativo)

Neuronas cultivadas con expresan APP (Izq.)
Y con expresión temporal de tau (Der.))



La expresión de tau inhibe el tráfico de APP

Daño neuronal por inhibición de transporte de APP

1. Depleción de APP en la sinapsis: pérdida de función neurotrófica

2. Retención de APP en el soma: aumento de niveles de Aβ

Esto tiene interés en **Alzheimer**

RELACIÓN ENTRE Aβ y tau

Ahora que se conocen las cascadas
de Aβ y y cómo se forman los NFT,
se comienza a entender CÓMO influye Aβ en tau
y viceversa

Es posible que la alteración de Aβ venga
antes que la de tau

Aumento de Aβ1-42 induce a kinasas
GSK3β y cdK5 que llevan a fosforilación
de tau y a apoptosis

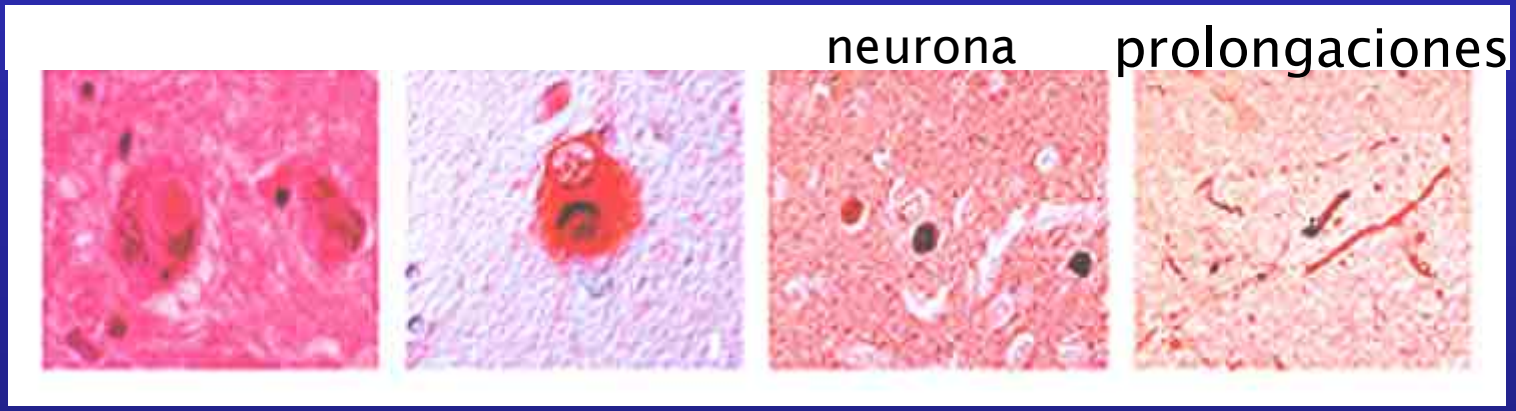
AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS
Y
PARKINSON

AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS EN PARKINSON

La lesión característica es el **Cuerpo de Lewy**, cuerpo de inclusión, compuesto de:

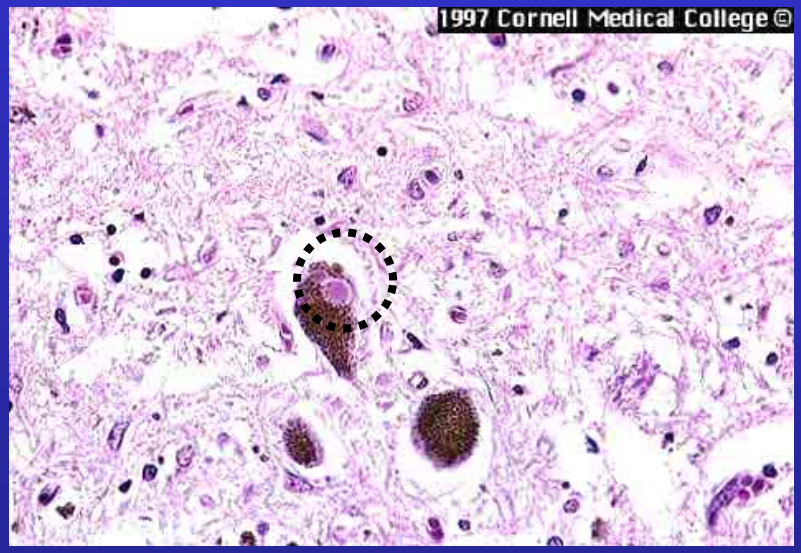
- fibrilla amiloide,
- α synuclein oxidada agregada
- proteínas chaperonas
- ubiquitin
- synfilin 1

Cuerpos de Inclusión de Lewy

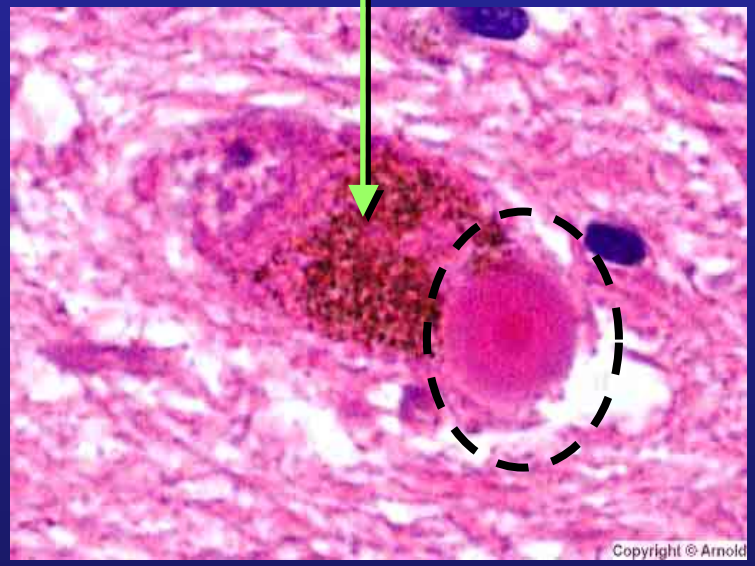


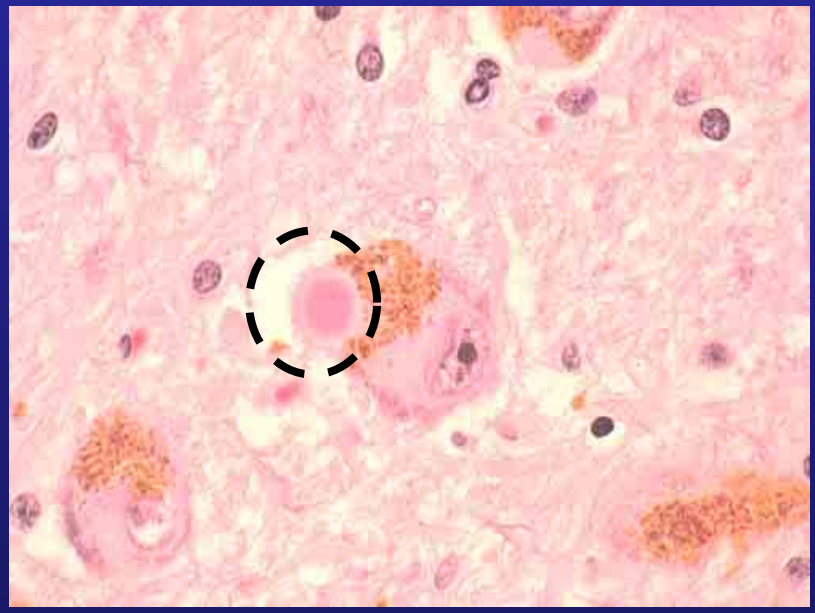
H&E ubiquitin α synuclein

Inclusiones Intracelulares o CUERPOS DE LEWY
(Sustancia Negra)



neuromelanina

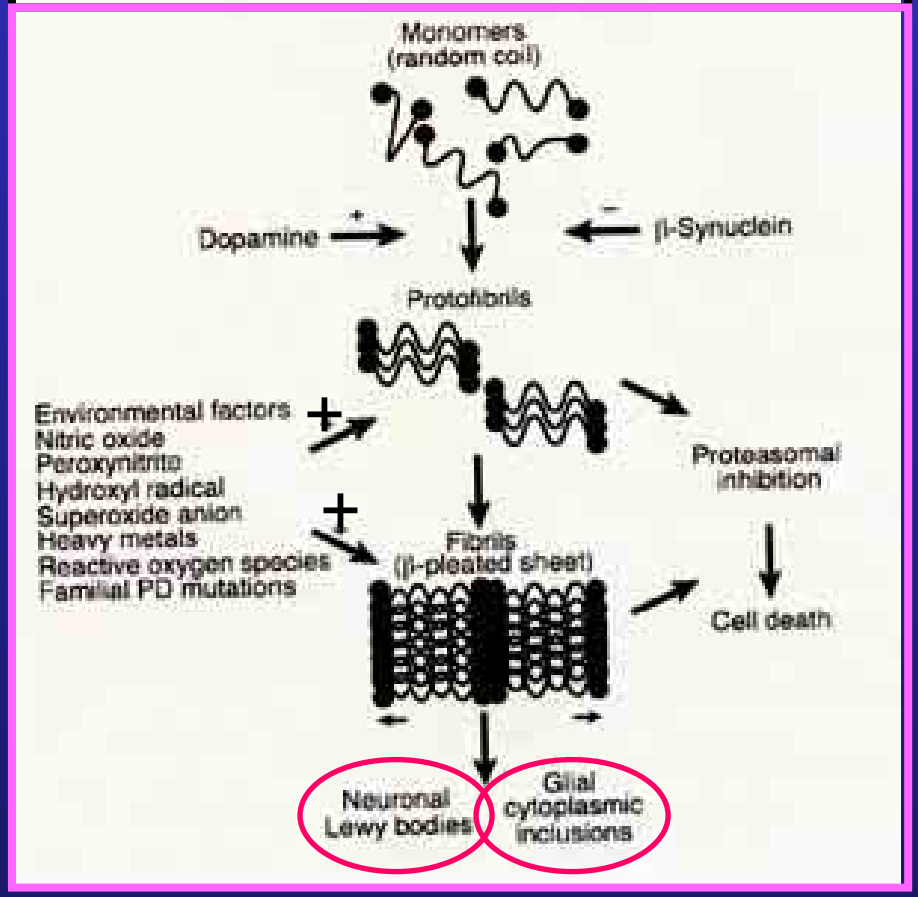




Agregación de synuclein

Estructura de α synuclein con sitios de mutaciones

Agregación de α synuclein



Inclusiones: Cuerpos de Lewy

MUTACIONES EN PARKINSON

- Puntuales dominantes o por aumento de
  α **synuclein** (triplicación del locus)
  causan "ganancia de función"

- Recesiva en genes de
  Parkin,
  DJ1
  causan pérdida de función

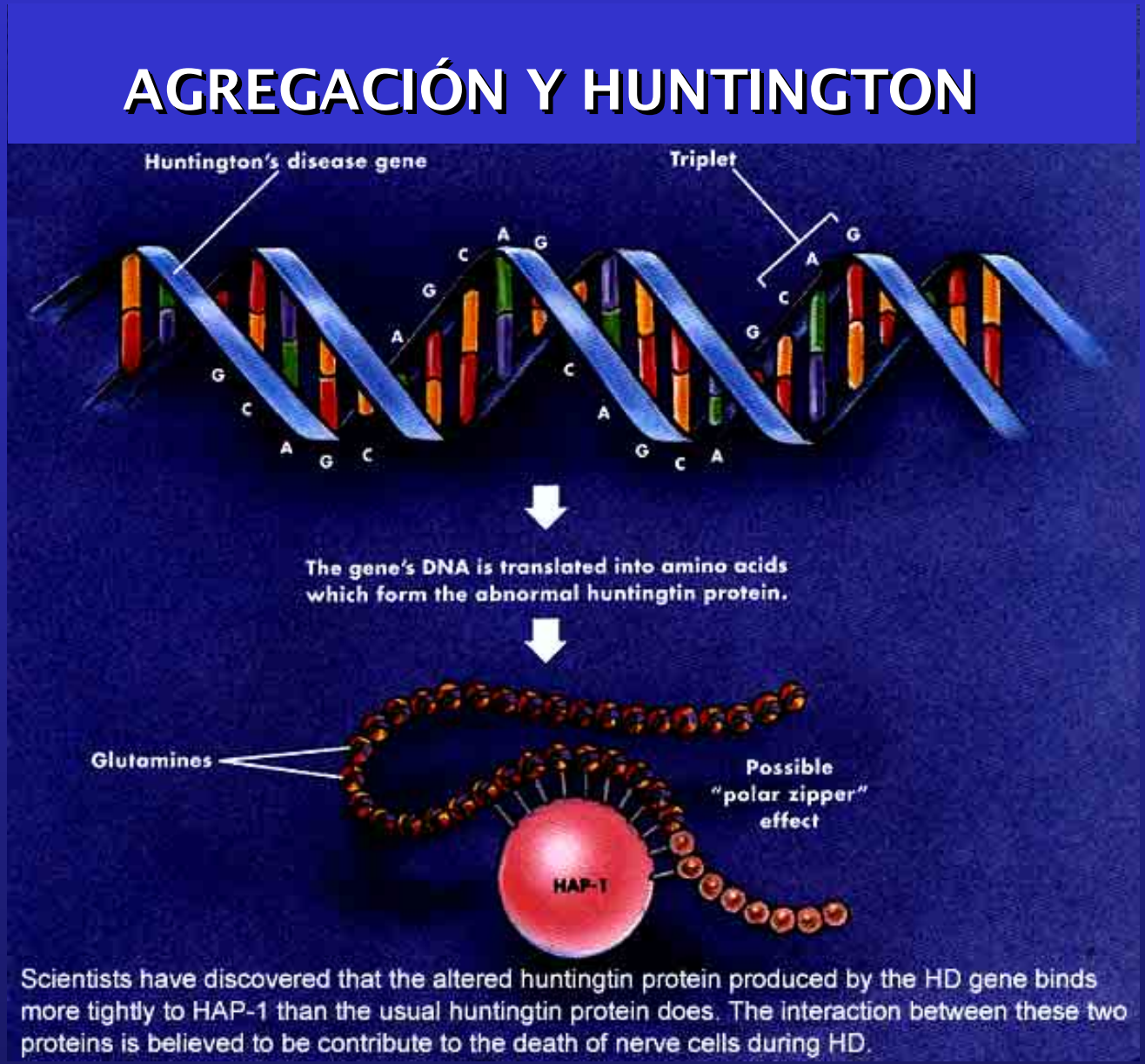
AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS Y HUNTINGTON

AGREGACIÓN Y HUNTINGTON

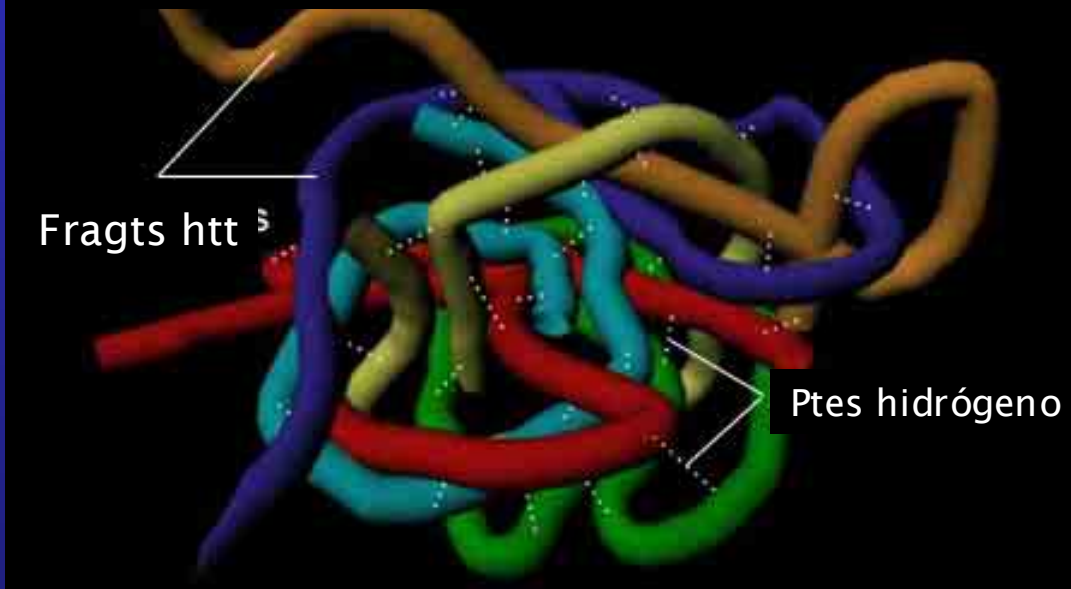
Mutación de repetición de trinuclétidos CAG codifica para Gln

Proteína mutada **huntingtin** (htt)

Hay más 40 CAG repeticiones que da tira poliQ

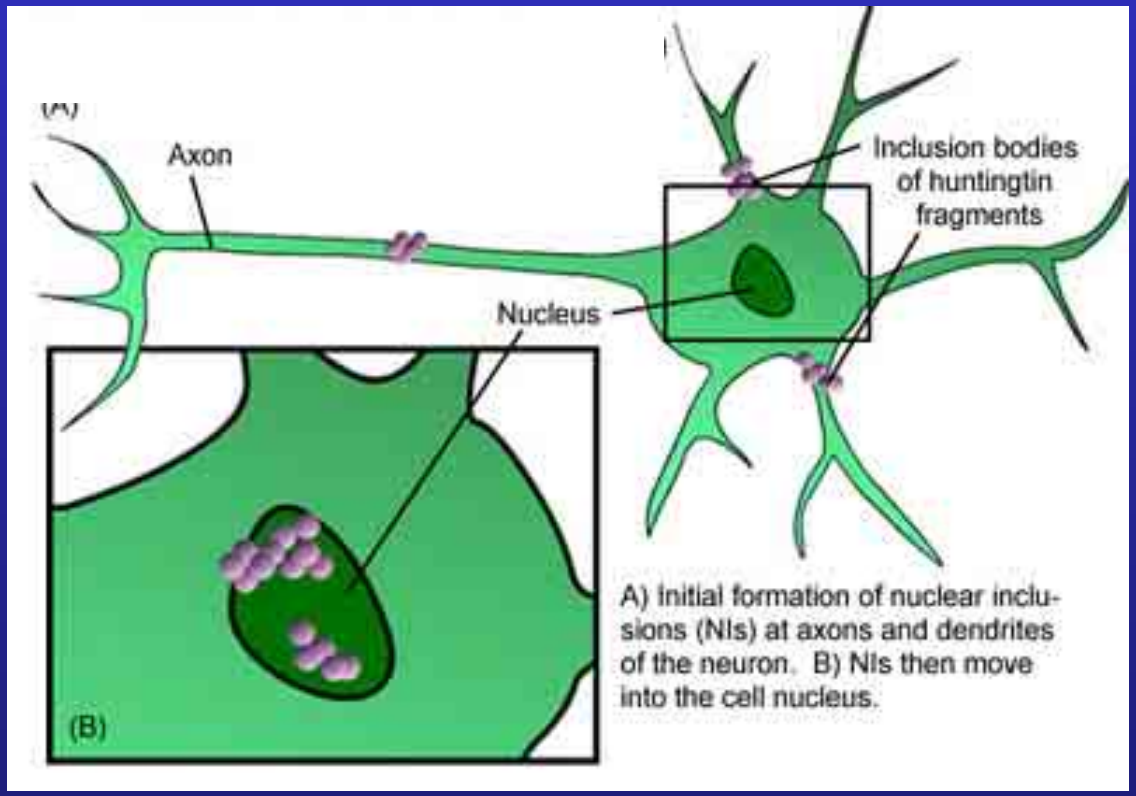


Agregado de huntingtin (htt)



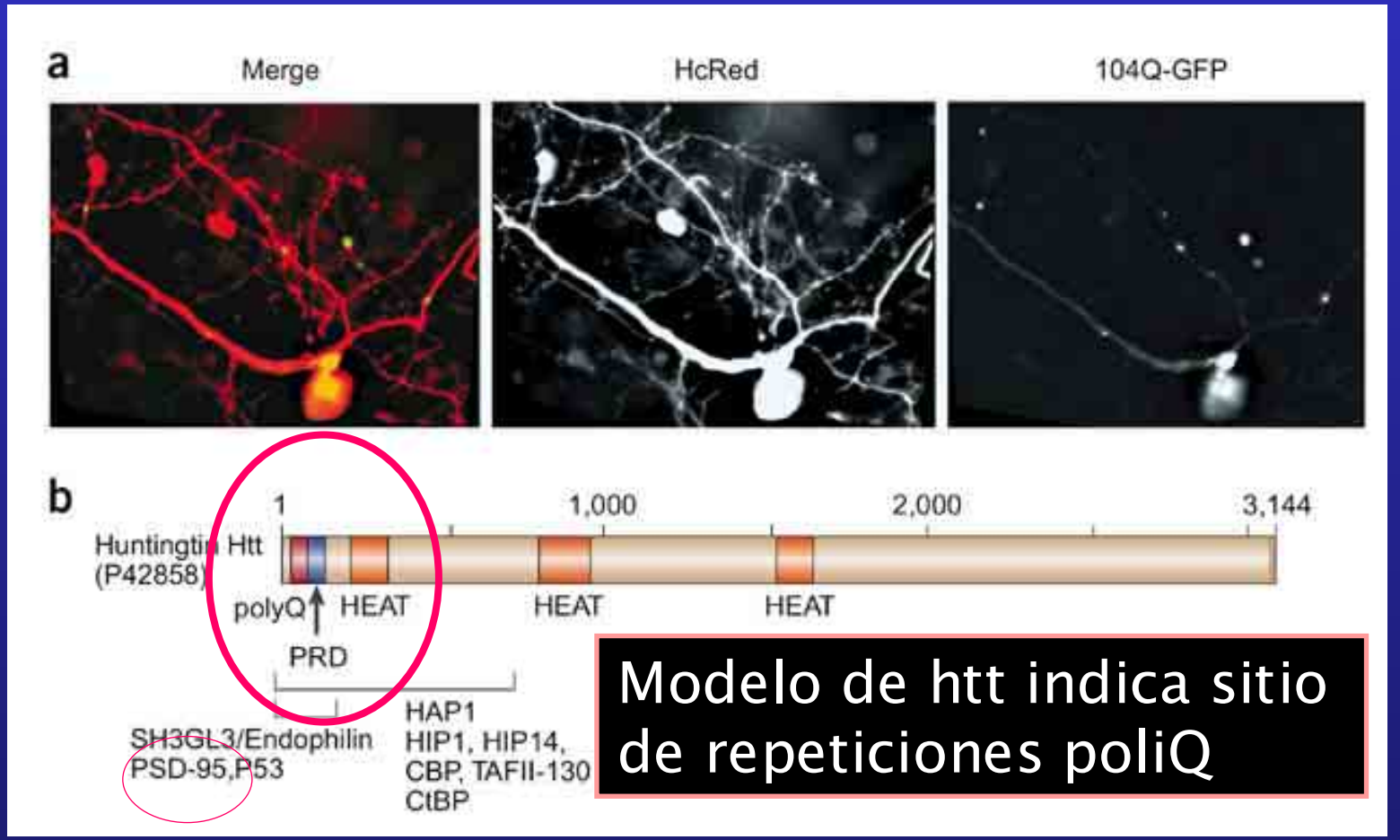
Es un agrupamiento rígido y enrrollado de fragmentos de **htt** mutada. Puentes de H enlazan los fragmentos

Inclusiones en HUNTINGTON



La proteína mutada **htt** es clivada y los fragmentos poliQ forman agregados en cuerpo, procesos y núcleo. Los agregados htt son ubiquitin positivos

AGREGACIÓN de **htt**



a. Agregados de poliQ repeticiones en neurona primaria transferida con vectores que codifican para 104Q-GFP y HcRed, proteína fluorescente en rojo

AGREGACIÓN Y HUNTINGTON

p95 proteína de la densidad postsináptica (PSD) que interactúa con receptor NMDA interactúa con el dominio rico en prolina de **htt**

Así puede htt modular la transmisión sináptica aprendizaje y memoria vía P95!!!

AGREGACIÓN Y HUNTINGTON

* Hay buena correlación entre:
  agregación y enfermedad en humanos
  el largo de poliQ y la densidad de inclusiones

* En cultivo de neuronas **htt**,
  las **inclusiones** predicen la sobrevida,
  el **nivel de htt** se correlaciona con muerte

  Los fragmentos cortos difusibles parecen disparar más disfunción y muerte neuronal que los agregados

* Sin embargo, las inclusiones están en áreas que degeneran, pero no se corresponden con las neuronas que degene

AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS Y ALS

AGREGACIÓN EN ALS

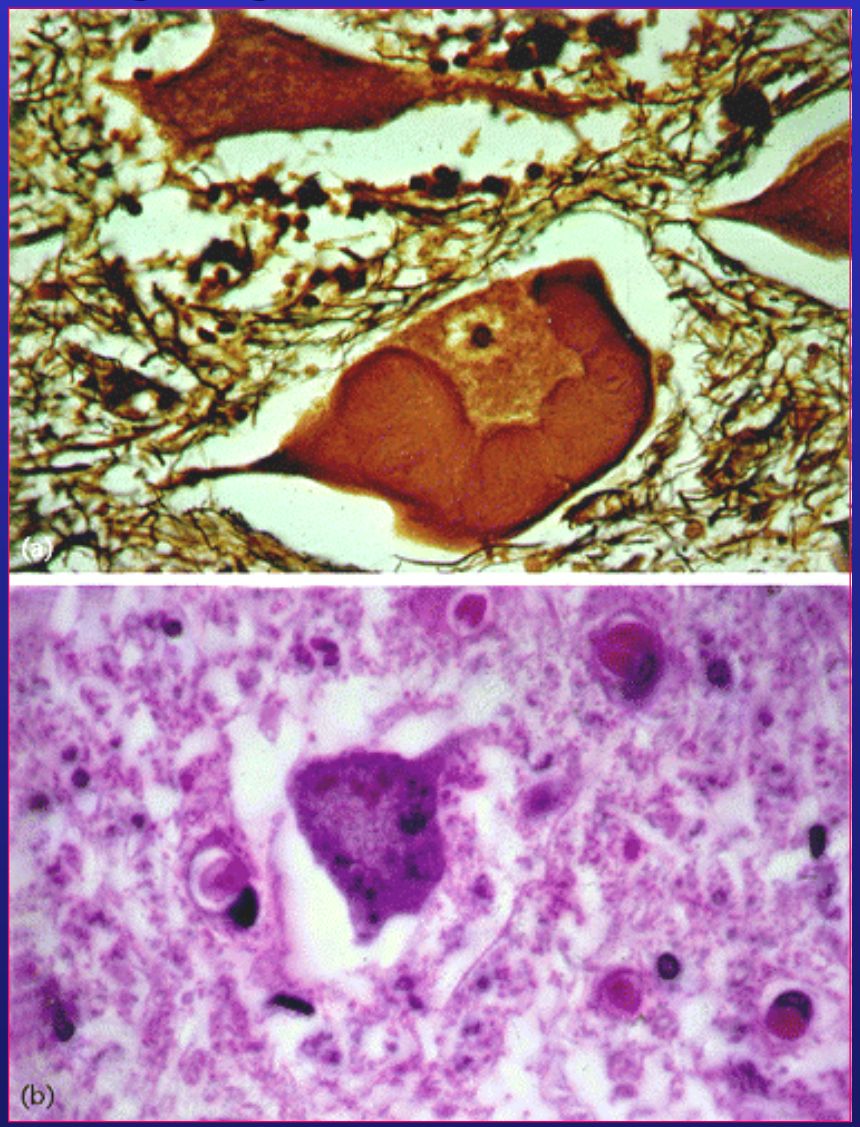
Hay en 2% de casos familiares mutación de la enzima antioxidante SOD1 que produce "ganancia tóxica" de función más que pérdida de la actividad catalítica

Se ha implicado en la disfunción y muerte neuronal de la motoneurona entre otros al mal plegamiento y agregación de SOD mutada

Agregados en ALS

Inclusiones cito-plasmáticas

Positivas a ubiquitin y neurofilamento en motoneuronas espinales de pacientes ALS



PROBLEMAS NO RESUELTOS EN AGREGACIÓN

¿Cuál es la forma tóxica: monómero,oligómero o agregado?

¿Por qué estas proteínas particulares tienden a la agregación?

¿Cuáles son los blancos primarios de las proteínas tóxicas?

¿Los blancos son compartidos en diversidad de estas enfermedades?

Aun NO SE SABE
CÓMO
Proteínas Anormales
llevan a ND

Se necesita determinar
el mecanismo de toxicidad
de la proteína mal conformada

Posibles mecanismos comunes de toxicidad

1. Sequestración de factores críticos
2. Inhibición del sistema Ub-proteasoma
3. Inapropiada inducción de caspasas y apoptosis
4. Inhibiciones de funciones específicas

TRATAMIENTOS COMUNES RACIONALES

* Bloquear expresión de la proteína tóxica
  Ej. Reducir expresión de htt mutante

* Acelerar la degradación de la proteína tóxica
  Bloquear el procesamiento proteolítico y transporte intracelular
  Ej. Eliminación de intermediarios Aβ

* Inhibir la tendencia de la proteína a agregarse con ella misma o con otras
  Ej. Aumentar las proteínas chaperonas HSP

DEGRADACIÓN DEFECTUOSA DE PROTEÍNAS

El MAL PLEGAMIENTO y AGREGACIÓN
son comunes en la mayoría de Enf. ND

Esto sugiere
que,

Anormalidades en la
Homeostasis de Proteínas
contribuyen a la patogénesis

Líneas de defensa que controlan la calidad de las proteínas

1. PROTEÍNAS CHAPERONAS
2. SISTEMA UBIQUITIN-PROTEASOMA
3. AUTOFAGIA MEDIADA EN LISOSOMA

En:

ALZHEIMER
PARKINSON
HUNTINGTON
ALS

la capacidad de estos sistemas de degradación es excedida y las proteínas se acumulan

1. **Chaperonas**
   Se asocian al polipéptido naciente en el ribosoma, promueven el plegamiento correcto y evitan las interacciones peligrosas

2. **Sistema Ub-Proteasoma (UPS)**
   Identifica y degrada proteínas incorrectas, no reparadas y no queridas

   FALLAS en detectar y eliminar proteínas mal plegadas puede contribuir a la ND

SISTEMA UBIQUITIN PROTEASOMA (UPS)

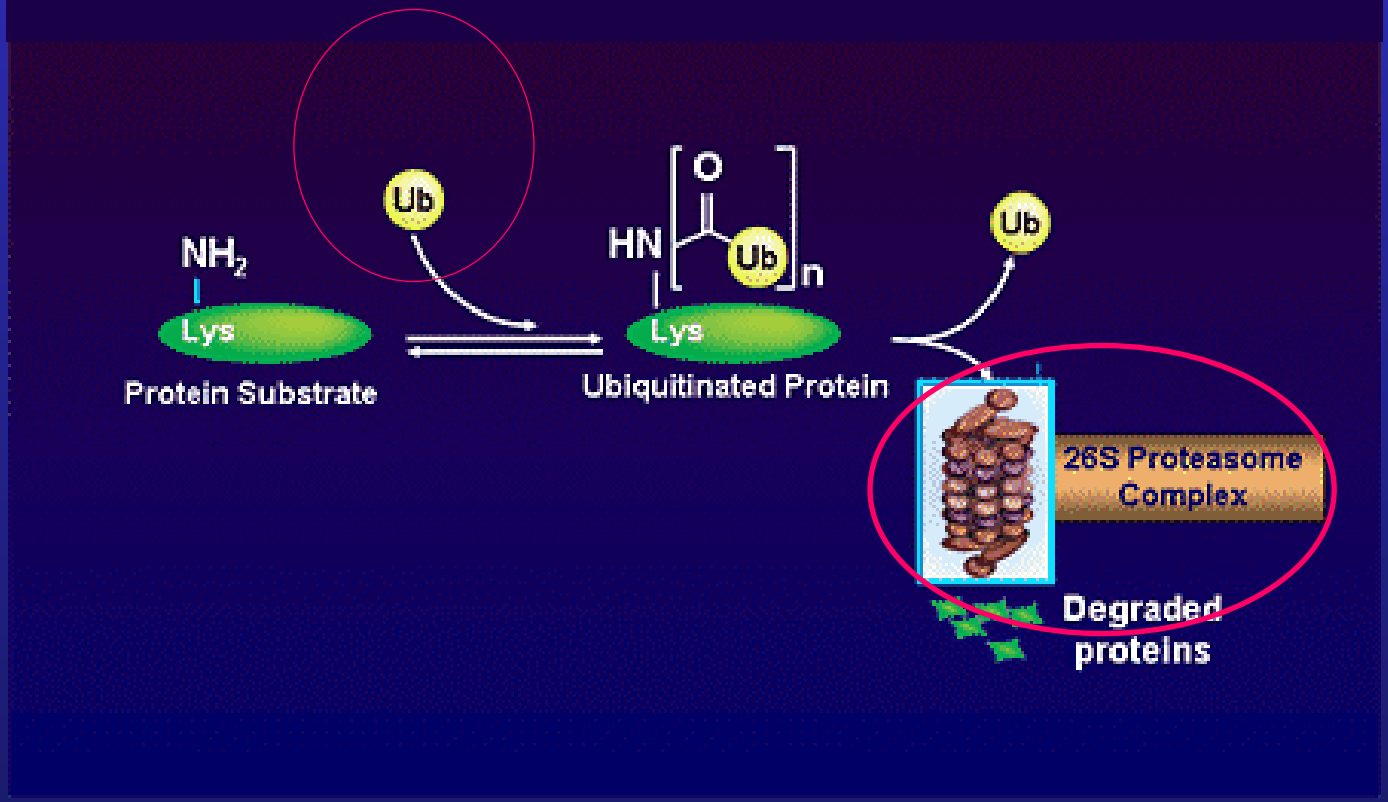
Gran complejo proteolítico que marca selectivamente y degrada proteínas citosólicas y nucleares

UBIQUITIN (Ub)

Proteína que al enlazarse **covalentemente** a otras proteínas las **MARCA** para ser degradadas luego en el proteasoma

La ubiquitinización **selectiva** se realiza por una serie de enzimas que constituye el sistema Ub ligasas

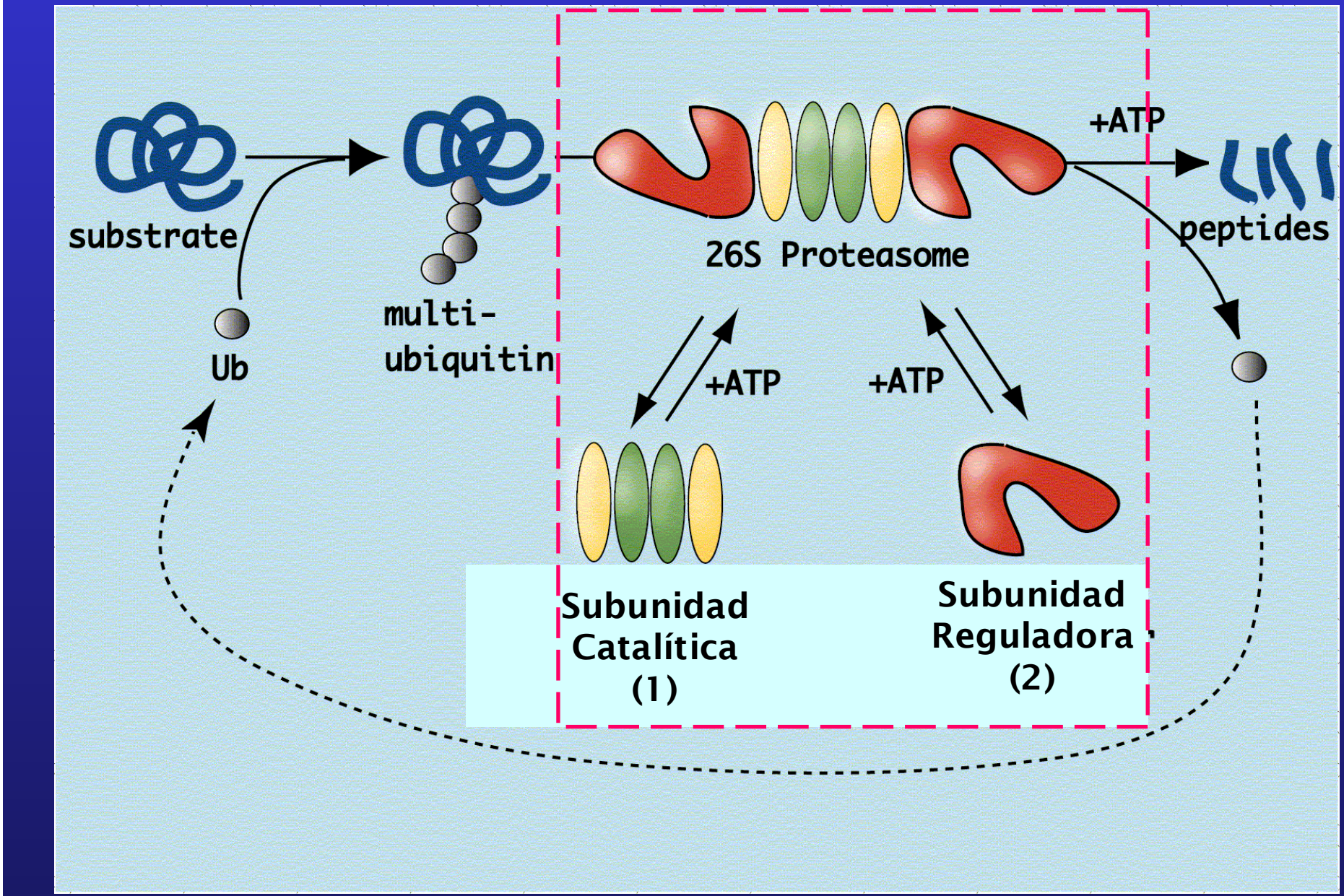
VÍA UBIQUITIN PROTEASOMA



PROTEASOMA

Gran complejo con múltiples subunidades que degrada en eucariotas proteínas celulares cuando no se necesitan más

1 subcomplejo catalítico
2 subcomplejos reguladores


substrate
Ub
multi-
ubiquitin
26S Proteasome
+ATP
peptides
+ATP
+ATP
Subunidad
Catalítica
(1)
Subunidad
Reguladora
(2)

FUNCIÓN DEL SISTEMA Ub-P

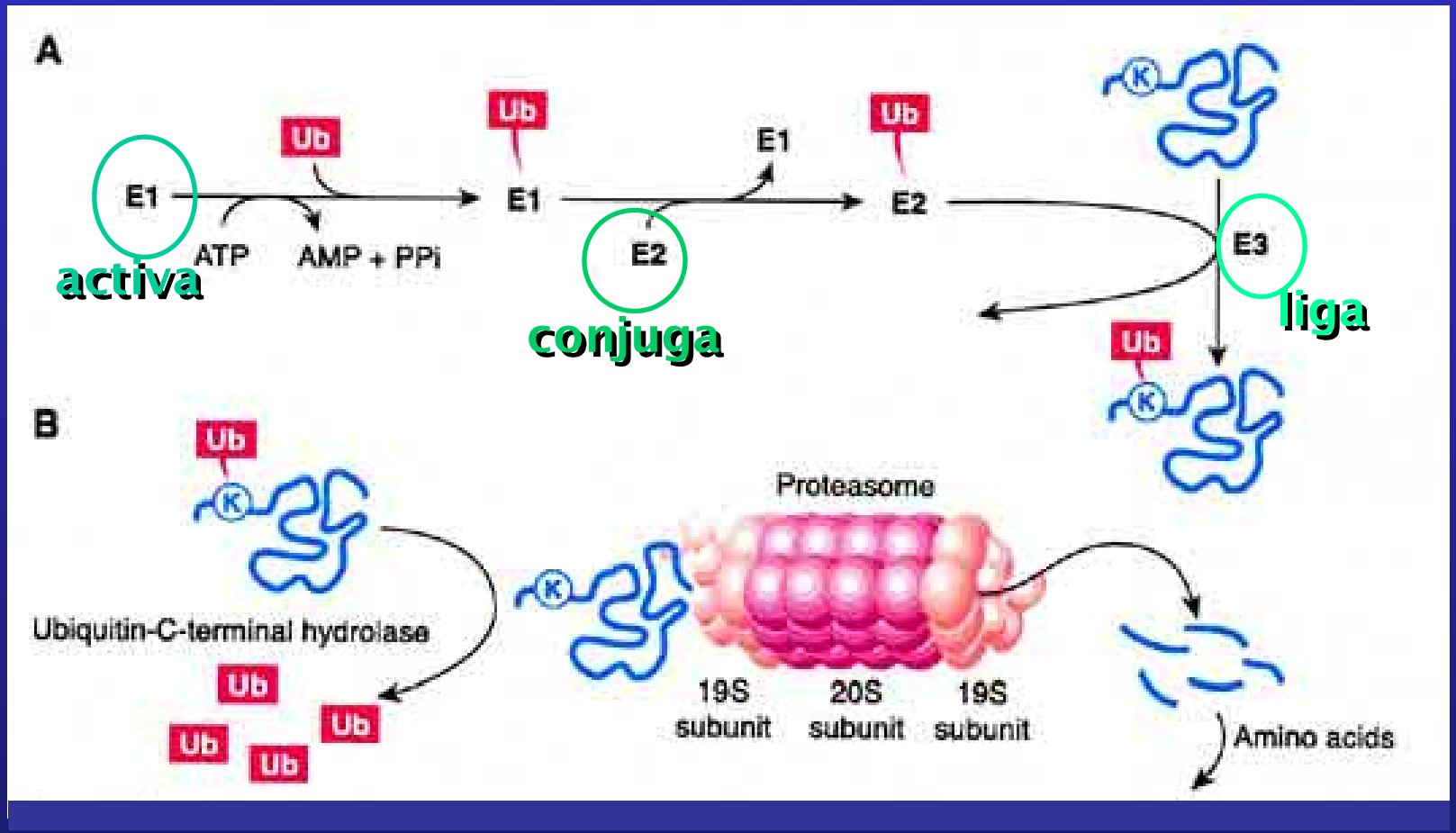
- El **ubiquitin** marca las proteínas para degradación en el **proteasoma**
- El proceso de ubiquitinación es **específico** y regulado
- El complejo proteasoma 26S esta presente abundantemente en todas las células
- La vía ubiquitin-proteasoma controla la homeostasis de las proteínas en la célula

LA **DEGRADACIÓN PROTEICA** OCURRE POR:

* conjugación de múltiples moléculas de Ub al sustrato, seguida por

* proteolisis de la proteína *marcada* en el complejo proteasoma 26S

SISTEMA UBIQUITIN-PROTEASOMA



A. Ubiquitinización selectiva con gasto de energía (E1-E3)

B. Sustratos marcados son reconocidos, desdoblados y degradados por el proteasoma

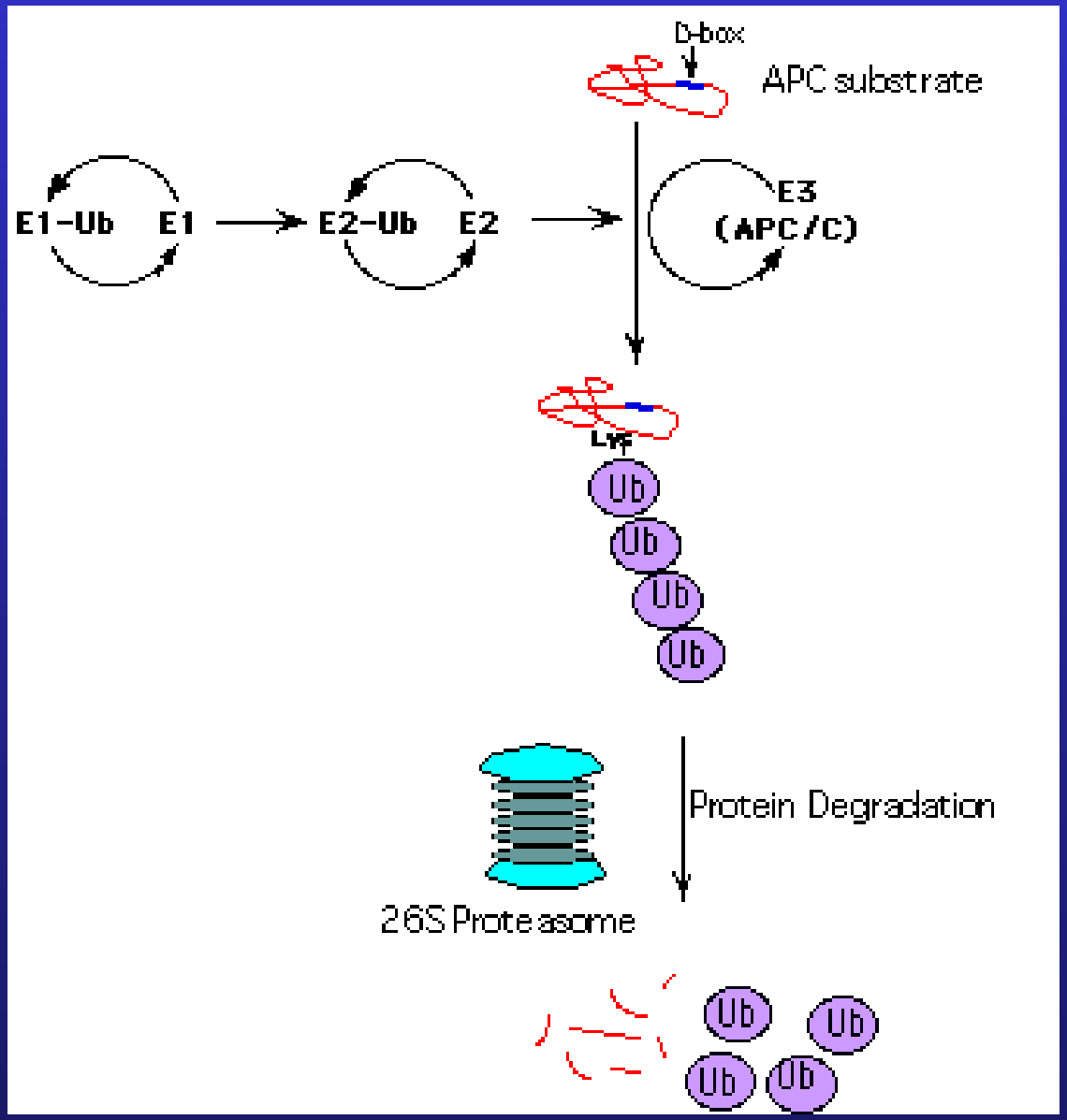
MARCAJE DE PROTEÍNAS CON Ub

Se necesitan 3 enzimas para que la proteína se ligue a Ub

E1: enzima que activa Ub con gasto de energía (**Gly** terminal C de Ub reacciona con **Lys** cadena lateral del sustrato)

E2: enzima que conjuga y cataliza la unión de Ub al sustrato

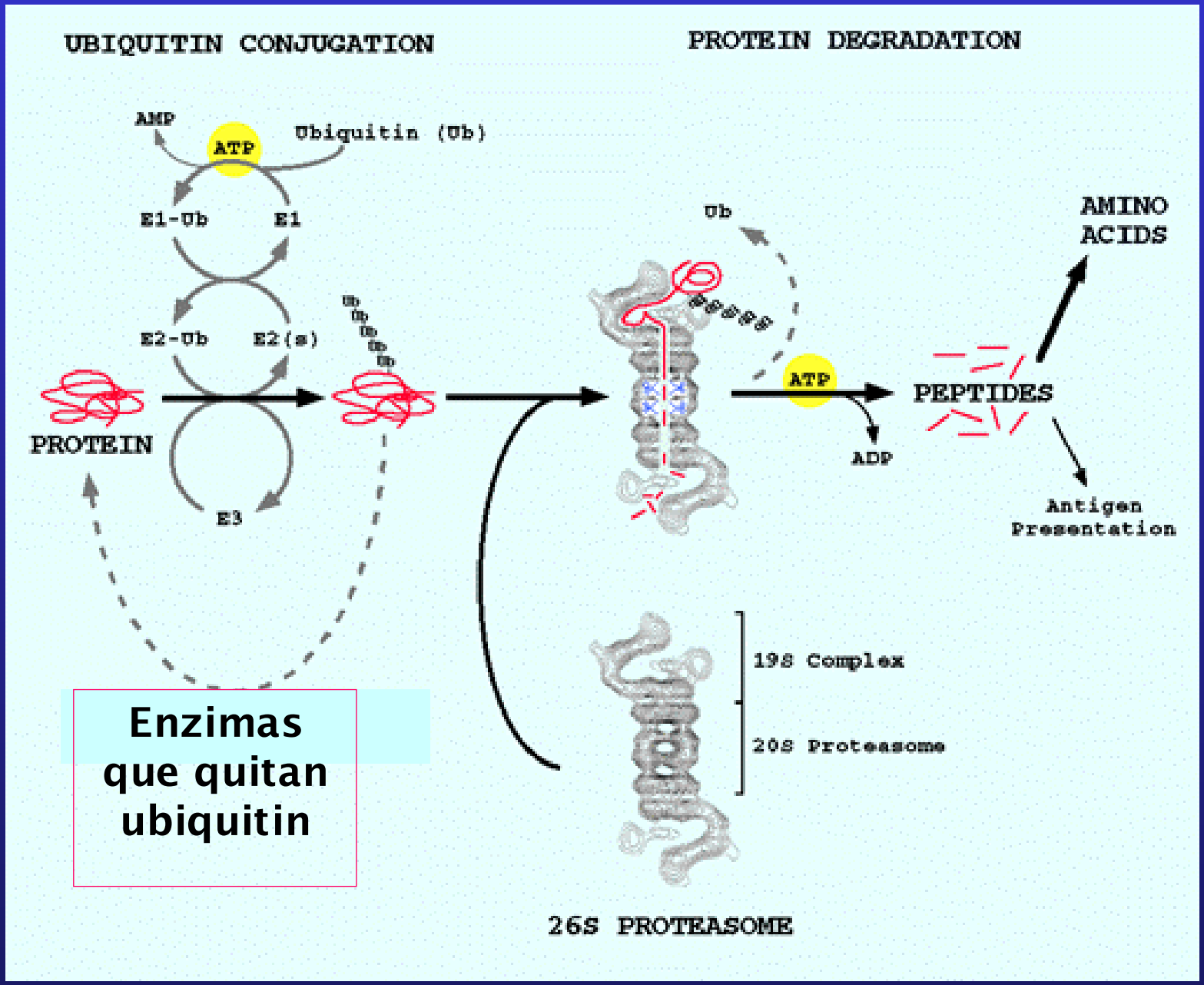
E3: enzima ligasa que junto con E2 reconoce al sustrato


D-box
APC substrate
E1-Ub
E1
E2-Ub
E2
E3
(APC/C)
Lys
Ub
Ub
Ub
Ub
Protein Degradation
26S Proteasome
Ub
Ub
Ub
Ub

* La ubiquitinización ENLENTECE la degradación

  La proteína-Ub interactúa mayor tiempo con el proteasoma. Esto aumenta la probabilidad de que el proteasoma la degrade

* Hay enzimas que remueven Ub para evitar degradación indiscriminada


UBIQUITIN CONJUGATION
PROTEIN DEGRADATION
AMP
ATP
Ubiquitin (Ub)
E1-Ub
E1
E2-Ub
E2(s)
E3
PROTEIN
Ub
ATP
ADP
AMINO ACIDS
PEPTIDES
Antigen Presentation
19S Complex
20S Proteasome
26S PROTEASOME
Enzimas que quitan ubiquitin

El SISTEMA Ub -PROTEASOMA

Es la vía principal del catabolismo de proteínas,importante para el mantenimiento celular y recambio de muchas proteínas reguladoras

Las chaperonas cooperan aquí para mediar degradación de proteínas anormales

BALANCE
DEGRADACIÓN/ NO DEGRADACIÓN

Regula
la cantidad de proteínas
de la célula

ENF. NEURODEGENERATIVAS

* Hay depósitos de proteínas aberrantes Ub positivas

  Ej. Cuerpos de Lowy: α synuclein + Ub
  Tau + Ub en NFT y placas

* Pueden significar intentos fallidos de de eliminar proteínas dañadas

* La agregación de estas proteínas parece ser un mecanismo de protección aún no bien conocido

DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS Y PARKINSON

Además de:

- Estrés oxidativo
- Disfunción mitocondrial

Existe,

- Déficit estructural y funcional del UPS con agregación de α synuclein anormal

DEGRADACIÓN DEFECTUOSA Y PARKINSON

Mutaciones

Además de α SYNUCLEIN,

Existen
PARKIN: proteína como ligasa E3
UCHL-1: Ub C terminal hidrolasa
DJ1: proteína como chaperona

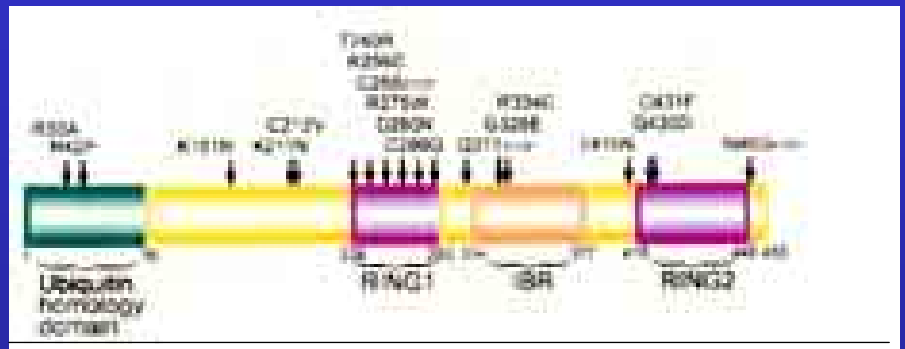
Estas 3 se relacionan con los sistemas de regulación de calidad de proteínas

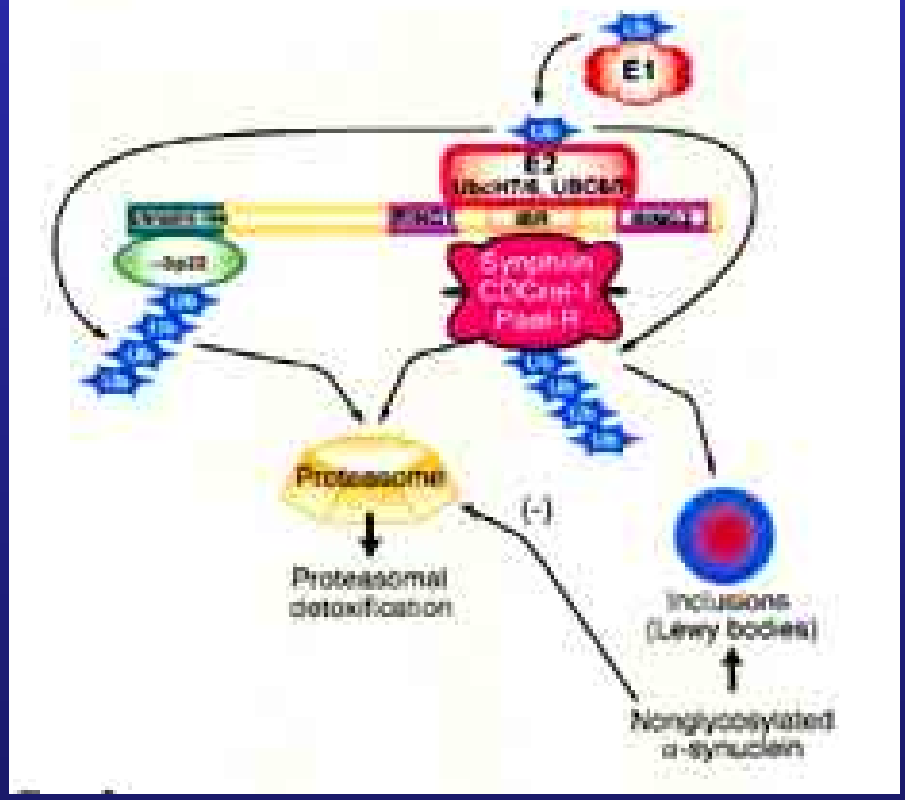
PARKIN

Estructura de **parkin** (funciona como ligasa E3)

En **PD familiar** por mutación de Parkin **NO HAY** Cuerpos de Lewy

En **PD esporádico** la Ubiquitinación mediada por parkin,lleva a formar Cuerpos de Lewy por actuar sobre Synfilin que a su vez Interactúa sobre α synuclein **(?)**





PARKIN parece actuar sólo sobre
α synuclein aberrante y su efecto protector
parece ser rescatar la función UPS

La sobreexpresión de α **synuclein**
agregada inhibe al proteasoma

Las N.DA parecen ser especialmente
VULNERABLES a inhibición del proteasoma

PARKIN:
participaría en detoxificación de proteínas acumuladas por rescatar la función UPS

DJ1:
participaría en detoxificación de proteínas por su función de chaperona putativa

* La pérdida de sus funciones puede reducir la habilidad de la célula para lidiar con la disfunción del proteasoma

Inhibición del Complejo Mitocondrial I

↓

Agregación de α synuclein

↓

Inhibición del UPS

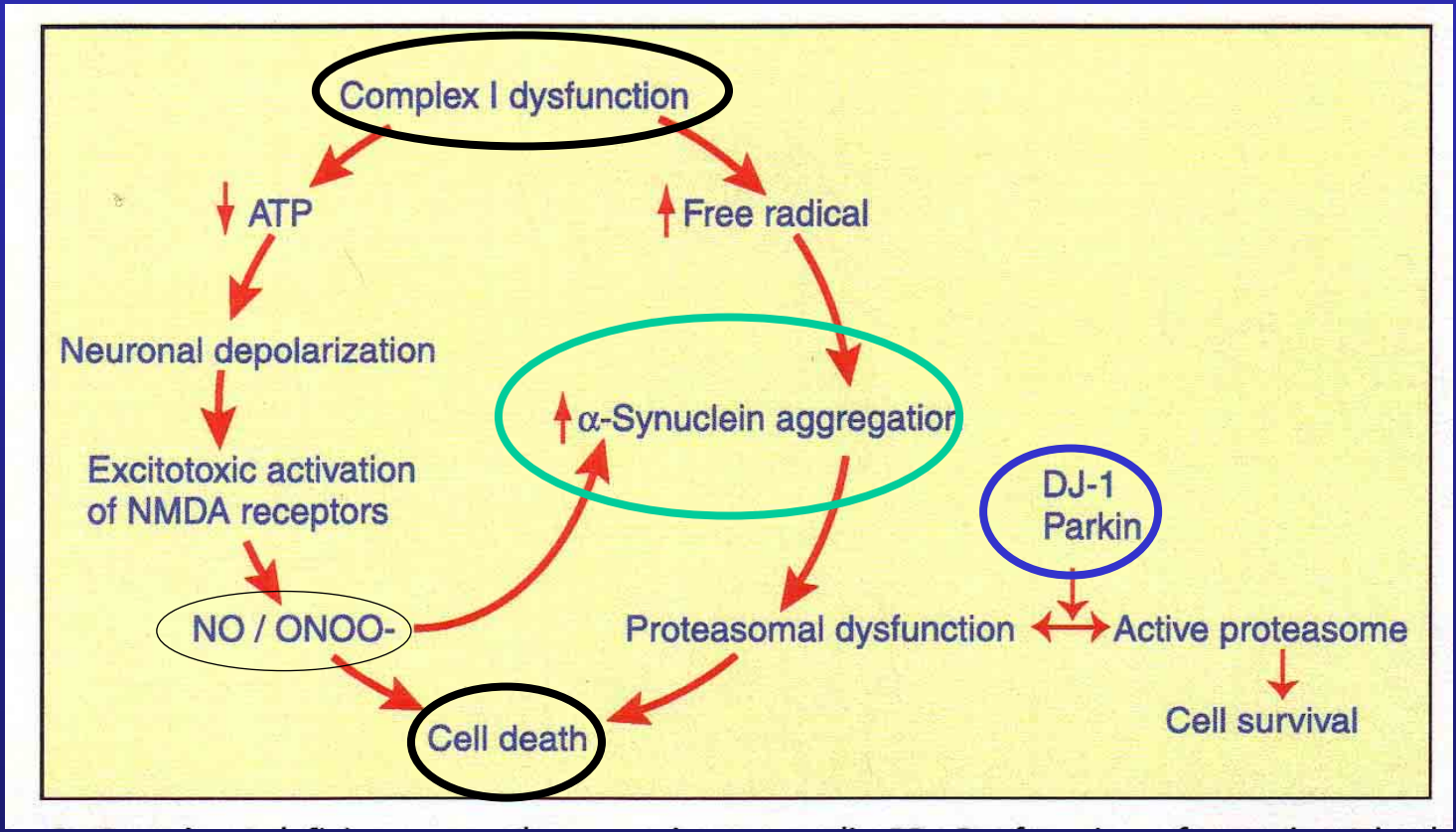
↓

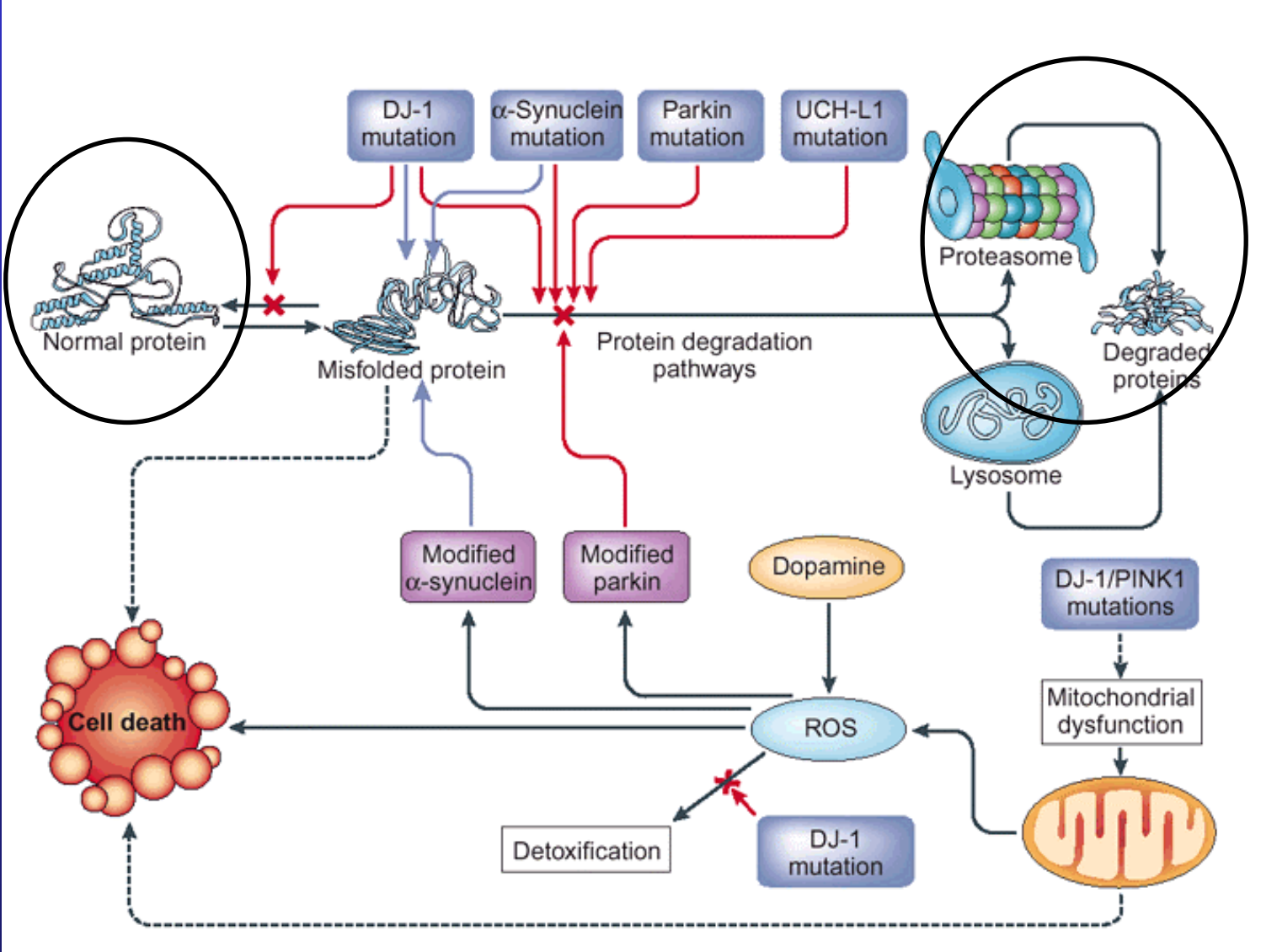
Falla en degradación de proteínas

↓

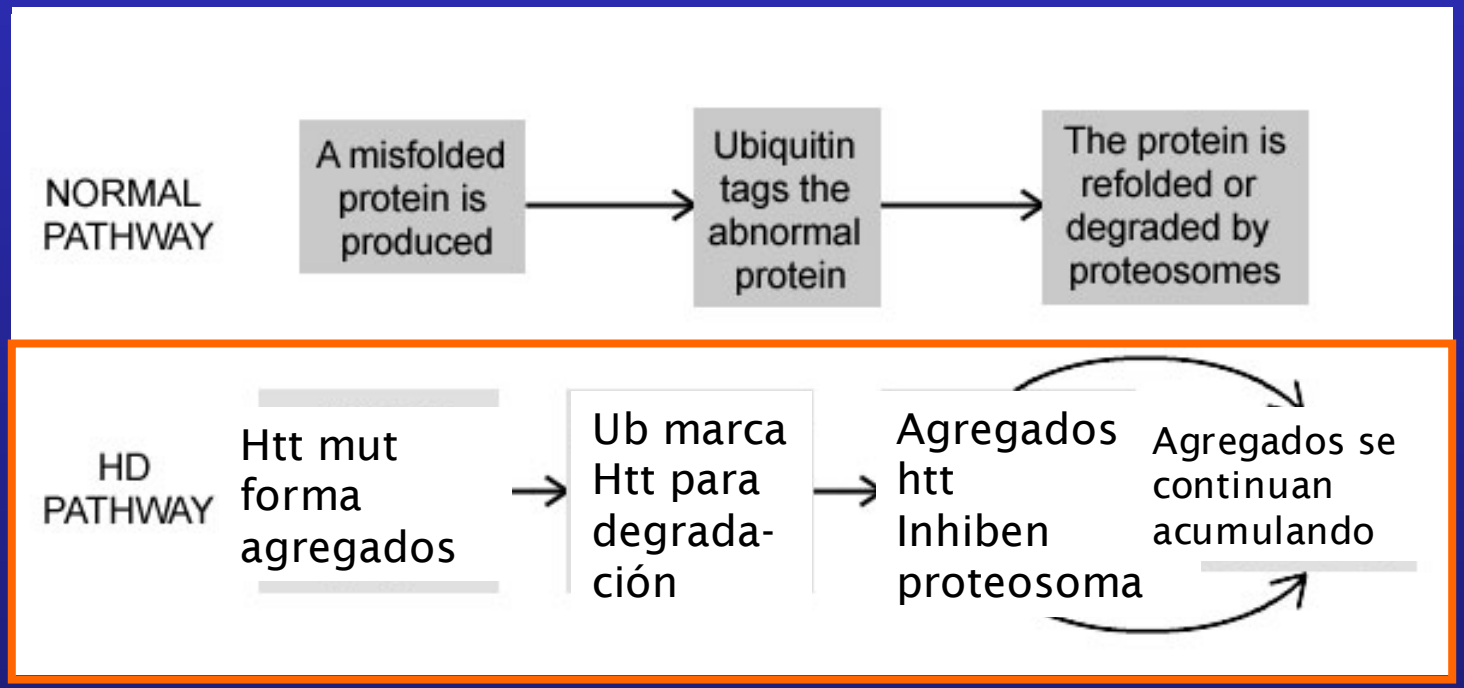
Muerte N. DA

DISFUNCIÓN DEGRADACIÓN EN PARKINSON




DJ-1 mutation
α-Synuclein mutation
Parkin mutation
UCH-L1 mutation
Normal protein
Misfolded protein
Protein degradation pathways
Proteasome
Degraded proteins
Lysosome
Modified α-synuclein
Modified parkin
Dopamine
DJ-1/PINK1 mutations
Cell death
ROS
Mitochondrial dysfunction
Detoxification
DJ-1 mutation

DEGRADACIÓN Y HUNTINGTON



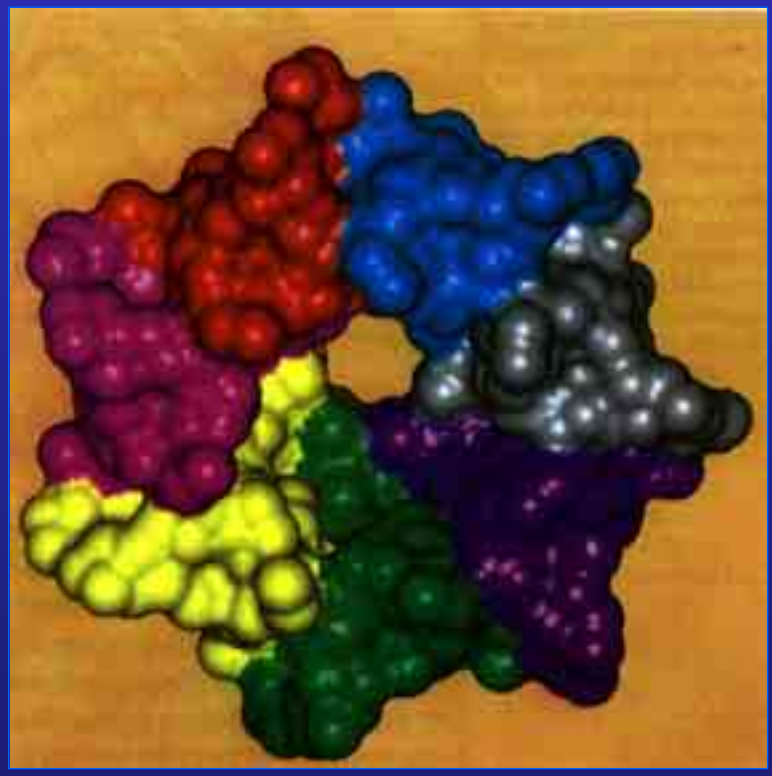
CHAPERONAS
Y
DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS

PROTEÍNAS CHAPERONA

Facilitan el plegamiento apropiado de proteínas

Se enlazan para estabilizar a proteínas plegadas o parcialmente plegadas

Evitan interacciones inapropiadadas con proteínas vecinas



Forma de rosquilla

CHAPERONAS

Varias familias de proteínas altamente conservadas que median el plegamiento correcto de otras proteínas

Se dirigen a proteínas mal plegadas y evitan su agregación

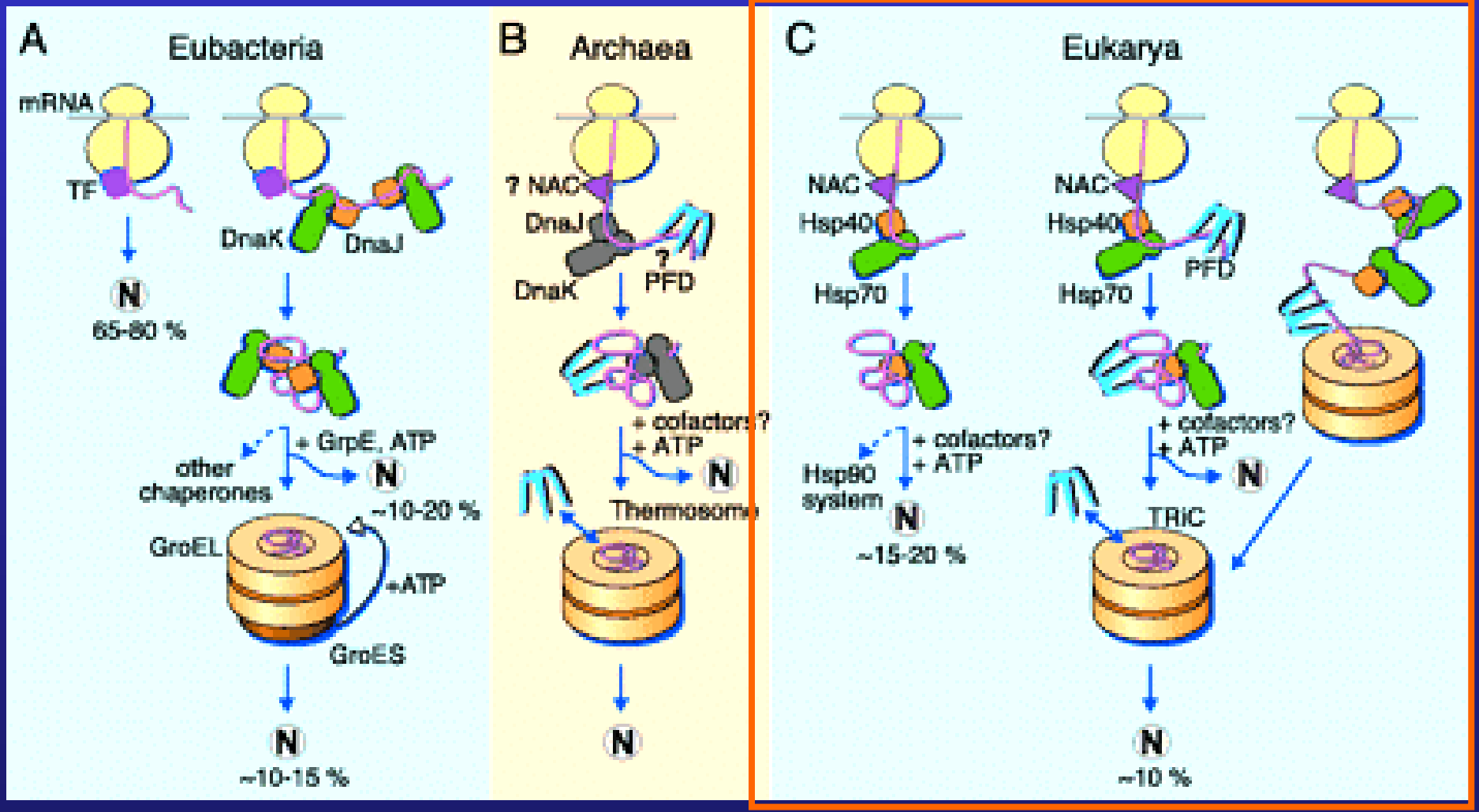
Chaperoninas o HSP

Chaperonas pequeñas que trabajan en plegamiento de péptidos complejos

Se disparan con aumento de temperatura: proteínas *heat shock* (HSP) y otros estrés celular como ROS

Recuperan las proteínas del daño por estrés

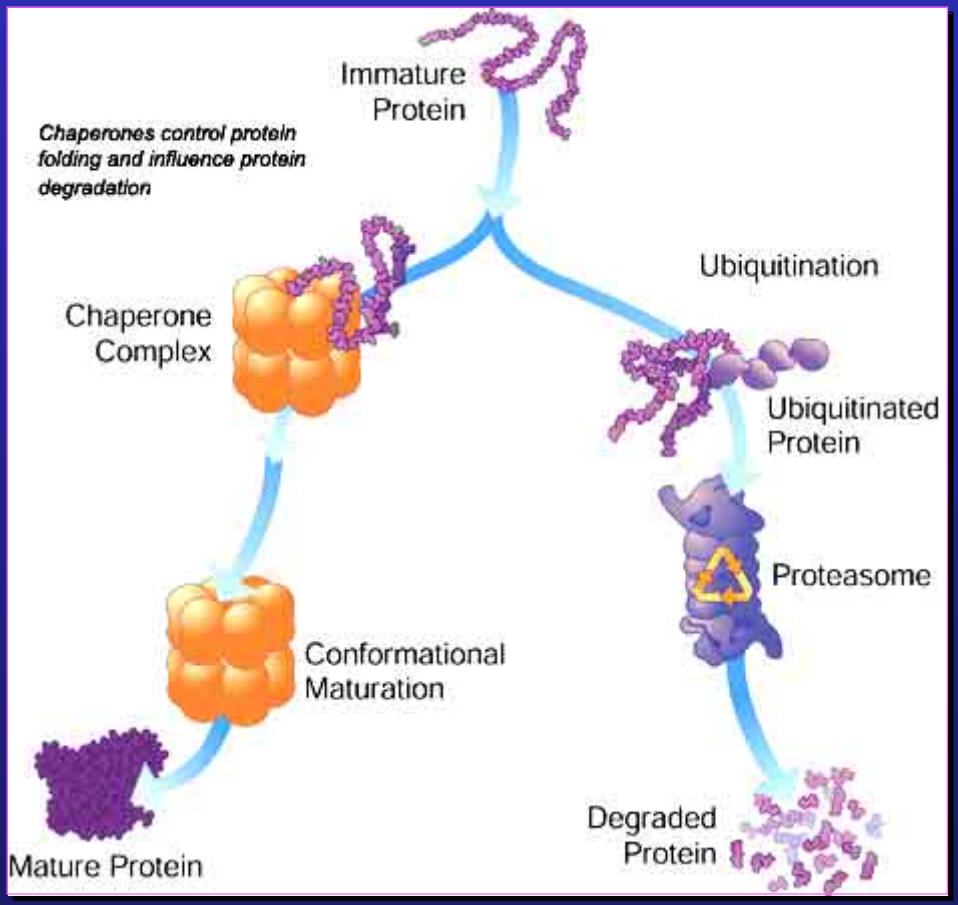
CHAPERONAS HSP



Corrige el plegamiento de la proteína al salir del ribosoma

Plegamiento y Degradación de Proteínas

Chaperonas

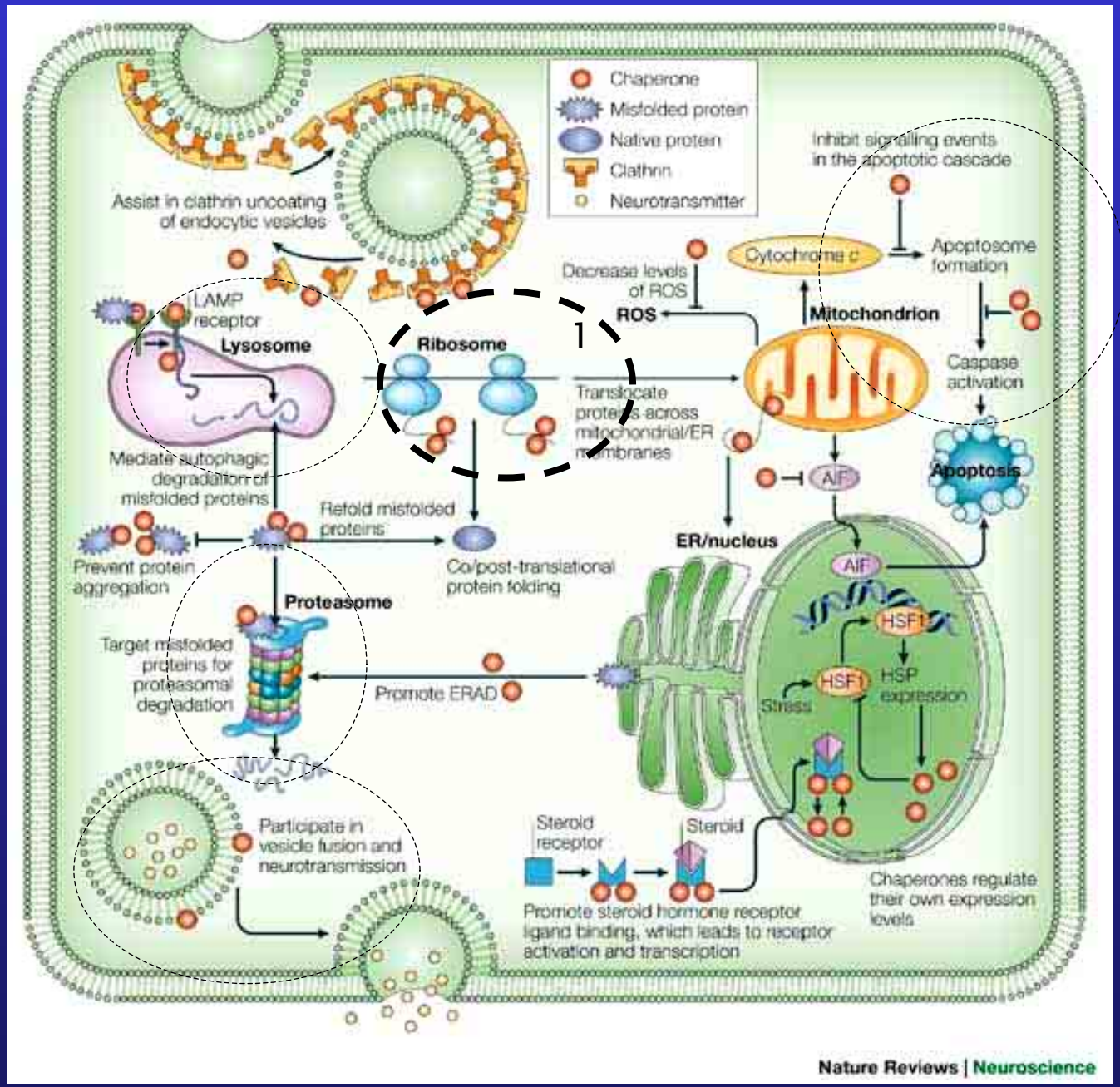


Sistema Ubiquitin-Proteasoma

Funciones de chaperonas

1. Facilitan plegamiento y previenen agregación

2. Regulan:
   - Autofagia
   - Fusión de vesículas
   - Signal transduction
   - Apoptosis
   - Degradación proteasomal



CHAPERONAS
Y
NEURODEGENERACIÓN

En neurodegeneración

Las chaperonas se colocalizan con las proteínas aberrantes y los componentes del UPS

CHAPERONAS en Alzheimer

Disminuyen hiperfosforilación de tau
Aumentan tau desfosforilada
Suprimen muerte mediada por tau

CHAPERONAS en Parkinson

Pueden aumentar replegamiento y/o promover degradación de α synuclein
Disminución de HSP aumenta α synuclein oxidada resistente a degradación en UPS
Sobreexpresión de HSP disminuye α synuclein oxidada insoluble

CHAPERONAS en ALS

Hay disminución HSP. Esto lleva a aumentar proteínas oxidadas dañadas resistentes a la degradación
En motoneuronas ALS el estrés no induce HSP
La inducción de HSP con ARIMOCLOMOL enlentece la progresión de la enfermedad

La inyección de vectores con HSP y SOD mut en motoneuronas disminuye la toxicidad de SOD mut y aumenta la sobrevida

CHAPERONAS en Enfermedades PoliQ

El aumento de HSP suprime la formación de PoliQ y cuerpos de inclusión

CHAPERONAS (HSP)

AD: disminuyen hiperfosforilación de tau

PD: disminuyen α synuclein agregada

ALS: aumento de HSP enlentece progresión de enfermedad

poliQ: suprime formación de cuerpos de inclusión

Las chaperonas aumentan la solubilidad de Cuerpos de Inclusión

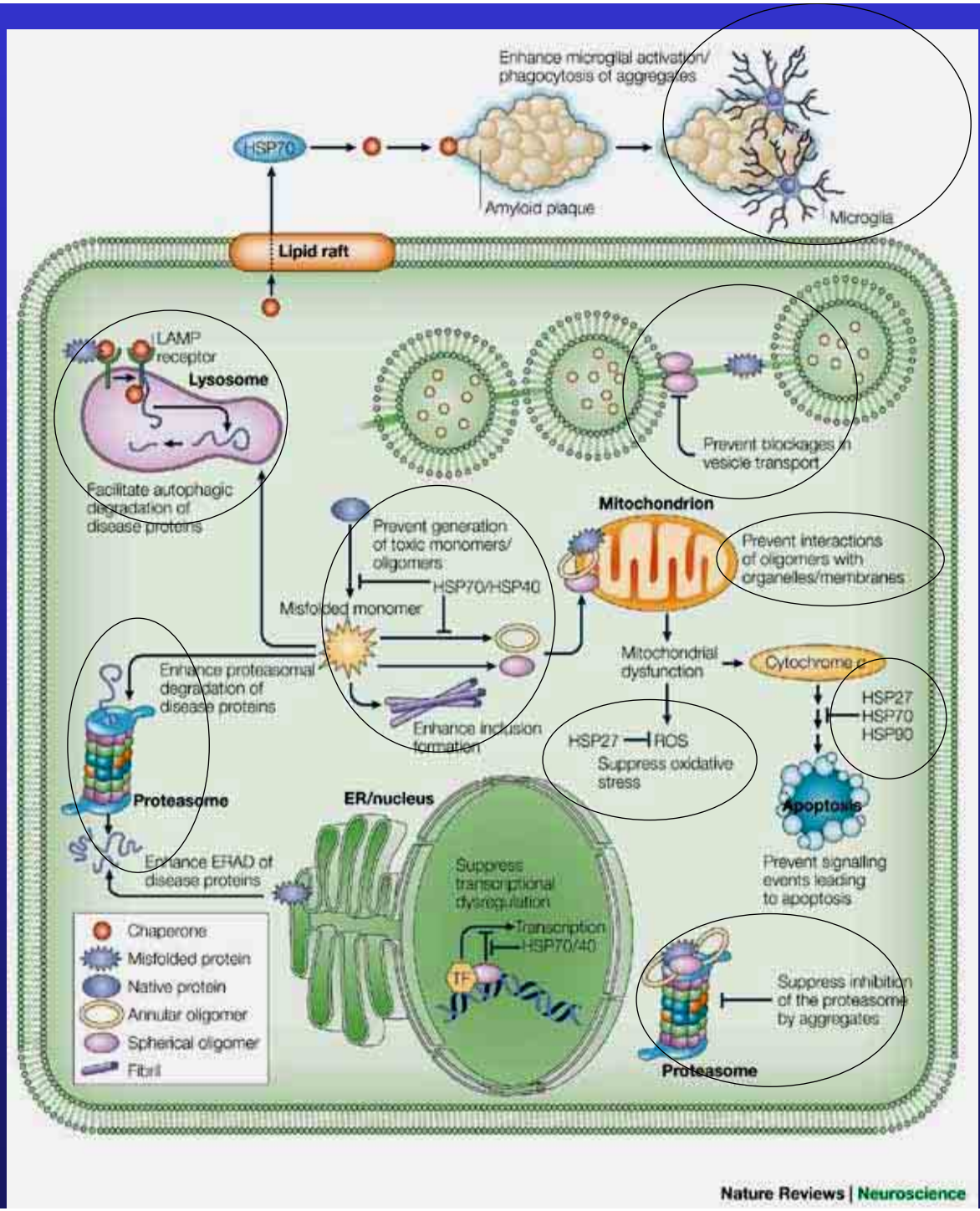
La neuroprotección podría relacionarse con alteraciones bioquímicas más que con alteraciones morfológicas

CHAPERONAS EN ND

Podrían prevenir toxicidad de proteínas anormales por:

1. Bloquear interacciones proteicas inapropiadas
2. Facilitar degradación y sequestración
3. Bloquear señales, cascadas que llevan a disfunción y muerte

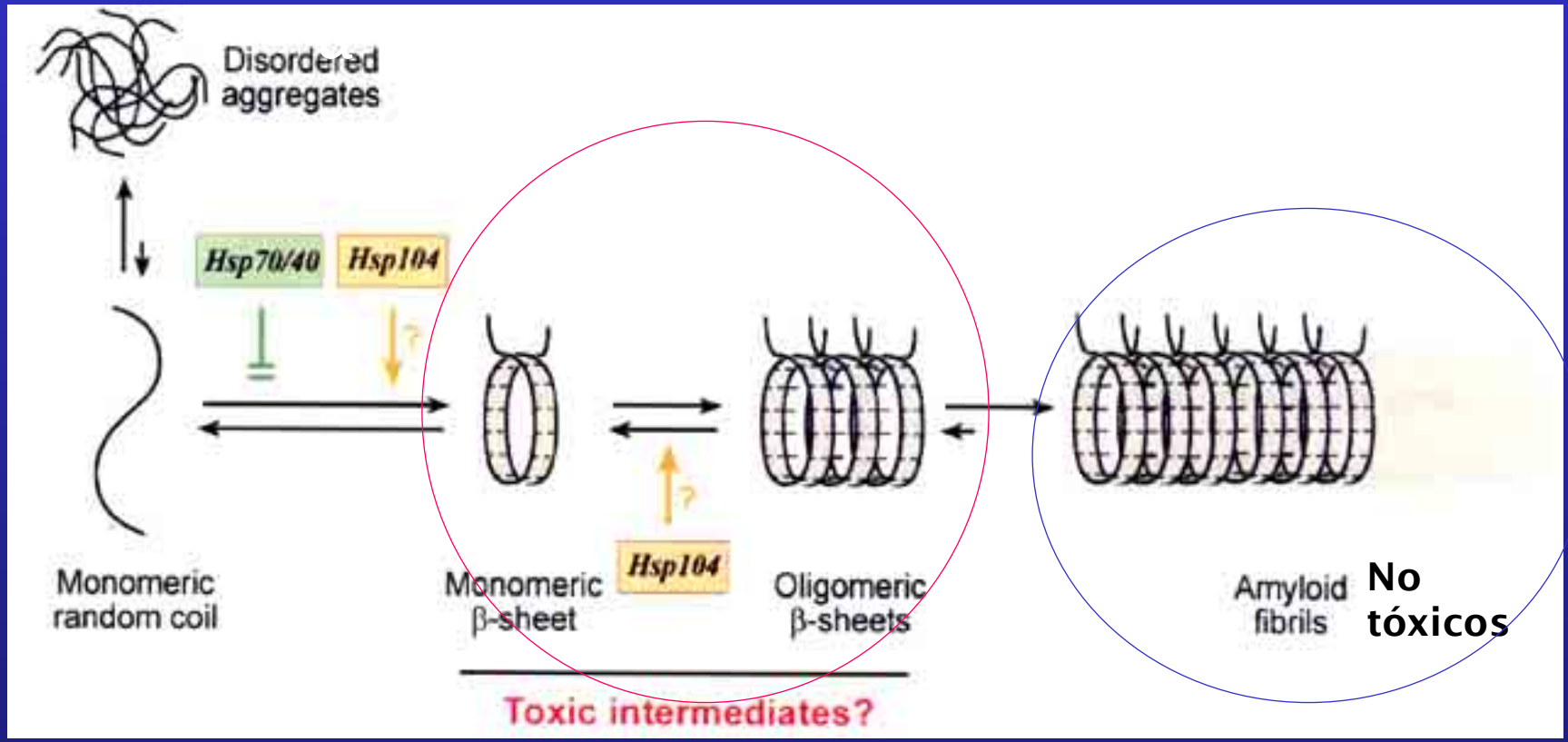
Acción de Chaperonas sobre toxicidad de Proteínas Anormales



FUNCIONES DE CHAPERONAS EN ND

1. Previenen formación de tóxicos oligómeros
2. Aumentan formación de inclusiones
3. Aumentan degradación de proteínas: proteosoma, RE, lisosoma
4. Previenen señales de apoptosis
5. Previene inhibición de proteasoma por agregados
6. Suprimen estrés oxidativo
7. Aumentan actividad de microglia y fagocitosis de agregados

Agregación **poliQ** y acción de chaperonas

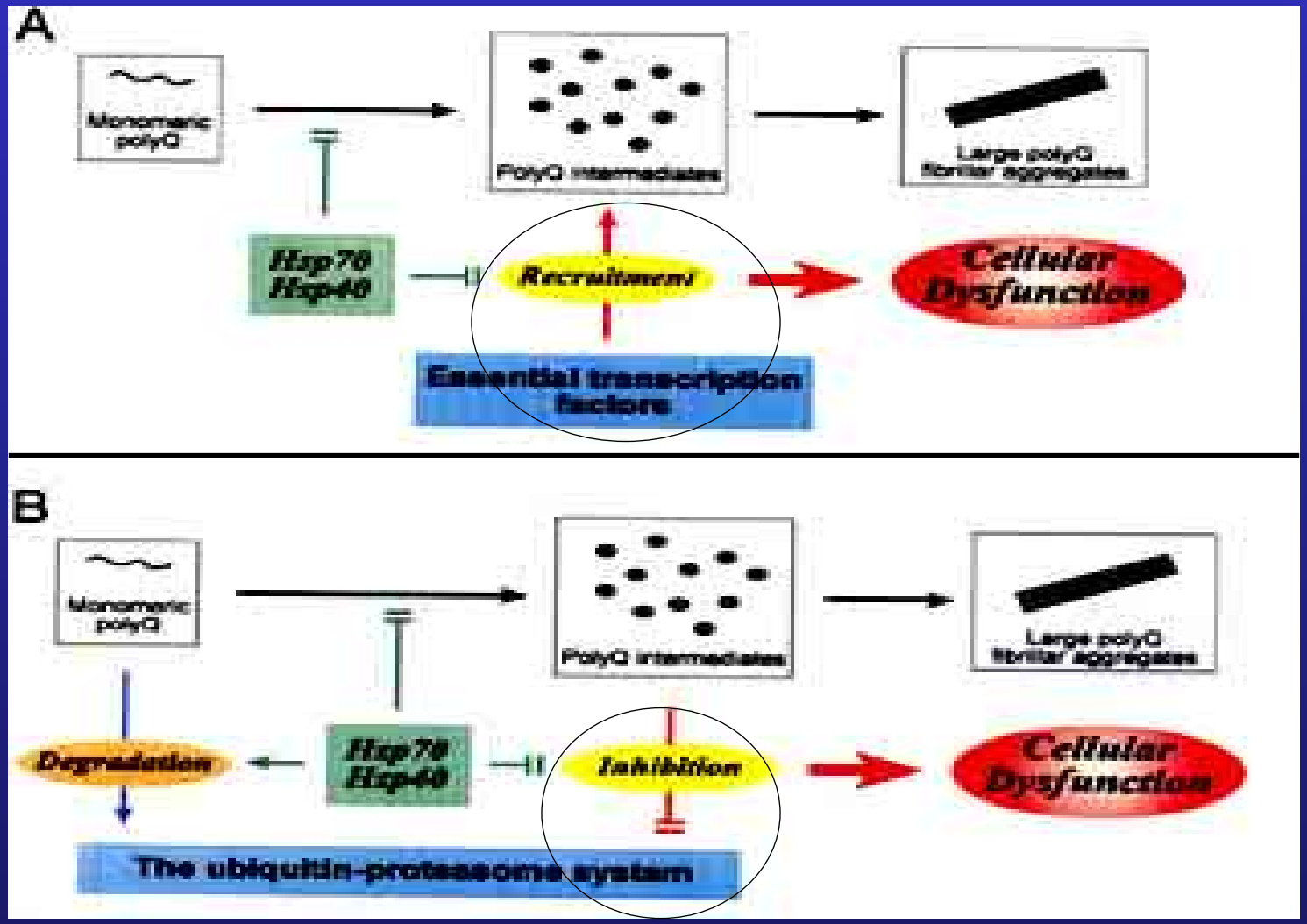


Conversión de poliQ monómeros a conformación β sheet seguido de oligomerización y formación de fibrillas amiloide

Hsp70/40 previenen el cambio de conformación y formación de agregados

Hsp104 a baja concentración promueve conversión a β sheet pero a alta puede disociar los oligómeros solubles enlenteciendo la agregación

Toxicidad mediada por poliQ y supresión por chaperonas



AUTOFAGIA MEDIADA EN LISOSOMA

Es una importante vía de Degradación de Proteínas Intracelulares del citosol y organelos y también podría degradar proteínas agregadas

OTROS MECANISMOS PATOGÉNICOS

1. Excitotoxicidad
2. Inflamación
3. Alteración homeostasis de metales

Continua...