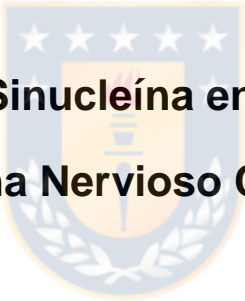




Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas-Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas,
Área Biología Celular y Molecular



Efectos de α -Sinucleína en neuronas del Sistema Nervioso Central

CARLA ROCÍO PACHECO MURILLO
CONCEPCIÓN-CHILE
2013

Profesores Guía: Dr. Luis Aguayo Hernández
Dr. Carlos Opazo Martínez
Dpto. de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson es un desorden neurodegenerativo progresivo que se caracteriza por la presencia de agregados proteicos denominados cuerpos de Lewy, que están constituidos principalmente por la proteína α -sinucleína, cuyo rol en esta enfermedad aún no se ha determinado. Sin embargo, estudios genéticos en humanos y biología molecular en ratones, sugieren que α -sinucleína estaría involucrada en la aparición temprana de la enfermedad de Parkinson. Al respecto, se ha postulado que la acumulación de α -sinucleína en el espacio extracelular podría alterar membranas neuronales a través de la formación de “estructuras tipo poro”, lo que llevaría a alteraciones en la homeostasis iónica de la célula. No obstante, esto nunca ha sido demostrado en membranas neuronales.

En la presente tesis se realizaron una serie de experimentos electrofisiológicos, bioquímicos y de biología celular que indican que oligómeros de α -sinucleína (500 nM) rápidamente se asocian de manera puntiforme a neuronas hipocampales, dado principalmente por el componente proteico de la membrana, lo que resulta en un incremento en la conductancia (5 veces sobre el control) con el subsecuente influjo de Ca^{2+} y de un análogo fluorescente de glucosa. Este incremento en el Ca^{2+} intracelular (1.7 veces sobre el control) causa un incremento significativo en diferentes parámetros de la transmisión sináptica tales como la frecuencia de las transitorias de Ca^{2+} , la frecuencia de las corrientes sinápticas en miniatura, el decaimiento de la fluorescencia asociada a FM1-43 y el aumento en el número de puntas para SNAP25, lo que ocurre sin cambios en la

viabilidad neuronal. Sin embargo, se observaron algunos cambios morfológicos apoptóticos asociados a neuronas hipocampales circundadas por “macro” agregados de α -sinucleína.

Al realizar incubaciones prolongadas con oligómeros de α -sinucleína (5 μ M por 24 horas), todavía en ausencia de cambios en la viabilidad celular, se observó una depleción vesicular representada por la disminución en el número de puntas para SV2, sugiriendo que oligómeros de α -sinucleína inducirían un falla sináptica en forma concentración-tiempo dependiente. Esto concuerda con los resultados obtenidos con otras proteínas amiloides formadoras de poros, como el A β , el cual en condiciones crónicas de tratamiento induce una disminución en la transmisión sináptica de neuronas hipocampales.

Es importante destacar que el efecto perforante de oligómeros de α -sinucleína es célula dependiente, ya que la línea celular dopaminérgica RCSN-3, fue resistente a la acción permeabilizante de α -sinucleína, incluso en presencia de un conocido inductor de Parkinsonismo como lo es el pesticida rotenona, lo que se correlacionó con la formación de cuerpos de inclusión constituidos por la proteína exógena con características tipo agresoma. Nuestros resultados indican además que éstos agregados intracelulares indujeron la formación de agregados de α -sinucleína endógena. Sin embargo, a pesar de la resistencia presentada en las células RCSN-3, α -sinucleína indujo un incremento en los niveles de Ca^{2+} intracelular, efecto bloqueado en presencia de Co^{2+} , bloqueador inespecífico de canales de Ca^{2+} .

En conclusión, las evidencias presentadas permiten proponer que las acciones extracelulares de oligómeros de α -sinucleína podrían estar mediadas por la formación de perforados de α -sinucleína en la membrana plasmática como también por la formación de cuerpos de inclusión de esta proteína, lo cual explicaría las etapas iniciales de la sinaptotoxicidad que proponemos conduce a la neurodegeneración que se observa en las etapas tardías de las enfermedades neurodegenerativas asociadas con la acumulación de α -sinucleína extracelular. Esta información podría ser de utilidad para implementar nuevas estrategias terapéuticas para aliviar los problemas motores y cognitivos que presentan los pacientes con la enfermedad de Parkinson.

