



**FACULTAD DE FARMACIA**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:**

**“MODELOS ANIMALES DE ENFERMEDAD  
DE PARKINSON”**

Autores: Javier Cuenca Alcañiz

María Jesús González Sánchez

DNI: 47398509-V

70081929-D

Tutor: Luis García García

Convocatoria: Junio 2016

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	1-8
Causas .....	1-2
Clínica .....	3-4
Neuroquímica .....	4-5
Diagnóstico .....	5
Tratamiento .....	5-7
OBJETIVOS .....	8
METODOLOGÍA .....	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	8-16
Rotenona .....	9-10
Paraquat .....	11
6-Hidroxiopamina .....	12-13
MPTP .....	13-15
Parkinsonismo experimental en animales transgénicos .....	15-16
CONCLUSIONES .....	16-17
BIBLIOGRAFÍA .....	17-18

## **RESUMEN**

Este trabajo parte de una breve explicación de la enfermedad de Parkinson, para después profundizar en los actuales modelos animales para su estudio.

La enfermedad de Parkinson es el segundo trastorno neurodegenerativo más frecuente, tras la enfermedad de Alzheimer, y se estima que, debido al envejecimiento de la población, su prevalencia puede llegar a duplicarse en los próximos 25 años. La enfermedad se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad y una alta carga económica. <sup>(1)</sup>

Por tanto, resulta importante establecer ciertos modelos animales, con el fin de investigar la enfermedad, para así continuar el avance en el tratamiento del Parkinson y finalmente mejorar la calidad de vida de las personas que lo padecen.

## **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno degenerativo del sistema nervioso central que pertenece a un grupo de afecciones conocidas como trastornos del movimiento. Fue descrita por James Parkinson en el año 1817. Fue nombrada “parálisis agitante”, una alteración progresiva caracterizada por trastornos motores.

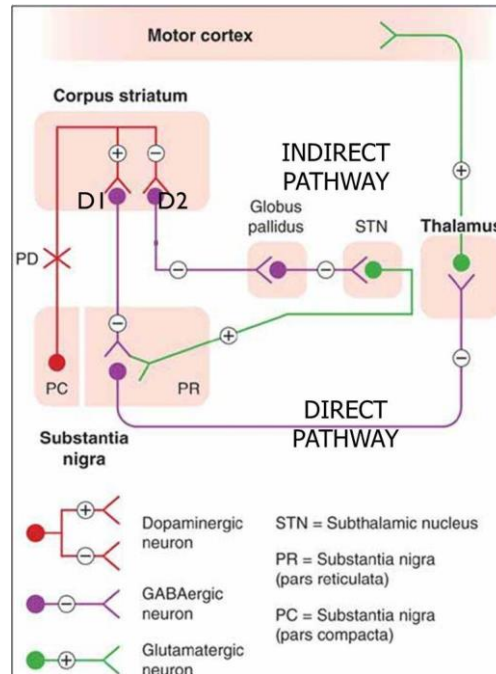
A mediados de la década de 1800, Jean-Martin Charcot la denominó enfermedad de Parkinson y completó la definición de los signos clínicos. <sup>(2)</sup>

### ***Causas***

Se desconoce la causa de la EP, aunque se cree que es el resultado de una compleja interacción de susceptibilidad genética y exposición a factores ambientales que afectan a numerosos procesos celulares fundamentales. Así, los estudios han demostrado la existencia de 15 genes causales y 25 factores de riesgo genéticos. El análisis molecular definió al gen que codifica para la proteína  $\alpha$ -sinucleína como el factor genético principal asociado a la EP. <sup>(3,4)</sup>

La exposición a ciertas toxinas en personas genéticamente susceptibles causa síntomas de esta enfermedad. Esto se ha visto por ejemplo en mineros expuestos al metal manganeso. Se ha visto también una relación entre la EP y mutaciones que afectan a la función mitocondrial (alteración en la producción de energía por déficit del complejo I mitocondrial) y al estrés oxidativo (daño mediado por radicales libres). Así, las

neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra están sometidas a un elevado estrés oxidativo secundario al metabolismo de las catecolaminas, lo que junto a un defecto en la producción de energía puede desencadenar la muerte neuronal tanto por activación de apoptosis como por necrosis mediada a través de excitotoxicidad. (5, 6, 7)



**Figura 1. Fisiología de los ganglios basales y enfermedad de Parkinson<sup>(8)</sup>**

La EP se desarrolla como resultado de la pérdida de neuronas en la sustancia negra del cerebro. Estas neuronas producen dopamina, un mensajero químico responsable de transmitir señales entre la sustancia negra y el cuerpo estriado, para así producir movimientos uniformes y deliberados. Al perderse estas neuronas se produce como consecuencia una pérdida de dopamina, lo cual produce patrones anormales de activación nerviosa dentro del cerebro, lo que causa deterioro del movimiento. (5)

Además se produce una pérdida de las terminaciones nerviosas que producen noradrenalina, mensajero químico principal del sistema nervioso simpático, la parte del sistema nervioso que controla las funciones automáticas del cuerpo. Esto ayuda a explicar varias de las características no motrices que se ven en la EP, entre ellas, la fatiga y las anomalías relacionadas con la regulación de la presión arterial. Además, se produce una elevación colinérgica, lo que explica ciertos trastornos periféricos tales como sudoración excesiva, aumento de la salivación o trastornos digestivos. (5)

## *Clínica*

El déficit dopaminérgico nigroestriado secundario genera un aumento de las descargas inhibitorias del globo pálido interno sobre el tálamo, lo cual altera el estado funcional de la corteza motora primaria y del área motora suplementaria, con lo cual surgen los síntomas de la enfermedad. <sup>(9)</sup>

Así, la EP se caracteriza principalmente por cuatro síntomas: temblor en reposo, el cual es característico, ya que es un movimiento rítmico hacia adelante y hacia atrás a una velocidad de 4-6 latidos por segundo; rigidez, en la cual los músculos permanecen constantemente tensos y contraídos; bradicinesia, una disminución del movimiento espontáneo y automático que impide a la persona realizar actividades sencillas de forma normal; y alteración de los reflejos posturales, causando un deterioro del equilibrio. Se trata de una enfermedad de carácter progresivo. Los síntomas comúnmente empiezan en un lado del cuerpo, y con el tiempo, afecta a ambos lados. <sup>(5, 10)</sup>

Además, en la EP aparecen otros síntomas, entre los que se encuentran trastornos emocionales y sensitivos, como depresión, trastornos gastrointestinales y dificultad para tragar y masticar, alteraciones del sueño, deterioro cognitivo y trastornos autonómicos como hipotensión ortostática o exceso de sudoración. <sup>(9)</sup>

A medida que la enfermedad progresa, los síntomas van interfiriendo con las actividades diarias, lo que supone una alteración de la calidad de vida del paciente. <sup>(9)</sup>

Por otra parte, mediante un estudio transversal realizado en la población mayor de 65 años de Estados Unidos, se calculó la prevalencia y la incidencia anual de la EP según raza, edad y sexo. Para ello fueron usados más de 450.000 casos de EP. <sup>(10)</sup>

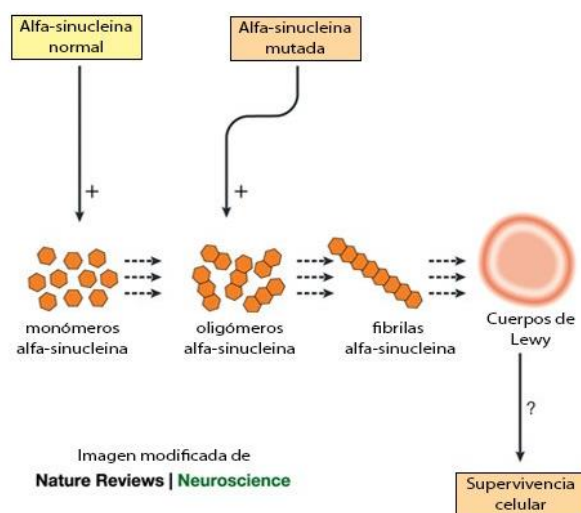
En este estudio se observó que la prevalencia de la EP por cada 100.000 personas mayores de 65 años fue el 1,6% de la población de edad avanzada. Esta prevalencia aumenta progresivamente con la edad, sin meseta aparente. Del mismo modo, la media de incidencia de la EP también parece aumentar con la edad. Esto tiene importantes implicaciones para la salud pública en cuanto a la asignación de recursos sanitarios. Estos resultados ponen de manifiesto la urgente necesidad de intervenciones neuroprotectoras y neuropreventivas. <sup>(10)</sup>

En cuanto a la raza, se vio en el estudio que la prevalencia media de la EP en las personas de raza negra y asiática fue de aproximadamente 50% menor que la prevalencia en la raza blanca. <sup>(10, 11)</sup>

Por último, en relación al sexo, la EP es mayor en los hombres que en las mujeres, con una razón de prevalencia de 155 hombres por 100 mujeres y un ratio de incidencia del sexo de 146 varones por cada 100 mujeres. <sup>(10, 11)</sup>

### Neuroquímica

Frederich Lewy describió en 1912 los cuerpos de Lewy, llamados así posteriormente en su honor. Tretiakoff en 1919 describió su presencia en la sustancia negra y observó la relación con la EP. <sup>(12, 13)</sup>



**Figura 2. Formación de cuerpos de Lewy<sup>(14)</sup>**

Los cuerpos de Lewy son inclusiones eosinofílicas del citoplasma que tienen un núcleo central más denso y un halo periférico. El constituyente fundamental son neurofilamentos que han sufrido transformaciones por fosforilación, ubiquitinación, proteólisis y entrecruzamiento. Así, estos cuerpos de Lewy están formados por  $\alpha$ -sinucleína, una proteína sináptica y nuclear. Cuando son abundantes y localizados en la sustancia negra constituyen unos marcadores histológicos de la EP, en la cual además hay una serie de cambios morfológicos en los ganglios basales, siendo el más relevante la pérdida de neuronas dopaminérgicas que proyectan de la sustancia negra al estriado. Así, se produce una muerte neuronal y progresiva que causa una disminución de los niveles de dopamina, lo que conlleva un desequilibrio funcional en los circuitos neuroquímicos cerebrales. El estriado, compuesto de caudado, putamen y núcleo accumbens, recibe aferencias desde todo el córtex y desde los núcleos talámicos parafascicular y centromediano, y es el principal núcleo de salida de información desde los ganglios basales. <sup>(5, 12, 13)</sup>

Inicialmente, con una pérdida de dopamina estriatal de un 80%, únicamente se aprecia sintomatología leve, pero ya con una pérdida de dopamina del 95% la acinesia se hace evidente. Esto ocurre porque en la fase preclínica de la enfermedad se ponen en marcha una serie de mecanismos compensatorios de las neuronas supervivientes, por lo que cada neurona aumenta la cantidad de dopamina que libera. Esto se debe en parte a que la enzima que limita la síntesis de dopamina, la tirosina hidroxilasa, aumenta su actividad. Esta actividad de tirosina hidroxilasa aumenta de forma proporcional a la depleción de dopamina. Posteriormente estos mecanismos compensatorios ya no funcionan y por ello los síntomas se hacen más evidentes. (12, 13)

Principalmente es característico de la EP el déficit dopaminérgico nigroestriatal, pero otras neuronas dopaminérgicas como las del área tegmental también degeneran. Además hay destrucción de otros grupos neuronales como los noradrenérgicos, serotoninérgicos y colinérgicos. (5, 12)

### ***Diagnóstico***

El diagnóstico se basa principalmente en la historia clínica y en un examen neurológico. Sin embargo, se realizan pruebas como el test de levodopa y apomorfina, que consiste en administrar estos fármacos y observar si existe mejoría. También se realiza diagnóstico por imagen, mediante TAC, resonancia magnética o sonografía craneal, aunque generalmente estas imágenes parecen normales en las personas con EP.

Resulta útil el uso de técnicas de Medicina Nuclear para diagnosticar la EP, como la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) y la tomografía por emisión de positrones (PET), usadas principalmente para el diagnóstico diferencial de la EP idiopática y de otras formas de parkinsonismo. (15)

### ***Tratamiento***

El tratamiento del Parkinson está dirigido a mejorar los síntomas derivados de la pérdida y muerte neuronal. De esta forma, se administran medicamentos para controlar los síntomas motores de la enfermedad y medicamentos para los síntomas no motores. (16)

En la tabla siguiente se resumen los medicamentos que constituyen el tratamiento de los síntomas motores.

<b>MEC. DE ACCIÓN</b>	<b>FÁRMACOS</b>	<b>VENTAJAS</b>	<b>INCONVENIENTES</b>
<b>Medicamentos que aumentan los niveles de dopamina en el cerebro/Inhibidores de la L-aromático-decarboxilasa (inhibidores periféricos)</b>	Levodopa/Carbidopa  Levodopa/Benserazida	Tratamiento principal. Es el más eficaz. La combinación aumenta la biodisponibilidad de la levodopa, la cual pasa a dopamina en el cerebro	No útil en problemas del equilibrio. Efectos secundarios: náuseas, ansiedad, somnolencia. En un tratamiento largo pueden causar bradicinesia. Períodos de disipación en los que no hace efecto.
<b>Agonistas de dopamina</b>	Apomorfina  Pramipexol  Ropinirol  Rotigotina  Bromocriptina	Efectos secundarios motores menores a la levodopa. Eficacia más tiempo. Alta neuroprotección.	Eficacia terapéutica inferior a levodopa. Efectos secundarios gastrointestinales, cardiovasculares y mentales más frecuentes.
<b>Inhibidores de la MAO-B (inhiben la descomposición de la dopamina en el cerebro)</b>	Rasagilina  Selegilina o deprenilo	Muy selectivo. Potencia el efecto antiacinéutico de la levodopa. Útil en etapas tempranas.	Efectos secundarios (más leves): náuseas, hipotensión ortostática o insomnio. Interaccionan con antidepresivos.
<b>Inhibidores de la COMT (inhiben la descomposición de la dopamina)</b>	Entacapona  Tolcapona	Aumentan la biodisponibilidad de la levodopa. Disminución de los períodos de disipación en los que la levodopa no hace efecto.	Efectos secundarios: diarrea, náuseas, alteraciones del sueño, mareos o alucinaciones. En casos aislados producen daño hepático grave.
<b>Anticolinérgicos (disminuyen la acción de la acetilcolina)</b>	Biperideno  Prociclidina  Trihexilfenidilo	Útil en enfermedad de Parkinson con temblor grave.	Efectos secundarios: sequedad de boca, estreñimiento, retención urinaria, pérdida de memoria, visión borrosa y confusión.
<b>Inhibidores de los receptores de aminoácidos excitadores</b>	Amantadina	Control de las discinesias causadas por el tratamiento prolongado con levodopa.	Sólo en etapas tempranas de la enfermedad. Tras varios meses su eficacia disminuye un 50% Efectos secundarios: insomnio, edema, agitación o alucinaciones.

**Tabla 1. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Parkinson**<sup>(16, 17)</sup>

En cuanto a los síntomas no motores, estos son muy diversos y varían mucho de un paciente a otro. Los fármacos más frecuentemente utilizados son benzodiazepinas, con efectos sedantes, hipnóticos y ansiolíticos; antidepresivos, sobre todo los inhibidores de la recaptación de la serotonina, para la depresión y ansiedad; y neurolepticos, para los síntomas psicóticos. <sup>(17, 18)</sup>

Otra estrategia terapéutica es la cirugía, aunque sólo está indicada en casos muy determinados. Se puede llevar a cabo cirugía irreversible, lesionando ciertos núcleos del cerebro que funcionan de forma exagerada, como se realiza en la palidotomía, en la que se destruye selectivamente el globo pálido, mejorando los síntomas de temblor, rigidez y bradicinesia, o en la talamotomía, en la que se destruye parte del tálamo, reduciendo en este caso el temblor. Sin embargo, estos procedimientos irreversibles han sido reemplazados por la cirugía reversible, conocida como estimulación cerebral profunda, la cual consiste en estimular eléctricamente los núcleos cerebrales, sin dañarlos, a través de la implantación de unos electrodos que, al activarse desde el exterior, modulan y controlan los síntomas al bloquear las señales que los producen. <sup>(5, 18)</sup>

Por último, se encuentra en fase de experimentación el tratamiento mediante injertos cerebrales. La técnica consiste en introducir en la zona cerebral dañada un tipo de células que detienen y reducen la lesión de los tejidos.

Así, se están desarrollando métodos para que las células cromafines presentes en la médula suprarrenal se utilicen como una fuente de células dopaminérgicas, ya que poseen capacidad de diferenciarse in vitro en células de tipo neuronal. Esto se ha llevado a cabo recientemente en pacientes utilizando células cromafines estimuladas con campos magnéticos de extrema baja frecuencia (CM-EBF), concluyendo que este método puede utilizarse como material de trasplante en pacientes parkinsonianos, por lo que actualmente se está estudiando y desarrollando. <sup>(19, 20, 21)</sup>

Tal y como se ha visto, pese a los múltiples tratamientos sintomáticos eficaces, aún no hay un tratamiento que frene de manera evidente la progresión de la enfermedad, por lo que es muy importante la investigación de estrategias terapéuticas que puedan cambiar la evolución del trastorno. <sup>(9)</sup>

## **OBJETIVOS**

Se pretende hacer una revisión bibliográfica de la EP, teniendo en cuenta todas las características de la enfermedad, para así posteriormente realizar la revisión de todos los modelos animales en los que se lleva a cabo el estudio de la EP. De esta forma, se quiere profundizar en el estudio de estos modelos animales.

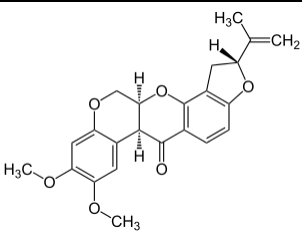
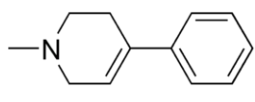
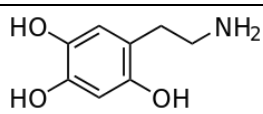
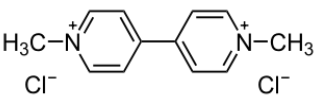
## **METODOLOGÍA**

Revisión bibliográfica de diversos artículos y revistas científicas de consulta on-line encontradas en Google académico y Pubmed, así como varios libros sobre farmacología procedentes de la biblioteca de la Facultad de Farmacia de la UCM.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra del mesencéfalo de la EP ha conducido a tratamientos sintomáticos efectivos de las manifestaciones motoras de la enfermedad. Sin embargo, la eficacia de estos tratamientos disminuye al cabo de cinco a diez años, donde los pacientes desarrollan una creciente incapacidad motora. Por ello, es necesario un mejor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad a través de modelos animales. Estos modelos animales imitan la lesión neuropatológica y son excelentes modelos bioquímicos, aunque es importante destacar que desde el punto de vista clínico no son superponibles a los pacientes con Parkinson. Uno de los problemas primordiales en estos modelos animales es la dificultad en producir una lesión homogénea y la posibilidad de recuperación espontánea con el tiempo. <sup>(22)</sup>

De esta forma, el modelo ideal animal de esta enfermedad debe tener un correcto sistema de neuronas dopaminérgicas en el nacimiento, de las que debe perderse más de un 50% de forma selectiva y gradualmente en edad adulta, así como presencia de déficit motores y cuerpos de Lewy. Los modelos tradicionales de la EP se basan en el uso de neurotoxinas, las cuales actúan de forma selectiva en la sustancia nigra de ratones, ratas, gatos y primates principalmente. Los nuevos modelos animales, basados en ingeniería genética, nos facilitan un mayor conocimiento de las bases genéticas de la enfermedad. Es importante destacar que la gran variabilidad de estos modelos limita su uso en el desarrollo de nuevos fármacos, por lo que los estudios actuales van destinados a mejorar los modelos animales existentes de la enfermedad. <sup>(22)</sup>

NOMBRE	ESTRUCTURA	MEC. DE ACCIÓN
<b>ROTENONA</b>		Inhibidor de la NADPH Deshidrogenasa de la cadena respiratoria mitocondrial
<b>MPTP</b>		Formación de radicales libres e inhibidor de NADPH deshidrogenasa
<b>6-OHDA</b>		Formación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> y radicales libres.
<b>PARAQUAT</b>		Activación de cinasa ASK1 que desencadena la apoptosis de neuronas DA

**Tabla 2. Modelos de inducción de enfermedad de Parkinson en animales**

### ***Rotenona***

Uno de los modelos más utilizados para estudiar la EP es el de la rotenona. Este agente es un isoflavonoide procedente de raíces o rizomas de especies de diversas plantas tropicales como *Derris* y *Lonchocarpus*, utilizadas en todo el mundo como plaguicidas e insecticidas de origen natural. Ya en el año 1895, el naturalista francés ÉtienneGeoffroy Saint-Hilaire aisló el principio activo rotenona de la *Lonchocarpusnicou*. Debido a su uso como plaguicida e insecticida ha sido utilizada tradicionalmente para controlar poblaciones de peces en lagos, donde se ha observado que se descompone por la exposición a la luz solar. La rotenona gracias a su elevada liposolubilidad atraviesa las membranas biológicas fácilmente, evitando así depender de transportadores de membrana. La rotenona es un inhibidor de la NADH deshidrogenasa, también denominada complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. En el año 2005, Dukes y su equipo descubrieron que la rotenona daña selectivamente las neuronas dopaminérgicas de animales y 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 de la cadena respiratoria. El estrés oxidativo causado por la rotenona conlleva a la apoptosis de las neuronas dopaminérgicas dependiente de caspasa-3, proteína perteneciente al

grupo de las cistein-proteasas, caracterizadas por presentar un grupo de cisteína que media la ruptura de otras proteínas. Las caspasas son mediadores esenciales en los procesos de apoptosis de las células. <sup>(23)</sup>

En la actualidad el modelo más avanzado basado en el uso de rotenona es un modelo murino en el que la exposición de forma continuada a rotenona reproduce algunas de las características neuroquímicas, histopatológicas y conductuales de la EP, con cierta selectividad de la degeneración de las neuronas nigroestriadas, aparición de cuerpos de Lewy y deficiencias motoras características de la enfermedad como son la hipocinesia, rigidez con postura encorvada y temblores en varios miembros. <sup>(24)</sup>

Diversos estudios muestran que la rotenona es capaz de inducir daño en las neuronas dopaminérgicas de las crías cuando son expuestas a través de sus madres. Este efecto en las crías se observa con dosis menores de rotenona que en ratas adultas. Por lo tanto, los individuos indirectamente expuestos a rotenona podrían tener menos neuronas dopaminérgicas desde etapas tempranas de la vida, lo que aumenta el riesgo de desarrollar trastornos relacionados con el sistema dopaminérgico.

La mayor evidencia de la toxicidad de la rotenona nos muestra que la administración en ratas Wistar por vía subcutánea produce una disminución considerable del número de neuronas dopaminérgicas.

La estimación de la toxicidad en mamíferos varía con DL50 en el rango de 60 a 1000 mg/kg y el valor promedio es de 500 mg/kg. Aunque la rotenona no es muy tóxica para los humanos, se han descrito accidentes aparentemente relacionados con la inhibición de la NADH oxidasa. Se han descrito casos de toxicidad crónica los cuales involucran fallos a nivel hepático y renal así como efectos carcinogénicos en roedores. <sup>(23)</sup>

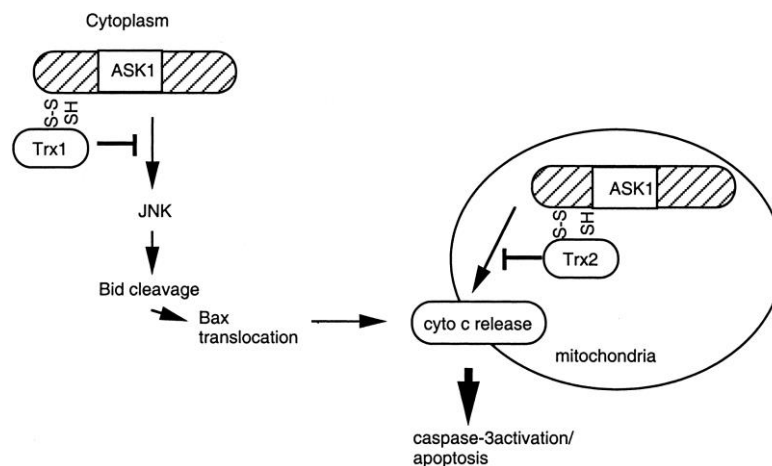
La existencia de este modelo ha contribuido a la experimentación con diversos fármacos que actúan como neuroprotectores en este modelo. Una de las propuestas que pudieran contribuir a la mejoría de la enfermedad es el fomento de la autofagia liposomal en las neuronas dañadas. Debido a que en la EP existe una acumulación de agregados proteicos, los cuerpos de Lewy, que fomentan el mal funcionamiento mitocondrial, este mecanismo de autofagia liposomal que contribuye a la eliminación de esos agregados proteicos podría llevar a la mejora de la enfermedad. El fármaco utilizado ha sido la rapamicina, inductor de la autofagia, comprobándose que presenta un efecto protector contra la muerte por apoptosis inducida por rotenona. <sup>(23)</sup>

### **Paraquat**

El paraquat, cuya estructura es 1,1-dimetil-4,4-dipiridinio, se sintetizó con fines comerciales utilizado como herbicida cuaternario de amonio, principalmente para el control de maleza. La molécula es altamente tóxica para el hombre cuando es ingerido por vía oral. La molécula una vez introducida en el organismo es reducida a un ión radical generando radicales superóxido que reaccionan con rapidez con las membranas lipídicas insaturadas de las células. En la actualidad, numerosos estudios evidencian la relación del paraquat con la EP, atribuyendo a numerosos agricultores la aparición de EP con el uso de varios plaguicidas que contienen paraquat.<sup>(23)</sup>

Diversos estudios experimentales han demostrado que la administración mediante inyecciones directas en el cerebro del animal daña principalmente neuronas dopaminérgicas del SNC, por lo que se le atribuye cierta selectividad sobre la sustancia negra. La estructura química del paraquat es similar a la estructura del MPP<sup>+</sup>, también causante de neurotoxicidad, por lo que el mecanismo de toxicidad se debe a la producción de estrés oxidativo generado con el daño mitocondrial.

Actualmente se conoce que la generación de especies reactivas de oxígeno generadas por el paraquat activan a la cinasa ASK1 y consecuentemente a las MAP cinasas JNK y p38, mecanismos no relacionados directamente con la inhibición del complejo I mitocondrial.<sup>(25)</sup> De esta forma se ha considerado la posibilidad de usar a ASK1 como blanco terapéutico para prevenir la neurodegeneración característica de EP. Se han utilizado antioxidantes como la vitamina E y activado al factor de transcripción Nrf-2 que induce enzimas antioxidantes como es la tiorredoxina (Trx). Tanto la vitamina E como la Trx bloquean el efecto de paraquat sobre ASK1 y la inducción de p38 y JNK, protegiendo contra algunos de los efectos perjudiciales de la EP.<sup>(26)</sup>



**Figura 3. Cascada de Señalización de ASK1 provocando la apoptosis de neuronas.**

### ***6-Hidroxdopamina (6-OHDA)***

La 6-OHDA (2,4,5trihdroxifenil etilamina) es la neurotoxina más utilizada en el desarrollo de modelos experimentales en roedores de la EP. Al igual que la mayoría de neurotoxinas utilizadas en los modelos animales de EP, la 6-OHDA posee una potente acción inhibitoria de la cadena respiratoria mitocondrial. Sin embargo, la muerte de neuronas dopaminérgicas inducida por estas sustancias es debida principalmente a la formación de  $H_2O_2$  y radicales libres como el radical hidroxilo o algunas quinonas que se producen durante su metabolización. Presenta una gran afinidad por los transportadores de noradrenalina y dopamina penetrando de esta forma en la célula. Cuando estos transportadores no están presentes se pierde la afinidad de la 6-OHDA por ello afectando a un gran número de células.<sup>(27)</sup>

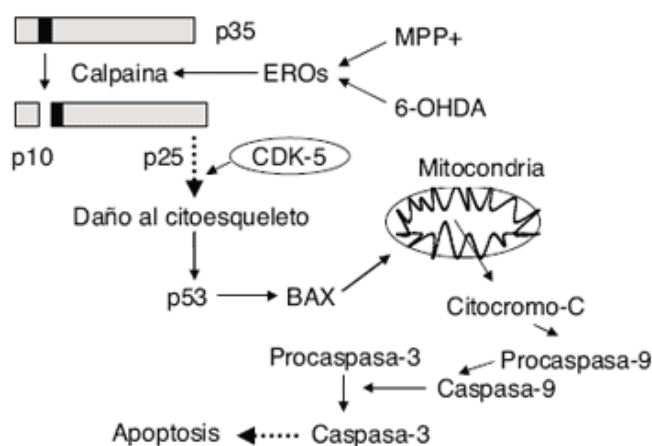
Una vez que se administra, la mitad de la dosis llega al interior de la célula y se sitúa en el citoplasma, mientras que la otra mitad entra en las vesículas transportadoras desplazando a la noradrenalina, por lo que inicialmente tiene un efecto simpaticomimético indirecto.

La administración por vía sistémica de la 6-OHDA carece de actividad a nivel del sistema nervioso central aunque provoca la muerte de las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos.<sup>(28)</sup> Por el contrario, administrada mediante inyección intracerebral en los roedores produce una destrucción selectiva de neuronas dopaminérgicas debido a la elevada afinidad que posee la neurotoxina por el sistema de transporte de catecolaminas presentes en estas neuronas.<sup>(29)</sup> Debido a su mecanismo de acción, se han encontrado diversas sustancias antioxidantes como son la vitamina E y la N-acetilcisteína que protegen a las neuronas dopaminérgicas de la acción neurotóxica de la 6-OHDA. La administración de 6-OHDA provoca en el cerebro de estos animales una lesión histológica más amplia que la zona afectada en pacientes con EP, por lo que la administración de 6-OHDA se administra directamente en la sustancia negra del mesencéfalo, evitando de esta forma la afectación de neuronas dopaminérgicas de otras áreas. La degeneración neuronal afecta a las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra que proyectan al núcleo estriado y a las neuronas del área tegmental ventral que forman parte del sistema dopaminérgico mesolímbico. Además produce alteraciones en el núcleo estriado caracterizadas por un descenso muy importante de los niveles de dopamina y serotonina.<sup>(30)</sup> La lesión de la sustancia negra desencadena cambios neuroquímicos en el sistema nigroestriado, intentando compensar el déficit de

dopamina, como es una inducción de la activación de la tirosina hidroxilasa(enzima limitante en la síntesis de dopamina) en las neuronas que aún conservan su funcionalidad. Algunos cambios neuroquímicos aparecen con la lesión parcial de las neuronas dopaminérgicas, pero la actividad se incrementa cuando la pérdida de dopamina estriatal es superior al 96%.<sup>(26)</sup>

La administración de 6-OHDA en la sustancia negra induce una degeneración rápida y casi completa de las neuronas dopaminérgicas. Esta degeneración difiere de lo que ocurre en la EP donde 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.

Este modelo basado en la 6-OHDA resulta muy interesante debido a que representa un modelo de EP en estadio inicial debido a que la pérdida neuronal oscila entre un 60-70%, además permite obtener una lesión parcial nigroestriada lo que puede contribuir al estudio del efecto neuroprotector de determinadas sustancias.<sup>(30)</sup>



**Figura4. Cascada de señalización de las neurotoxinas MPP+ y 6-OHDA.**

### **MPTP**

El 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina o MPTP es una proneurotoxina que se transforma en el ion 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP+) en los astrocitos o en las neuronas serotoninérgicas por acción de la enzima monoaminoxidasa B (MAO-B).<sup>(31)</sup>

En 1982 aparecieron numerosos casos de parkinsonismo en personas drogodependientes en el norte de California debido al consumo de heroína contaminada con MPTP. Tras la administración crónica de la heroína contaminada presentaban temblor de reposo en las extremidades, rigidez, y lentitud en los movimientos, signos clínicos característicos

propios de EP, que revertían con la administración de levodopa o agonistas dopaminérgicos. La clínica derivada de esta toxicidad por MPTP y tras su aislamiento, se propuso como uno de los modelos experimentales más aproximado a la alteración clínica de esta enfermedad.<sup>(31)</sup>

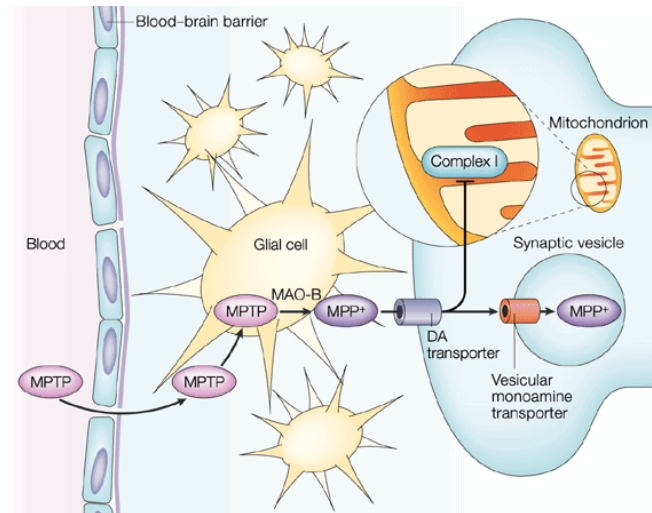
El MPP<sup>+</sup> originado por la metabolización del MPTP posee gran afinidad por el transportador sináptico de dopamina. El MPTP y el MPP<sup>+</sup> desencadenan la liberación masiva de dopamina la cual es metabolizada mediante procesos de oxidación originando especies reactivas de oxígeno como los radicales superóxido tóxicos por sí mismos y otros radicales libres citotóxicos producidos durante la oxidación intracelular del MPP<sup>+</sup> en cantidades que exceden la capacidad celular para neutralizarlos. Por otro lado, el MPTP y el MPP<sup>+</sup> inducen la autooxidación de la dopamina, que a su vez genera radicales libres y disminuyen los niveles intracelulares de glutathione, efecto bloqueado por antioxidantes como la vitamina E. Sin embargo, la toxicidad asociada a MPTP no solo puede asociarse a la formación de radicales libres, ya que la administración de antioxidantes y quelantes de radicales libres no protegen de la toxicidad del MPTP.<sup>(31)</sup>

Otro de los mecanismos de toxicidad del MPTP se debe a que el MPP<sup>+</sup> es un inhibidor específico del complejo I mitocondrial a altas concentraciones. Se ha comprobado que el MPP<sup>+</sup> es transportado desde el citoplasma al interior de la mitocondria en contra de gradiente dependiente de ATP. La inhibición del transporte de electrones mitocondrial induce a una disminución en la producción de ATP celular dando lugar a una alteración en la organización de los microfilamentos celulares. La falta de ATP también provoca una alteración en los potenciales transmembrana y una eliminación de glutathione reducido extracelular, principal defensa de la célula frente al estrés oxidativo. Además, el MPP<sup>+</sup> induce la peroxidación lipídica en células dopaminérgicas.<sup>(32)</sup>

La intoxicación con MPTP se ha utilizado principalmente en modelos de roedores y primates. Aunque existe la posibilidad de que la toxicidad del MPTP puede ser debida también a su metabolito intermedio MPDP<sup>+</sup>, la mayoría de los estudios asocian la toxicidad al MPP<sup>+</sup>.

Para algunos autores la neurotoxicidad del MPTP es dependiente del contenido de neuromelanina, ya que la afinidad del MPP<sup>+</sup> por la neuromelanina es muy alta, mientras que para otros la neurotoxicidad está relacionada con la actividad de la MAO-B, encargada de metabolizar el MPTP en MPP<sup>+</sup>.<sup>(33)</sup>

El MPTP no reproduce completamente la lesión histológica de la EP, ya que la aparición de los cuerpos de Lewy ocurre de forma ocasional en los modelos animales tratados con MPTP. Además, estudios histológicos en primates han demostrado que la lesión por MPTP no es selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra, debido a que induce además degeneración de neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral y del locus coeruleus, aunque es cierto que la pérdida neuronal es siempre de mayor intensidad en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra.<sup>(33)</sup>



**Figura5. Acción del MPTP en neuronas dopaminérgicas.**

### ***Parkinsonismo experimental en animales transgénicos***

A pesar de los múltiples avances y diferentes modelos animales existentes sobre la EP basados en neurotoxinas, todavía no se dispone de un esquema completo de los procesos celulares alterados en la EP. El descubrimiento en los últimos años de múltiples genes que producen parkinsonismo genético en el hombre, heredado como carácter dominante o recesivo, ha permitido que se produzcan grandes avances en el conocimiento de la enfermedad.<sup>(34)</sup>

La identificación de más de una docena de genes cuya alteración produzca la EP ha abierto vías de investigación de gran ayuda en el conocimiento de las alteraciones que producen los casos esporádicos de la enfermedad. Existen numerosos polimorfismos y diferentes mutaciones en genes específicos que contribuyen a la aparición de la EP en humanos y con los que se han desarrollado numerosos modelos animales.

Entre las mutaciones genéticas más frecuentes y mejor estudiadas están las mutaciones de la  $\alpha$ -sinucleína (codificada por los genes Park 1 y Park 4). La  $\alpha$ -sinucleína, proteína de función desconocida, se localiza en las neuronas del sistema nervioso principalmente

en terminales presinápticas, expresándose mayormente en el neocórtex, la sustancia negra, el tálamo y el cerebelo. En condiciones normales la  $\alpha$ -sinucleína se encuentra en una forma soluble y sin plegamientos, pero en condiciones patológicas como en EP se agrega y forma fibrillas insolubles que se integran en los denominados cuerpos de Lewy. La  $\alpha$ -sinucleína se ha relacionado con la regulación de la liberación de DA desde las vesículas dopaminérgicas y la neurotransmisión dopaminérgica. Se han obtenido numerosas líneas transgénicas en ratones en las que se expresan formas mutantes de la  $\alpha$ -sinucleína. El gen LRRK2 codifica para una proteína llamada dardarina con función quinasa que emplea un tipo de autofagia muy específico de forma que sus mutaciones pueden reducir su eficiencia. La proteína dardarina junto con otras proteínas como la  $\alpha$ -sinucleína utilizan una misma vía para degradarse, de forma que cuando el gen LRRK2 está mutado, no sólo no se degrada bien la dardarina sino que además bloquea que otras proteínas se degraden y provoca que se formen los cuerpos de Lewy desencadenando la degeneración propia de la EP.<sup>(35)</sup>

De igual forma, numerosos casos de parkinsonismo genético se deben a mutaciones en la proteína denominada Parkina (codificada por el gen Park 2), proteína que es componente de una ubiquitinaligasa necesaria para la degradación de las proteínas en el proteosoma. La pérdida de neuronas dopaminérgicas debido a la mutación en el gen Park 2 codificante para la Parkina aún no se conoce de forma exhaustiva. La hipótesis predominante afirma que la mutación en la Parkina impide el correcto funcionamiento del complejo multiproteicoubiquitinaligasa, impidiendo la correcta degradación de proteínas tóxicas que desencadenan la muerte celular de las neuronas dopaminérgicas.

Por otro lado, el gen Park 7 codifica una proteasa denominada DJ1 que protege del estrés oxidativo. Zhou y Freed han estudiado en modelos animales murinos la posible aplicación de la activación de este gen para detener la enfermedad. En ratones envejecidos con sintomatología parkinsoniana al activarse el gen codificante para la proteasa DJ1 comprobaron su capacidad para moverse normalmente.<sup>(35)</sup>

## **CONCLUSIONES**

Los modelos animales de EP utilizados actualmente están basados en el uso de neurotoxinas como son la administración intracraneal de 6-OH o la administración sistémica de rotenona tienen como diana fundamental el daño mitocondrial para establecer la sintomatología de la EP en dichos animales. Este daño mitocondrial que desencadena un estrés oxidativo provoca la apoptosis de las neuronas dopaminérgicas de

la sustancia negra. Por ello, numerosas estrategias encaminadas a la prevención de la enfermedad se basan en el desarrollo de diferentes mecanismos de prevención del estrés oxidativo. Los resultados obtenidos en el desarrollo de estos mecanismos gracias al uso de los diversos modelos animales actuales son prometedores. Sin embargo, es importante destacar que los modelos animales utilizados en investigación no son superponibles a los pacientes con EP debido a las diferencias significativas de las lesiones patológicas y la sintomatología entre el modelo animal y el enfermo humano. De igual forma, los avances actuales en el conocimiento de diversas mutaciones genéticas implicadas en el desencadenamiento de la EP abren una nueva línea de investigación para obtener modelos animales donde el desarrollo de la enfermedad y su sintomatología sea más igualitaria a la enfermedad en humanos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Chou KL. In the clinic. Parkinson disease. *Ann Intern Med.* 2012;157(9):ITC5-1 - ITC5-16.
2. Christopher G. Goetz. The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2011; 1(1): a008862.
3. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet.* 2015;386(9996):896-912.
4. Verstraeten A, Theuns J, Van Broeckhoven C. Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era. *Trends Genet.* 2015; 31(3): 140-9.
5. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Enfermedad de Parkinson: Esperanza en la investigación. Publicación de NIH 15-139S.  
Disponible en: [http://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/parkinson\\_disease\\_spanish.htm](http://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/parkinson_disease_spanish.htm)
6. Beal MF. Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann. Neurol.* 1995; 38: 357-366.
7. Blake CI, Spitz E, Leehey M, Hoffer BJ, Boyson SJ. Platelet mitochondrial respiratory chain function in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 1997; 12(1): 3-8.
8. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Rang and Dale's Pharmacology. Seventh edition. 2011; chapter 39.
9. Federico Micheli. Enfermedad de Parkinson y trastornos relacionados. Editorial Médica Panamericana. Segunda edición. 2006; 1-22.
10. Wright Willis A, Evanoff A, Lian M, Criswell S, A. Racette B. Geographic and Ethnic Variation in Parkinson Disease: A Population-Based Study of US Medicare Beneficiaries. *Neuroepidemiology.* 2010; 34(3): 143-151.
11. Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA et al. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity.
12. Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 1973; 20(4): 415-55.
13. F. Ostrosky-Solis. Características neuropsicológicas de la enfermedad de Parkinson.
14. Imagen disponible en: [www.nature.com/reviews](http://www.nature.com/reviews)

15. Escamilla Sevilla F, Mínguez Castellanos A. Recomendaciones de Práctica Clínica en la enfermedad de Parkinson. 2012; 21-57.
16. Lorenzo, Moreno, Leza, Lizasoain, Moro y Portolés. Velázquez. Manual de Farmacología Básica y Clínica. Editorial Médica Panamericana. BUSCAR PAG
17. Fahn S. The medical treatment of Parkinson disease from James Parkinson to George Cotzias. 2015; 30(1): 4-18.
18. García-Ramos R. Asociación de Parkinson de Madrid. Tratamiento para el Parkinson. Disponible en: [www.parkinsonmadrid.org/el-parkinson/el-parkinson-tratamiento/](http://www.parkinsonmadrid.org/el-parkinson/el-parkinson-tratamiento/)
19. Arias-Carrión O. Terapia Celular en la Enfermedad de Parkinson. Médicos Ecuador.
20. Fernández Espejo E. Nuevo injerto celular para el tratamiento del Parkinson. 2002. Disponible en: [www.dmedicina.com/enfermedades/neurologicas/2002/07/23/nuevo-injerto-celular-tratamiento-parkinson-6156.html](http://www.dmedicina.com/enfermedades/neurologicas/2002/07/23/nuevo-injerto-celular-tratamiento-parkinson-6156.html)
21. Strömberg I, Bickford P, Gerhardt GA. Grafted dopamine neurons: Morphology, neurochemistry, and electrophysiology. 2010; 90(2): 190-7.
22. Beal, MF. 2010. La enfermedad de Parkinson: un dilema de modelos. Nature Publishing Group iberoamericana.
23. Spivey, A. 2011. Rotenone and Paraquat Linked to Parkinson's Disease: Human Exposure Study Supports Years of Animals Studies. Environmental Health Perspectives Volume 119 Number 6 June 2011.
24. Gómez-Chavarín, M, Díaz-Pérez, R, Morales-Espinosa, R, Fernández-Ruiz, J, Roldán-Roldán, G, Torner, C. 2013. Efecto de la exposición al pesticida rotenona sobre el desarrollo del sistema dopaminérgico nigro-estriatal en ratas. Salud Mental 2013; 36: 1-8.
25. Wang, X, Luo, F, Zhao, H. Paraquat Induced Reactive Oxygen Species Inhibit Neutrophil Apoptosis via a p38.
26. Alarcón Aguilar, A, Santamaría del Ángel, A, Königsberg Fainstein, M. 2010. Modelos Neurotóxicos de la Enfermedad de Parkinson y Disfunción Mitocondrial. REB 29(3): 92-100.
27. Blesa, J, Przedborski, S. 2014. Parkinson's disease: animals models and dopaminergic cell vulnerability. Frontiers in Neuroanatomy.
28. Blesa, J, Phani, S, Jackson-Lewis, V, Przedborski, S. 2012. Classic and New Animal Models of Parkinson's Disease. Journal of Biomedicine and Biotechnology.
29. Collantes, M, Peñuelas, I, Álvarez-Erviti, L, Blesa, J, Martí-Climent, J M, Quincoces, G, Delgado, M, Eca, M, Martínez, A, Arbizu, J, Rodríguez-Oroz, MC, Obeso, J, Richter, JA. Utilización de la C-(+)- $\alpha$ -Dihidrotetabenazina para la evaluación de la inervación dopaminérgica en modelos animales de la enfermedad de Parkinson.
30. Luquin, MR. Modelos experimentales de enfermedad de Parkinson. 2000. Revista Neurol 2000; 31 : 60-66.
31. Blesa, J, Phani, S, Jackson-Lewis, V, Przedborski, S. 2012. Classic and New Animal Models of Parkinson's Disease. Journal of Biomedicine and Biotechnology.
32. Rojo Sebastián, A. 2001. Terapias Neurotróficas en Modelos de Parkinsonismo en Roedores y Primates No Humanos.
33. Parkinson's Australia. 2013. MPTP and Drug-induced Parkinson's.
34. López Barneo, J. 2013. ¿Qué nos enseñan los modelos animales y celulares sobre la enfermedad de Parkinson? Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental.
35. García Ruiz-Espiga, P J, Martínez Castrillo, JC. 2009. Guía oficial de práctica clínica en la enfermedad de Parkinson. Guías oficiales de la Sociedad Española de Neurología N°9.