

**DEPARTAMENT DE
BIOLOGIA CEL·LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA
FACULTAT DE MEDICINA**



**MECANISMOS INTRACELULARES DE SUPERVIVENCIA
Y MUERTE NEURONAL EN MODELOS
EXCITOTÓXICOS Y TRANSGÉNICOS DE LA
ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

**Tesis presentada por Juan Manuel García Martínez
para optar al título de Doctor por la Universidad de Barcelona**

Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección del Dr. Jordi Alberch Vié y la Dra. Esther Pérez Navarro, en el Departamento de *Biología Celular i Anatomia Patològica* de la Facultat de Medicina de la *Universitat de Barcelona*.

Dr. Jordi Alberch Vié

Dra. Esther Pérez Navarro

Juan Manuel García Martínez

Barcelona, Abril del 2007

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.- MECANISMOS DE MUERTE CELULAR.....	3
1.1.- APOPTOSIS.....	4
1.1.1.- FAMILIA DE LAS CASPASAS.....	5
1.1.2.- VÍA EXTRÍNSECA.....	7
1.1.3.- VÍA INTRÍNSECA.....	9
1.1.4.-PAPEL DE LA FAMILIA DE BCL-2 EN LA REGULACIÓN DE LA APOPTOSIS.....	11
1.2.- MECANISMOS ALTERNATIVOS DE MUERTE CELULAR.....	18
1.2.1.- NECROSIS.....	18
1.2.2.- AUTOFAGIA.....	20
2.- PRINCIPALES VÍAS INTRACELULARES DE SUPERVIVENCIA Y DIFERENCIACIÓN NEURONAL.....	21
2.1.- VÍA AKT/PKB.....	21
2.2.- VÍA ERK/MAPK.....	26
3.- FACTORES NEUROTROFICOS.....	29
3.1.- FAMILIA DE LAS NEUROTROFINAS.....	30
3.2.- FAMILIA DE GDNF.....	34
4.- LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	37
4.1.- EXCITOTOXICIDAD EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	41
4.2.- DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	43
4.3.- FACTORES TRÓFICOS EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	44

II.- OBJETIVOS.....	47
III.- RESULTADOS.....	51
1.- PRIMER TRABAJO: “Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Promotes the Arborization of Cultured Striatal Neurons Through the p42/p44 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway GDNF”	53
2.- SEGUNDO TRABAJO: “Bax Deficiency Promotes a Differential Up-regulation of Bim _{EL} and Bak During Striatal and Cortical Postnatal Development, and After Excitotoxic Injury”	67
3.- TERCER TRABAJO: “BH3-only Proteins Bid and BimEL are Differentially Involved in Neuronal Dysfunction in Mouse Models of Huntington's Disease”	93
4.- CUARTO TRABAJO: “Prosurvival Phospho-AKT/PKB Levels are Increased during the Neurodegenerative Process in the Striatum of Mouse Expressing the N-terminal exon 1 of Mutant Huntingtin”	109
IV.- DISCUSIÓN.....	135
1.- EFECTOS BIOLÓGICOS DEL GDNF SOBRE CULTIVOS PRIMARIOS DE NEURONAS ESTRIATALES.....	137
1.1.- VÍAS INTRACELULARES ACTIVADAS POR GDNF.....	137
1.2.- EFECTOS BIOLÓGICOS DEL GDNF SOBRE LAS NEURONAS ESTRIATALES EN CULTIVO.....	138
1.3.- IMPLICACIÓN DE LOS FACTORES NEUOTRÓFICOS GDNF Y BDNF EN LA MADURACIÓN DE LAS NEURONAS ESTRIATALES.....	140
2.- IMPLICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LA FAMILIA DE BCL-2 EN LOS PROCESOS DE MUERTE NEURONAL EN EL NÚCLEO ESTRIADO.....	142
2.1.- REGULACIÓN DURANTE EL DESARROLLO POSTNATAL.....	142
2.2.- REGULACIÓN EN EL MODELO EXCITOTÓXICO DE ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	143

2.3.- REGULACIÓN EN EL MODELO TRANSGÉNICO DE ENFERMEDAD DE HUNTINGTON.....	146
3.- MECANISMOS DE SUPERVIVENCIA ACTIVADOS EN RESPUESTA A LA TOXICIDAD INDUCIDA POR LA EXPRESIÓN DE HUNTINGTINA MUTADA.....	150
V.- CONCLUSIONES.....	155
VI.- BIBLIOGRAFÍA.....	159

AIF, factor inductor de apoptosis

AMPA, alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato

APO1/FAS/CD95, antígeno de apoptosis

APAF-1, factor activador de la proteasa de apoptosis

BDNF, factor neurotrófico derivado del cerebro

BH, homología a bcl-2

CARD, dominio de reclutamiento de caspasas

cFLIP, proteína inhibidora de FADD

Cit c, citocromo c

CNTF, factor neurotrófico ciliar

CREB, proteína de unión a elementos de respuesta a AMP cíclico

DARPP-32, fosfoproteína regulada por dopamina y AMP cíclico de 32 KDa

DED, dominio efector de muerte

DISC, complejo de muerte multiproteico

ENDO G, endonucleasa G

ERK/MAPK, quinasa regulada por la señal extracelular de Ras/proteína quinasa activada por mitógeno

FADD, proteína adaptadora con dominio de muerte asociada a Fas

FoxO, factores de transcripción forkhead

GABA, ácido γ -amino butírico

GDNF, factor neurotrófico derivado de una línea celular glial

GFR α , receptor alfa de factores neurotróficos

GPI, glicosilfosfatidilinositol

GSK-3 β , quinasa 3- β de la sintasa de glicógeno

Hsp, proteínas inducidas en respuesta a estrés

Htt, huntingtina

IAP, proteína inhibidora de apoptosis

KA, kainato

KO, *knock-out*

mhtt, huntingtina mutada

MK-801, 5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo-(a,d)-cyclohepten-5,10-imino maleato

NCAM, moléculas neuronales de adhesión celular

NF κ B, factor nuclear κ B

NGF, factor de crecimiento nervioso

NMDA, N-metil-D-aspartato

NT-3, neurotrofina-3

NT-4/5, neurotrofina-4/5

PH, homología a pleckstrina

PI3-K, quinasa fosfatidilinositol-3 fosfato

PI(4,5)P₂, glicerofosfolípido de membrana

PIP₃ y PIP₂, fosfoinositoles fosfato

PKA, proteína quinasa A

PKB, proteína quinasa B

PKC, proteína quinasa C

PLC, fosfolipasa-C

p75^{NTR}, receptor de neurotrofinas

QUIN, ácido quinolínico

RET, receptor tirosina quinasa de factores neurotróficos

RSKs, quinasas del ribosoma

SAPK/JNK, quinasa N-terminal de c-Jun activada en respuesta a estrés

Smac/DIABLO, factor derivado de la mitocondria

tBid, fragmento truncado de la proteína Bid

TNF, factor de necrosis tumoral

TRADD, proteína adaptadora asociada a dominio de muerte

Trk, quinasa relacionada con la tropomiosina