



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**MITOFAGIA EN ENFERMEDADES**  
**NEURODEGENERATIVAS**

**Autor:** Alfonso Bellver Landete

**Fecha:** Junio 2019

**Tutor:** Carlos Guillén Viejo

## **RESUMEN**

Las enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer y el Parkinson, son trastornos asociados a una disminución de la actividad neuronal, que tienen como desenlace la aparición de una sintomatología característica. Ambas enfermedades han sido ampliamente estudiadas a lo largo de los años aunque todavía queda un largo camino para el perfecto conocimiento de ellas. La pérdida de la actividad neuronal se relaciona con muchos factores, entre los que destaca la actividad de las mitocondrias y, por tanto, la dinámica mitocondrial y autofagia selectiva de dichos orgánulos o mitofagia.

Las mitocondrias son orgánulos complejos y dinámicos encargados de llevar a cabo la respiración celular, con el fin de obtener energía en forma de ATP que pueda ser utilizada por las diferentes células del organismo. Las neuronas son células de alta complejidad morfológica y metabólica, que requieren una gran cantidad de energía para llevar a cabo sus funciones fisiológicas como unidades básicas del sistema nervioso humano. Los daños o disfunciones en las mitocondrias pueden resultar en alteraciones de los procesos metabólicos y/o en la red neuronal, favoreciendo el inicio de problemas neurodegenerativos que pueden concluir en el desarrollo de estas patologías. Por ello, es importante que los mecanismos de regulación mitocondriales como la dinámica y la mitofagia actúen de forma óptima, previniendo cualquier alteración posible.

## **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

El sistema nervioso central está compuesto por el encéfalo y la médula espinal, siendo su componente básico las neuronas. Estas células forman una red de comunicación que permite la transmisión de los impulsos nerviosos a través del proceso de la sinapsis.

Las neuronas tienen una estructura compleja, generalmente compuesta por el soma, las dendritas y el axón.

- i. El soma es el cuerpo celular de la neurona y la zona donde se encuentra localizado el núcleo. Asimismo, de él nacen dos tipos de prolongaciones, las dendritas y el axón.
- ii. Las dendritas son aquellas prolongaciones menores en tamaño y longitud procedentes del soma que tienen forma de ramas. En el proceso sináptico reciben la información procedente de otras neuronas, incorporándola en el soma y transmitiéndola de nuevo a través del axón.
- iii. El axón es aquella prolongación mayor en tamaño y longitud procedente del soma. Su función es la de conducir el impulso nervioso desde el soma hasta otra neurona, músculo o glándula del cuerpo. Por otra parte, alrededor de los axones de las neuronas del SNP se localizan unas células de soporte, conocidas como células de Schwann. Éstas envuelven segmentos axonales y son capaces de formar las vainas de mielina que permiten aumentar la velocidad de conducción del impulso nervioso. En el caso de las neuronas del SNC la mielinización tendrá lugar gracias a otras células gliales, conocidas como oligodendrocitos. El extremo final del axón se ramifica dando lugar a las terminales axónicas o botones terminales, encargados de intervenir en la sinapsis.

Las neuronas pueden clasificarse según su función, pudiendo ser:

- i. Neuronas sensoriales o aferentes, son aquellas encargadas de transmitir información desde los receptores sensoriales (quimiorreceptores, termorreceptores, barorreceptores, etc) hasta el SNC.
- ii. Neuronas motoras o eferentes, son aquellas encargadas de transmitir información desde el SNC hasta el músculo esquelético para efectuar un movimiento (motoneuronas somáticas) o hasta el músculo liso o glándulas (motoneuronas viscerales).
- iii. Interneuronas, son aquellas localizadas en el SNC que permiten la conexión entre dos neuronas facilitando la transferencia de información.

Por otra parte, la sinapsis es el proceso en el que se produce la transferencia de información desde una primera neurona o neurona presináptica hasta una segunda neurona o neurona postsináptica. Asimismo, las conexiones sinápticas entre neuronas y células del músculo esquelético reciben el nombre de uniones neuromusculares, mientras que aquellas entre neuronas y células del músculo liso o glándulas reciben el nombre de uniones neuroefectoras.

Durante el proceso sináptico o unión, la información se transmite mediante mensajeros químicos llamados neurotransmisores. Cuando un potencial de acción viaja a lo largo del axón y llega a la terminal axónica de la neurona presináptica, se produce la liberación de los neurotransmisores que pasan al espacio sináptico, donde serán capaces de unirse a los receptores de membrana de la neurona postsináptica. Como consecuencia de la unión de los neurotransmisores a los receptores postsinápticos, se transmite una señal excitatoria o inhibitoria.

Las sinapsis excitatorias ocurren cuando se facilita la generación de un potencial de acción en la neurona postsináptica, debido a la despolarización de su membrana, y se continúa con la transmisión del mensaje. Mientras que en la sinapsis inhibitoria se produce una hiperpolarización de la membrana de la neurona postsináptica, impidiendo la generación de un potencial de acción, y dificultando la transmisión del mensaje.

Respecto al proceso sináptico, es importante determinar la función de los diferentes neurotransmisores, siendo estos:

- i. La serotonina u “hormona de la felicidad”, que participa en el estado de ánimo, digestión, regulación de la temperatura corporal, ciclo sueño-vigilia y el deseo sexual.
- ii. La dopamina interviene en las conductas adictivas, sensaciones placenteras, coordinación muscular, regulación de la memoria, aprendizaje y toma de decisiones.
- iii. La adrenalina está asociada a situaciones de alerta y estrés, regulando la presión arterial, ritmo cardíaco y respiratorio, la dilatación de las pupilas o sensibilidad ante estímulos entre otros.
- iv. La noradrenalina está relacionada con la motivación, la ira o el placer sexual.
- v. El glutamato (excitatorio) está asociado a la memoria y su recuperación, así como en la mediación de información sensorial, motora, cognitiva y emocional.

- vi. El GABA (inhibitorio) interviene en la regulación motora, de la ansiedad y la visión.
- vii. La acetilcolina participa en la estimulación de los músculos, procesos de memoria y asociación y en el paso del estado de sueño al de vigilia.

Por lo tanto, en relación a todo lo anterior, las enfermedades neurodegenerativas son aquellas en las que se produce una degeneración progresiva y/o muerte de las neuronas. Como consecuencia, se impide una correcta transmisión del impulso nervioso y un deterioro de los movimientos (ataxias) y/o capacidades cognitivas (demencia). Algunas de las enfermedades neurodegenerativas más características son el Alzheimer, el Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y la enfermedad de Huntington.

#### 1. Alzheimer:

Patología que afecta a determinadas partes del cerebro y suele describirse como una demencia caracterizada por la aparición de degeneración neurofibrilar (ovillos neurofibrilares) y placas amiloides que comienza con un deterioro cognitivo y funcional al que se le suman alteraciones de carácter psicológico y de conducta <sup>[1]</sup>.

La etiología de la enfermedad en mayor parte es desconocida, aunque uno de los principales factores de riesgo es la edad, especialmente a partir de los 65 años, duplicándose su presencia cada 5 años <sup>[2]</sup>. Además, también se ha relacionado dicha enfermedad con el ambiente, junto con otros factores como la genética.

#### 2. Parkinson:

Patología asociada a la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la materia negra cerebral y la inclusión de proteínas citoplasmáticas llamadas Cuerpos de Lewy, cuyo componente principal es la  $\alpha$ -sinucleína. La deficiencia de dopamina resultante, deriva en el desarrollo de trastornos y síntomas motores. Se trata de una enfermedad neurodegenerativa de progresión lenta que implica la combinación de factores genéticos y ambientales, manifestándose con síntomas muy diversos <sup>[3]</sup>.

Los síntomas motores más destacables son el temblor en las manos y extremidades, rigidez muscular, lentitud en los movimientos (bradicinesia) y problemas de coordinación y equilibrio. Existen otros síntomas no motores como la demencia, trastornos en el sueño, ansiedad, depresión, psicosis que pueden preceder a la disfunción motora o cursar de manera paralela.

### **OBJETIVOS**

El objetivo principal del trabajo consiste en conocer la importancia de la dinámica y autofagia mitocondrial en los procesos de neurodegeneración. Asimismo, determina la implicación de las mitocondrias y otros componentes citoplasmáticos en estos procesos. Por otra parte, trata de buscar cualquier relación existente entre las diferentes enfermedades neurodegenerativas y pretende identificar las dianas terapéuticas o estrategias que permitan prevenir o ralentizar la progresión de estas patologías.

## **METODOLOGÍA**

La metodología seguida para la realización del trabajo ha consistido en una amplia revisión bibliográfica de artículos científicos sobre las mitocondrias y las enfermedades neurodegenerativas. Para ello, se empleó la base de datos bibliográfica Medline (PubMed) y Google Academics, tratando de restringir la búsqueda a los artículos más actuales y completos relativos a esta temática. Por otra parte, se consultaron ciertas webs oficiales, libros y revistas en formato físico para apoyar la información recopilada.

Las palabras clave utilizadas para la búsqueda de información bibliográfica han sido “Alzheimer”, “Parkinson”, “Mitofagia y neurodegeneración”, “Mitocondrias”, “Autofagia mitocondrial”, “Terapéutica neurodegeneración”.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. NEURONAS Y MITOCONDRIAS.**

Las mitocondrias son orgánulos altamente dinámicos que continuamente sufren procesos de fusión y fisión para regular su morfología, tamaño y número <sup>[4] [5] [6]</sup>. Estos procesos dinámicos son cruciales en la modulación de la distribución mitocondrial y la muerte celular <sup>[7] [8]</sup>. Los defectos en la dinámica mitocondrial pueden provocar la acumulación anormal de las mitocondrias y contribuir a la disfunción celular. Numerosas enfermedades neurodegenerativas están asociadas con las alteraciones de la fusión y fisión mitocondrial, que a su vez están muy ligadas con los altos requerimientos metabólicos y la compleja morfología de las neuronas <sup>[4] [9]</sup>.

Las neuronas son unas de las células que requieren un mayor aporte energético en el organismo. Por ello, cualquier alteración o disfunción mitocondrial supondría un problema a la hora de obtener energía en forma de ATP a través de la respiración celular. Esta deficiencia energética, por consiguiente, puede producir procesos de neurodegeneración e imposibilitar la correcta sinapsis entre las neuronas.

### **2. MECANISMOS DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL.**

Las mitocondrias son orgánulos complejos capaces de establecer conexiones entre sí, formando una red. A nivel de la dinámica mitocondrial hablamos, principalmente, de dos procesos, la fusión y la fisión. Ambos procesos están catalizados por GTPasas, es decir, enzimas encargadas de hidrolizar el GTP para permitir cambios en las membranas mitocondriales.

En el proceso de fusión mitocondrial intervienen tres GTPasas, las mitofusinas (Mfns) y la proteína de atrofia óptica 1 (Opa1) <sup>[8] [10]</sup>. Existen dos tipos de mitofusinas, la Mfn1 y Mfn2, que promueven la fusión de la membrana mitocondrial externa (OMM) a través de la formación de una serie de complejos homo/hetero-oligoméricos. Opa1 promueve la fusión de la membrana mitocondrial interna (IMM) a través de la interacción con Mfns y formación de complejos proteicos intermembrana <sup>[11] [12]</sup>.

Por otra parte, en el proceso de fisión interviene una única GTPasa, la “dynamin-related protein 1” (Drp1) <sup>[11] [12]</sup>. Como consecuencia de este proceso, se puede dar lugar a la formación de dos tipos metabólicamente distintos de mitocondrias: una con un potencial de membrana incrementado y otra con un potencial de membrana reducido. La primera de ellas, tendrá una alta probabilidad de sufrir una fusión subsiguiente mientras que la segunda, tendrá una mayor probabilidad de sufrir autofagia, siendo así eliminada <sup>[13] [14]</sup>.

La Drp1 se localiza en el citosol de las células y es recluida a la membrana externa mitocondrial gracias a la actividad de cuatro receptores de proteínas: el factor de fisión mitocondrial (Mff), las proteínas dinámicas mitocondriales 49 y 51 (Mid49 y Mid51, respectivamente) y la proteína de fisión mitocondrial 1 (Fis1) <sup>[15]</sup>. Tras su unión a la OMM, se produce la oligomerización de Drp1 formándose unos filamentos capaces de rodear a la mitocondria. Seguidamente, tiene lugar un proceso de constricción que favorece la fisión mitocondrial <sup>[16]</sup>. Una vez finalizada la fisión, los filamentos de Drp1 se desensamblan o disocian, quedando libres para intervenir en futuros procesos <sup>[8] [17]</sup>.

El equilibrio entre la fusión y fisión es crucial para el mantenimiento de la integridad de la red mitocondrial y depende de:

- i. Las modificaciones post-traduccionales principales de estos factores como la fosforilación de Drp1 <sup>[18]</sup>, la ubiquitinación <sup>[19]</sup> o “SUMOylation” <sup>[20]</sup>.
- ii. La interacción entre la mitocondria y el Retículo Endoplasmático (ER) <sup>[21]</sup>.

El Retículo Endoplasmático (ER) es un orgánulo celular que interviene en el proceso de la fisión, mediante el contacto entre la mitocondria y éste. Los túbulos del ER son los encargados de determinar la posición de la mitocondria en el proceso de la fisión <sup>[21]</sup>, rodeándola durante el proceso de división y señalando los lugares donde el Drp1 será reclutado en la membrana mitocondrial externa (OMM) <sup>[21] [22]</sup>. Los puntos que marcarán el inicio de la división son los resultantes del contacto ER-mitocondria. Un estudio reciente ha demostrado la presencia de sub-poblaciones de Mff y Fis1 en la superficie del ER que son capaces de producir la oligomerización de Drp1. Estos oligómeros generados en el ER son transferidos a la mitocondria y, como consecuencia, favorecen la división mitocondrial <sup>[23]</sup>. En los casos de estrés hipóxico/hipoxia, una serie de proteínas se acumulan en la superficie de la OMM durante el contacto ER-mitocondria facilitan la captación de Drp1 y, por tanto, la fisión mitocondrial. Estas proteínas son “FUN14 domain containing 1” (FUNDC1) y se ha determinado que su eliminación evita la captación de Drp1 durante el contacto ER-mitocondria y favorece la elongación mitocondrial en condiciones de estrés hipóxico/hipoxia. Esto demuestra que FUNDC1 es capaz de regular la dinámica mitocondrial bajo estas condiciones <sup>[24]</sup>.

## **2.1. ALTERACIÓN DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL.**

Las mitocondrias como orgánulos dinámicos sufren continuamente estos procesos que permiten un mantenimiento de la homeostasis mitocondrial y evitan alteraciones celulares. La fusión permite la combinación de compartimentos mitocondriales, complementación proteica, reparación del DNA mitocondrial y la distribución igualitaria de metabolitos, mientras que la fisión facilita la distribución homogénea mitocondrial durante la división celular y la distribución de las mitocondrias a nivel del citoesqueleto. Por otra parte, la fisión

permite aislar segmentos mitocondriales dañados con el fin de que estos sean eliminados mediante autofagia.

Las neuronas tienen una compleja estructura y son unas de las células que mayor consumo de energía requieren, como consecuencia, la actividad de las mitocondrias a nivel de estas células es muy importante <sup>[8] [25]</sup>. El correcto funcionamiento de la dinámica mitocondrial es crucial para evitar una disfunción neuronal. Problemas asociados a la fusión mitocondrial pueden causar un aumento del diámetro de las mitocondrias, debidos al hinchamiento o agregación de estos orgánulos. Por otra parte, problemas asociados a la fisión mitocondrial conllevan la incapacidad del organismo en la eliminación de segmentos mitocondriales dañados y, por consiguiente, la potencial apoptosis neuronal <sup>[7]</sup>.

Llegados a este punto, se determina que las alteraciones en la dinámica mitocondrial son una de las causas del desarrollo de enfermedades de carácter neurodegenerativo, tales como el Alzheimer (AD), Parkinson (PD), enfermedad de Huntington (HD) y esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

## **2.2. ALTERACIÓN DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL ASOCIADA A ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.**

### **ALZHEIMER**

“El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa progresiva caracterizada por la acumulación extracelular de placas amiloides compuestas mayoritariamente de beta-amiloide (A $\beta$ )-derivado APP, seguido de la acumulación de ovillos neurofibrilares intraneuronales compuestos de tau hiperfosforiladas, que producen una pérdida sináptica y neuronal” <sup>[1]</sup>.

La progresión de esta enfermedad está asociada a alteraciones en la morfología y actividad de las mitocondrias presentes en las neuronas de estos pacientes <sup>[26]</sup>. El exceso de producción de beta-amiloide (A $\beta$ ) induce la fragmentación y disfunción mitocondrial, además de aumentar la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), reducir la producción de ATP y disminuir el potencial de las membranas mitocondriales <sup>[27]</sup>. Otra característica importante de las mitocondrias de pacientes que padecen Alzheimer es la presencia de una alta proporción de crestas mitocondriales junto con cambios en el número y tamaño de las mismas <sup>[5] [28]</sup>.

Existe una controversia entre diversos artículos e investigaciones, puesto que algunos especifican una reducción de la expresión de proteínas mitocondriales pro-fisión Drp1 y Fis1 mientras que otros determinan un aumento de estos <sup>[27]</sup>. Destacamos diversos estudios que han determinado que la expresión de los genes asociados a la fusión mitocondrial están disminuidos, mientras que los genes asociados a la fisión mitocondrial están aumentados. Durante el comienzo de la enfermedad, la sobreproducción de A $\beta$ -derivado del precursor APP inducen un aumento de los niveles de Drp1 mitocondrial, que resultan en un aumento de la fragmentación mitocondrial <sup>[29]</sup>. En los estadios finales de la enfermedad, Drp1 interacciona con las tau fosforiladas exacerbando la fragmentación mitocondrial y generando así daños neuronales y un declive cognitivo <sup>[30]</sup>.

## **PARKINSON**

El Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, como consecuencia de la acumulación de  $\alpha$ -sinucleína<sup>[3]</sup>. Estas neuronas participan en la vía nigroestriada, transmitiendo la dopamina desde la sustancia negra hasta el cuerpo estriado. Podemos destacar dos tipos de Parkinson, el esporádico y el familiar. A pesar de que la mayoría de los pacientes son diagnosticados como pacientes esporádicos con Parkinson idiopático, destacan otras formas menos comunes de Parkinson familiar asociado a la expresión de diferentes genes autosómicos recesivos y dominantes, así como algunas variaciones genéticas identificadas como factores de riesgo en el desarrollo de esta enfermedad.

Los problemas asociados a la disfunción mitocondrial ocurren en las primeras fases de la enfermedad, estando el balance de la dinámica mitocondrial alterado en diversos modelos de Parkinson. Este balance se ve alterado debido a la actividad de la  $\alpha$ -sinucleína que es capaz de unirse a la OMM pudiendo inhibir así el proceso de fusión mitocondrial y, por tanto, aumentando el proceso de fragmentación mitocondrial. La  $\alpha$ -sinucleína no interacciona directamente con proteínas involucradas en estos procesos dinámicos sino que al unirse a la OMM interacciona con los lípidos de la membrana e impide que tenga lugar el proceso de la fusión mitocondrial<sup>[31]</sup>.

### **3. MITOFAGIA/AUTOFAGIA MITOCONDRIAL.**

Las alteraciones en la dinámica mitocondrial son un factor determinante en la acumulación de mitocondrias defectuosas<sup>[32]</sup>. La presencia de mitocondrias defectuosas contribuyen a la pérdida neuronal, sináptica y a un aumento de la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) durante el proceso de la respiración mitocondrial con el fin de obtener ATP. Estas especies reactivas del oxígeno son agentes oxidantes capaces de dañar ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos<sup>[33]</sup>, generando así alteraciones que pueden derivar en la muerte neuronal y, por consiguiente, el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Las mitocondrias dañadas son responsables de aumentar los niveles de calcio y citocromo C en el citosol celular, siendo esto un factor determinante en la muerte celular por mecanismos apoptóticos o apoptosis celular<sup>[7]</sup>. Llegado este punto, se destaca la importancia de la mitofagia (autofagia mitodondrial) en la regulación de la homeostasis mitocondrial<sup>[34]</sup>, con el fin de eliminar aquellos orgánulos dañados.

Las mitocondrias tienen un tamaño mayor que el de los autofagosomas (estructuras encargadas de degradar componentes u otras estructuras dañadas), por ello es importante que haya una fragmentación de la mitocondria para que los segmentos dañados puedan ser fagocitados y posteriormente eliminados. Esto determina que la fisión es una parte esencial en el proceso de la mitofagia y que una “reducción de la fisión o un aumento de la fusión mitocondrial podrían inhibir la mitofagia”<sup>[13]</sup>.

Ciertas proteínas contribuyen en la regulación de la mitofagia para asegurar la fagocitosis selectiva de mitocondrias disfuncionales o dañadas por los autofagosomas y la subsiguiente degradación. En mamíferos destacamos dos vías mitofágicas, la vía Parkina-dependiente y la Parkina-independiente<sup>[35]</sup>.



### 3.1. VÍA MITOFÁGICA PINK1/PARKINA-DEPENDIENTE.

Esta vía es dominante en mamíferos y está mediada por la actividad de la PTEN-induced kinasa 1 (PINK1) y la E3 ubiquitín ligasa (Parkina). Ambas enzimas intervienen en esta vía autofágica con el fin de eliminar mitocondrias disfuncionales <sup>[36]</sup> y evitar así la acumulación de las mismas.

La proteína PINK1 es una serina/treonina kinasa que posee unas secuencias selectivas que la dirigen a las mitocondrias, permitiéndole localizarlas adecuadamente. La proteína PINK1 sufre un procesamiento a través de la proteólisis en las mitocondrias sanas, que la dirigen a su degradación posterior vía proteasomal. Por lo tanto, PINK1 está siendo reclutada constantemente en mitocondrias sanas. Sin embargo, cuando existe algún daño en el potencial de membrana mitocondrial, se inactiva el proceso proteolítico y PINK1 se acumula en las membranas mitocondriales externas (OMM) <sup>[37]</sup>. La acumulación de PINK1 en la superficie de la mitocondria dañada induce la translocación de la Parkina desde el citosol hasta la misma, iniciando así el proceso de la mitofagia <sup>[38]</sup>.

“La Parkina es una E3 ubiquitín ligasa citosólica que media la formación de dos cadenas de poliubiquitina. El anclaje de ubiquitina en la lisina 48 (K48) que está involucrada en la degradación proteosomal de sustratos y la de la K63 que está involucrada en la degradación mediante la vía de la autofagia” <sup>[34]</sup>. Tras la translocación de esta enzima a la mitocondria se produce la poliubiquitinación en la K63 de los sustratos mitocondriales y es posible la interacción con componentes autofágicos que poseen puntos de unión selectiva a la ubiquitina. Estos componentes son la proteína p62 o sequestosoma (p62/SQSTM1) y la desacetilasa de histonas 6 (HDAC6) que serán involucrados en la degradación de las mitocondrias dañadas. La p62 es la encargada de favorecer la unión del autofagosoma a través de la cadena ligera 3 (LC3), mientras que HDAC6 activa la maquinaria encargada de favorecer la fusión del autofagosoma y el lisosoma, contribuyendo al proceso autofágico <sup>[39]</sup>. También es posible la formación de cadenas unidas a través de la lisina 48, mediante el proceso de la ubiquitinación, en la superficie de la membrana externa mitocondrial mediada por la actividad ubiquitín-ligasa de la Parkina. Como consecuencia, existe una acción coordinada entre la mitofagia con la acción degradativa del proteosoma.

Se plantea la posibilidad de que la ubiquitinación de Mfn1 y Mfn2 por acción de Parkina, pueda evitar la fusión entre una mitocondria disfuncional y una sana <sup>[40]</sup>. Este hecho cobra sentido, puesto que la inhibición de la actividad de estas proteínas impediría la fusión entre las mitocondrias, puesto que son los componentes indispensables para este proceso. En estudios realizados en ratones, se ha demostrado que Mfn2 funciona como un receptor de Parkina <sup>[41]</sup>. Por otra parte, la ausencia de estos receptores interrumpe la vía mitofágica PINK1/Parkina-dependiente, acumulándose las mitocondrias en células como los cardiomiocitos y las neuronas <sup>[42]</sup>.

### 3.2. VÍA MITOFÁGICA PINK1/PARKINA-INDEPENDIENTE.

Esta vía tiene lugar en condiciones de hipoxia en mamíferos, a pesar de que la vía dominante es la PINK1/Parkina-dependiente. El mediador principal de esta mitofagia inducida por situaciones de hipoxia es el FUNDC1, que es defosforilado bajo estas condiciones. Se trata de una proteína externa mitocondrial que actúa como receptor mitofágico y se acumula en las zonas de contacto entre el retículo endoplasmático (ER) y la mitocondria, interaccionando con la calnexina y de manera subsiguiente con Drp1, siendo así capaz de mediar la fisión

mitocondrial. Seguidamente, la mitocondria fragmentada es reclutada por el complejo “UNC-51-like” kinasa (ULK1) uniéndose a LC3 bajo condiciones hipóxicas e iniciándose el proceso mitofágico<sup>[24]</sup>.

Además de FUNDC1, existen otras proteínas reguladoras de la señalización y reconocimiento de las mitocondrias en esta vía mitofágica como son la cardiolipina, BNIP3, Nix (BNIP3L) y la proteína –“activating molecule in Beclin-1-regulated autophagy” (AMBRA1)<sup>[43] [44]</sup>.

Existen otras vías o mecanismos empleados en el organismo para la eliminación de las mitocondrias defectuosas, siendo estos menos habituales.

#### 4. MITOFAGIA NEURONAL.

Tras una revisión de algunos de los mecanismos encargados de la regulación de la homeostasis mitocondrial, centraremos la atención sobre la mitofagia neuronal.

La gran mayoría de los estudios realizados sobre la vía mitofágica PINK1/Parkina-dependiente han tenido lugar sobre células no neuronales, con niveles de Parkina aumentados y siendo inducida la mitofagia por CCCP, un protonóforo y que permite una despolarización de la mitocondria y actúa como inductor de mitofagia en estudios in vitro. Como consecuencia, tiene lugar una rápida y masiva pérdida del potencial de la membrana mitocondrial en la red. Estas condiciones, generalmente, no reflejan una situación fisiológica y, por tanto, no es el tipo de mitofagia que ocurre en neuronas bajo condiciones basales<sup>[45]</sup>.

Estas investigaciones han resultado en la creencia por diferentes autores de que la mitofagia neuronal sigue una vía mitofágica PINK1/Parkina-alternativa. Diferentes grupos de investigación han sido incapaces de determinar la presencia de Parkina endógena recluida en las mitocondrias neuronales, usando la metodología aplicada en células no neuronales<sup>[46] [47] [48]</sup>. La mitofagia en las neuronas, a través de la vía PINK1/Parkina-dependiente, tiene lugar cuando se produce la sobreexpresión artificial de Parkina y es capaz de translocarse a las mitocondrias. Aun así, el proceso mitofágico bajo estas condiciones es más lento que el que tiene lugar en células no neuronales<sup>[47] [48]</sup>.

“Otros grupos de investigación han determinado que las neuronas tienen un diferente metabolismo bioenergético y una alta dependencia en la fosforilación oxidativa para la producción de ATP (en comparación con el mayor metabolismo glicolítico observado en las células no neuronales), que puede ser responsable de la distinta respuesta de las neuronas frente a CCCP y la dificultad de reclutamiento de la Parkina”<sup>[46]</sup>.

Es importante determinar que existen diferentes mecanismos de eliminación mitocondrial o mitofagia neuronal, donde intervienen diferentes estructuras, mecanismos y mediadores. Se ha observado que existen vías alternativas en la eliminación de las mitocondrias moderadamente disfuncionales o dañadas, como la vía cardiolipín (CL)-dependiente<sup>[43]</sup> o mediante vesículas mitocondriales-derivadas (MDV)<sup>[49]</sup>. Respecto a la vía CL-dependiente, la cardiolipina es un fosfolípido localizado en la membrana mitocondrial interna (IMM) que regula la estabilidad de varios complejos proteicos en la membrana mitocondrial, como los encargados de la cadena respiratoria en la obtención del ATP y los encargados de la incorporación de sustancias. Asimismo, son capaces de intervenir en la regulación de la dinámica mitocondrial y la inducción de la apoptosis mediante el control de la localización del citocromo C en la IMM<sup>[50]</sup>. Este lípido es capaz de translocarse desde la IMM a la OMM y

actuar como un receptor mitofágico favoreciendo la unión de LC3 y el autofagosoma. Esta translocación es mediada por varias proteínas <sup>[50]</sup> y es activada en respuesta a la despolarización. Por otra parte, en relación a las MDVs, se trata de vesículas generadas a partir de la propia membrana mitocondrial que posteriormente se asociarán a los lisosomas, permitiendo la eliminación parcial de daños localizados en las mitocondrias <sup>[49]</sup>. Estas vesículas pueden ser formadas en condiciones basales pero, generalmente, son formadas en respuesta a estrés oxidativo <sup>[51]</sup>.

En resumen, las neuronas son capaces de eliminar las mitocondrias disfuncionales para poder sobrevivir y ser capaces de llevar a cabo sus funciones fisiológicas. Los diferentes mecanismos mitofágicos serán activados en función de la gravedad del daño sobre la mitocondria y el tipo de célula. La vía PINK1/Parkina-dependiente puede activarse a nivel neuronal en respuesta a un daño severo y como consecuencia de una fuerte despolarización, aunque esto solo ocurriría en pocas ocasiones debido a los bajos niveles de Parkina endógenos en las neuronas <sup>[52]</sup>.

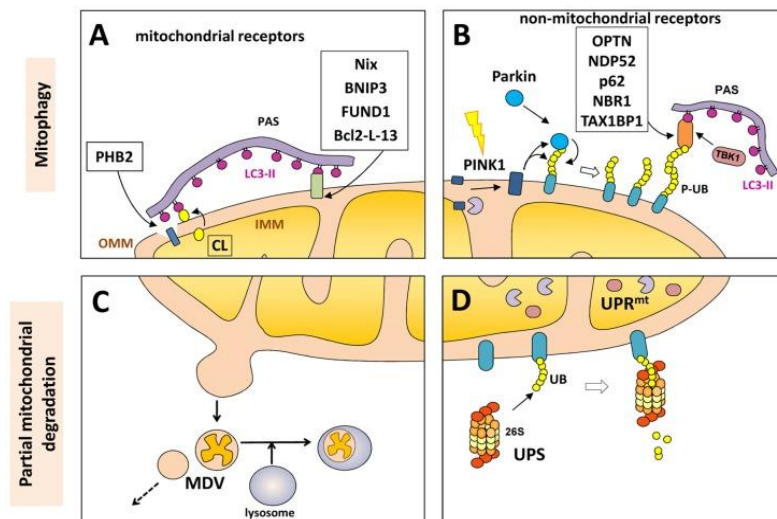


Figura 1: Mecanismos implicados en el proceso de la mitofagia. Imagen tomada de [52].

## 5. MITOFAGIA DEFECTUOSA EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.

La presencia de defectos tanto en la autofagia como en la mitofagia han demostrado una implicación en el desarrollo y progresión de las enfermedades neurodegenerativas <sup>[52]</sup> <sup>[53]</sup>. La presencia o desarrollo de mutaciones a nivel de Parkina y PINK1 producen defectos en la vía PINK1/Parkina-dependiente, que se encuentran asociados con el Parkinson <sup>[37]</sup> <sup>[38]</sup>. En el caso del Alzheimer, la Parkina recluida en las mitocondrias neuronales dañadas es mayor con el fin de que se produzca la degradación de las mismas. Un posible problema asociado a la progresión del Alzheimer reside en los lisosomas defectuosos que son en parte responsables de la acumulación de mitocondrias disfuncionales <sup>[54]</sup> <sup>[55]</sup>.

Por otra parte, numerosos factores antiapoptóticos como Mcl-1, Bcl-X<sub>L</sub> y ciertas desubiquitinasas (USP30 y USP15) son capaces de evitar el proceso de reclutamiento de la Parkina, inhibiendo la mitofagia <sup>[56]</sup>. USP 30 y USP15 antagonizan la actividad de la Parkina mediante la desubiquitinación de las señales que estimulan el reclutamiento de la Parkina. Por otra parte, USP8 es capaz de mantener la forma activada de la Parkina mediante la desubiquitinación de las cadenas de ubiquitina que pueden estar presentes sobre el gen PARK2, estimulando la mitofagia <sup>[56]</sup> <sup>[57]</sup>.

## 5.1. MITOFAGIA DEFECTUOSA EN EL ALZHEIMER.

Esta enfermedad destaca por una etiología muy amplia en la que diferentes procesos contribuyen a la neurodegeneración, donde se incluyen la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo y el deterioro de los mecanismos autofágicos como los endosomas y lisosomas. Varios estudios han determinado la relación del Alzheimer con alteraciones mitocondriales (dinámica, motilidad, morfología y actividad) junto con el estrés oxidativo <sup>[47]</sup> <sup>[58]</sup>.

Siguiendo esta línea, varios grupos de investigación han determinado que la red lisosomal se encuentra afectada en personas que padecen esta enfermedad. Análisis ultraestructurales de estos cerebros han revelado la presencia de neuronas con endosomas alargados, lisosomas vacíos y acumulación de autofagosomas con material indigestible en su interior que no podrá ser eliminado por los lisosomas <sup>[59]</sup>. Esto, como consecuencia, limita la capacidad de aclaramiento de material dañado o disfuncional a nivel mitocondrial y favorece su acumulación resultando en alteraciones neuronales.

Como ha sido comentado previamente en el documento, esta enfermedad se caracteriza por la generación de oligómeros A $\beta$  y finalmente la formación de fibras amiloides insolubles a través del proceso de la amiloidogénesis <sup>[60]</sup>. Este proceso ocurre tanto a nivel de la membrana celular como en compartimentos intracelulares, donde destacan los endosomas, el aparato de Golgi, el retículo endoplasmático, lisosomas, autofagosomas, cuerpos multivesiculares (MVB) y mitocondrias <sup>[61]</sup>. La presencia de A $\beta$  extra e intracelular interfiere con las diferentes vías celulares produciendo disfunciones a distintos niveles. El sistema endosomal interviene en la producción a diferentes niveles de A $\beta$  generando, como consecuencia, cambios en este sistema en pacientes con Alzheimer. Por otra parte, ciertas proteínas encargadas de regular la actividad endosomal también sufren alteraciones afectando a la regulación, organización, tráfico y secreción de vesículas endosomales. El incremento de los niveles de A $\beta$  promueve la disfunción mitocondrial <sup>[62]</sup>.

Los lisosomas pueden verse afectados por mutaciones o ausencia de presenilina-1 (PS-1), una de las subunidades del complejo proteico  $\gamma$ -secretasa, que conduce a un aumento de la producción de A $\beta$ . Esto compromete la acidez de los lisosomas impidiendo que pueda degradarse el material presente en endosomas o autofagosomas, es decir, impidiendo la proteólisis lisosomal <sup>[39]</sup>. La estabilidad lisosomal puede verse alterada por la presencia de la lipoproteína ApoE4, siendo la mutación del gen que expresa este componente lipídico el principal factor de riesgo genético en el Alzheimer y A $\beta$ . Ambos componentes pueden asociarse desestabilizando la membrana lisosomal y aumentando su permeabilidad <sup>[63]</sup>, teniendo como resultado una alteración e inhibición de la actividad del lisosoma. Estos procesos tienen como respuesta un incremento de la expresión de los genes que promueven la autofagia <sup>[64]</sup>, sin embargo hay una acumulación anormal de endosomas y autofagosomas con excesivo material en su interior <sup>[52]</sup>. Se ha recogido información que determina que la maquinaria autofágica es competente en neuronas de pacientes con Alzheimer. A pesar de esto, se destaca que los defectos ocurren en las etapas finales de este proceso, exactamente en la fusión de los autofagosomas con los lisosomas <sup>[55]</sup>.

En referencia a las mitocondrias, su disfunción se encuentra asociada a la acumulación de APP y A $\beta$  en estos orgánulos. Ciertamente, la toxicidad de A $\beta$  puede depender de:

- i. La interacción con las proteínas de la matriz mitocondrial <sup>[65]</sup>.
- ii. La alteración de la dinámica mitocondrial (fusión/fisión) <sup>[30]</sup>.
- iii. La alteración de la motilidad mitocondrial <sup>[29] [66]</sup>.
- iv. La disrupción de la funcionalidad de la cadena de transporte electrónico y la conversión ATP/ADP <sup>[30]</sup>.

En varios experimentos sobre ratones y humanos, se ha determinado una inducción de la vía mitofágica PINK1/Parkina-dependiente asociada a un aumento del reclutamiento de Parkina desde el citosol hasta las mitocondrias dañadas <sup>[67]</sup>. Durante el progreso de la enfermedad, la mitofagia está incrementada y, como consecuencia, se asocia a la depleción de la Parkina citosólica, esto provocando la acumulación de mitocondrias disfuncionales <sup>[54]</sup>. Además, se ha descrito que una sobreexpresión de Parkina en roedores modelo con Alzheimer conlleva una mayor actividad autofágica de mitocondrias defectuosas y la prevención de la disfunción mitocondrial <sup>[68]</sup>. Llegado a este punto, se sugiere que aunque haya un mayor flujo autofágico debido a una mitofagia incrementada, el aclaramiento lisosomal defectuoso de vesículas autofágicas (autofagosomas/endosomas) es responsable de la acumulación aberrante de mitocondrias defectuosas en el Alzheimer <sup>[67]</sup>. Además, se ha observado que las tau truncadas N-terminales son capaces de inducir la captación aberrante de Parkina y, por tanto, desencadenando una excesiva mitofagia y contribuyendo al fallo sináptico <sup>[69]</sup>.

## 5.2. MITOFAGIA DEFECTUOSA EN EL PARKINSON.

Haciendo referencia a los tipos de Parkinson, destacamos el esporádico y el familiar, recordando que el segundo de ellos se encuentra asociado a la expresión de diferentes genes autosómicos recesivos y dominantes, así como algunas variaciones genéticas identificadas como factores de riesgo en el desarrollo de esta enfermedad. Existen dos genes cuyas mutaciones favorecen el desarrollo de formas autosómicas recesivas de esta enfermedad que son PARK2 <sup>[70]</sup> y PARK6 <sup>[71]</sup> que codifican para las proteínas Parkina y PINK1, respectivamente <sup>[52]</sup>. La mutación de estos genes está, por tanto, asociado al desarrollo de formas autosómicas del Parkinson y a la alteración de la vía mitofágica PINK1/Parkina-dependiente <sup>[38]</sup>, pudiendo ser la acumulación de mitocondrias disfuncionales uno de los principales factores contribuyentes de esta patología. PINK1 es una proteína mitocondrial que es rápidamente degradada en los orgánulos sanos por la proteasa de la matriz mitocondrial (MMP) y "*Preselin-associated rhomboid-like protein*" (PARL) <sup>[72]</sup>. Por otra parte, en mitocondrias disfuncionales la proteína PINK1 no es degradada y se acumula en la membrana mitocondrial externa (OMM) <sup>[37]</sup> favoreciendo el reclutamiento de Parkina en el orgánulo dañado <sup>[38] [73]</sup>. Como consecuencia de la incorporación de Parkina, se produce la ubiquitinación de diversas proteínas localizadas en la OMM, entre las que destacan Mfn1 y Mfn2 que permitirán la acción degradativa del proteosoma, conduciendo así a la fisión y la fragmentación de la red mitocondrial <sup>[74]</sup>. Otras proteínas ubiquitinadas de la OMM serán reconocidas por receptores autofágicos como el p62 y Optineurin <sup>[75]</sup> permitiendo su interacción selectiva con el autofagosoma <sup>[76]</sup> que posteriormente interaccionará con el lisosoma formándose el autofagolisosoma. El proceso mitofágico mediado por PINK1 y Parkina tiene como finalidad proteger de la acumulación de mitocondrias disfuncionales tanto a nivel del soma como en los axones de las neuronas <sup>[77]</sup>, así como en otras células presentes en el organismo.

Por lo tanto, las alteraciones en la Parkina pueden deberse a diferentes factores como:

- i. La mutación de los genes PARK2 Y PARK6.
- ii. La alteración de la solubilidad de la Parkina asociada a la edad <sup>[78]</sup>.
- iii. El estrés oxidativo o nitrosativo (daño celular producido por un aumento de los radicales de nitrógeno) <sup>[79]</sup>.

Es importante hacer referencia a las diferentes proteínas que son capaces de actuar a nivel de la vía mitofágica PINK1/Parkina-dependiente o incluso modificar su acción <sup>[38]</sup>.

La vía mitofágica PINK1/Parkina-independiente todavía no ha sido asociada al desarrollo del Parkinson, se ha determinado que otras E3-ligasas están implicadas en la eliminación de las mitocondrias disfuncionales. Recientemente, se ha llegado a la conclusión de que PINK1 es la enzima encargada de la señalización principal en la mitofagia y la enzima Parkina actúa como amplificador del proceso <sup>[80]</sup>.

Generalmente, ambos tipos de Parkinson son indistinguibles fenotípicamente pero se ha determinado que la mutación de la Parkina favorece el desarrollo temprano de la enfermedad y por ello es la causa más común de Parkinson juvenil <sup>[81]</sup>. A nivel neuropático, tampoco se han descrito diferencias respecto a la pérdida dopaminérgica, gliosis (proceso de cicatrización mediado por las células gliales del SNC en respuesta a una lesión o traumatismo cerebral) y presencia de Cuerpos de Lewy <sup>[52]</sup>.

Diversos estudios han sido realizados por diferentes grupos de investigación en ratones con supresión de las proteínas Parkina y PINK1. Muchos de estos modelos no han mostrado pérdida neuronal, presencia de Cuerpos de Lewy, trastornos motores o alteraciones en el metabolismo dopaminérgico <sup>[82]</sup>. Por otra parte, estos modelos de roedores presentaban disfunción mitocondrial, aunque no suficiente como para inducir la muerte neuronal y desencadenar Parkinson. Solamente en algunos ratones modelo fue observado un ligero deterioro en la actividad dopaminérgica <sup>[83]</sup> y otros con Parkina mutada presentaban pérdida neuronal y déficits motores menores <sup>[84]</sup>. Otros estudios utilizando modelos en moscas de Parkina y PINK1 mutadas han mostrado un fenotipo parkinsoniano mucho más marcado con disfunción mitocondrial, pérdida neuronal dopaminérgica, trastornos motores y reducción de la esperanza de vida <sup>[85]</sup>.

A través de estos resultados se establece que tanto la Parkina como PINK1 son claves en el control mitocondrial en neuronas. Por ello, alteraciones en la homeostasis mitocondrial pueden conducir al desarrollo del Parkinson, debido a la alta vulnerabilidad de las neuronas frente al deterioro o disfunción mitocondrial <sup>[52]</sup>. En los ratones modelo, el daño mitocondrial puede no haber sido suficiente para afectar a la viabilidad neuronal o incluso otros procesos han podido compensar la pérdida de PINK1/Parkina. En humanos, sin embargo, la presencia de mutaciones en estos genes podría ser suficiente para favorecer el desarrollo del Parkinson.

## 6. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS.

Actualmente, existen una serie de medicamentos de elección frente al Alzheimer y el Parkinson que tienen como objetivo evitar el desarrollo o progresión de estas enfermedades. En el caso del Alzheimer, son utilizados los inhibidores de la

acetilcolinesterasa (donepezilo, galantamina y rivastigmina) y los antagonistas de los receptores N-metil-D-Aspartato (NMDA) (memantina). Por otra parte, el Parkinson es tratado con medicamentos basados en la dopamina (levodopa + carbidopa), agonistas dopaminérgicos (bromocriptina, cabergolida, pergolida, etc), inhibidores de la mono-aminoxidasa B (MAO-B) (selegilina, rasagilina, safinamida), inhibidores de la catecol-o-metiltransferasa (COMT) (entacapone y tolcapone), medicamentos anticolinérgicos (trihexifenidilo, prociclidina y biperideno) y la amantidina, un antiviral con un ligero efecto antiparkinsoniano.

Es importante hacer referencia a la relación existente entre el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas y la edad, ya que con el paso de los años la probabilidad de padecer alguna de estas enfermedades incrementa debido al deterioro del organismo. Esto deriva en el estudio de nuevas posibilidades terapéuticas que puedan contribuir a la disminución de la prevalencia de estas enfermedades neurodegenerativas, siendo las mitocondrias una de las dianas más investigada.

Como consecuencia, una de las dianas terapéuticas estudiadas han sido las sirtuinas (SIRT). Se trata de una familia de proteínas histona desacetilasas (HDACs) de clase III dependientes de nicotinamida adenina dinucleótido ( $\text{NAD}^+$ ) que tienen importantes papeles en el metabolismo, edad <sup>[86]</sup> y cuyas localizaciones intracelulares son diferentes, algunas como la SIRT3, SIRT4 y SIRT5 se localizan en las mitocondrias mientras que SIRT 1, SIRT 2 y SIRT 6 se localizan en el citoplasma y núcleo. El hecho de estar algunas de ellas localizadas en las mitocondrias las relaciona estrechamente con el proceso mitofágico. Como consecuencia de este hecho, se ha determinado que el tratamiento con resveratrol <sup>[87]</sup>, activador de SIRT1, y metformina (principalmente indicada para la diabetes) <sup>[88]</sup>, activador de AMPK, son capaces de incrementar la mitofagia, impidiendo así la acumulación de mitocondrias disfuncionales capaces de favorecer el envejecimiento y desarrollo de enfermedades como las neurodegenerativas. Asimismo, la actividad de las sirtuinas es regulada mediante la estimulación de precursores de  $\text{NAD}^+$  (NMN y nitrato reductasa, NR) o inhibidores de catalizadores de  $\text{NAD}^+$  (poli ADP ribosa polimerasa, PARP), ambos grupos terapéuticos han demostrado resultados positivos en mejoría en facetas asociadas a la edad y neurodegeneración <sup>[89]</sup>.

La dinámica mitocondrial es otra de las dianas terapéuticas más estudiadas, ya que un desequilibrio entre la fusión y fisión mitocondrial supone graves problemas en el desarrollo de patologías como el Alzheimer y Parkinson, entre otras. Como ha sido comentado a lo largo del presente trabajo, ambas enfermedades están asociadas a un aumento del proceso de fragmentación mitocondrial que puede ser abordado terapéuticamente. El mediador principal de la fisión es Drp1, por ello, surgieron sustancias frente a esta estructura como mdivi-1 y el péptido P110 <sup>[90]</sup>.

Mdivi-1 fue descrito como un inhibidor directo de Drp1 pero, posteriormente, se determinó su baja inhibición de Drp1 en humanos y se cuestionó su utilización como tratamiento tras un estudio llevado a cabo por Bordt et al <sup>[91]</sup>. Posteriores revisiones de la literatura científica establecen que las evidencias de mdivi-1 como inhibidor de Drp1 son más numerosas aunque hace referencia a la escasa publicación de investigaciones donde los resultados no son los esperados. Respecto al péptido P110, se trata de una sustancia capaz de inhibir la interacción entre Drp1 con el receptor Fis1, presente en la membrana externa mitocondrial (OMM). A través de algunos estudios se demostró su actividad in vivo, además de no

interferir a nivel de otras GTPasas implicadas en la fusión mitocondrial como son Mfn1 y OPA1<sup>[90]</sup>.

Siguiendo la línea de tratamiento relacionada con la dinámica mitocondrial, están siendo estudiadas nuevas alternativas como los activadores de Mfn1 y Mfn2 con el fin de contrarrestar la excesiva fisión mitocondrial que puede conllevar el desarrollo de estas patologías.

Las mitocondrias, como consecuencia del funcionamiento de la cadena de transporte electrónico, producen ROS que en concentraciones bajas intervienen en la señalización fisiológica pero en concentraciones superiores generan toxicidad acompañada de daños y disfunción mitocondriales. Generalmente, estos daños son limitados mediante componentes antioxidantes que permiten mantener la integridad mitocondrial aunque en ocasiones pueden verse sobrepasados y por ello se requeriría la administración de moléculas antioxidantes para mitigar el daño generado<sup>[92]</sup>. Entre estas moléculas con capacidad antioxidante encontramos la Coenzima Q (ubiquinona), la vitamina C (ácido ascórbico) y E ( $\alpha$ -tocoferol) que a pesar de su actividad se ha observado que su capacidad de penetración hasta la membrana interna mitocondrial (IMM), donde se generan ROS, es pequeña y no ha demostrado una eficiencia consistente en la reducción del riesgo de padecer enfermedades asociadas a la edad<sup>[93]</sup>. Han sido ensayados otras sustancias antioxidantes como “ $\alpha$ -tocoferol scavenger” (mito-vitE) y mito-apocinina demostrando tener eficacia en modelos preclínicos de Parkinson<sup>[94]</sup>. Por último, se ha hecho referencia al “elamiprétide” (SS-31)<sup>[95]</sup>, un tetrapéptido que es capaz de acceder hasta la mitocondrias e interactuar con la cardiolipina. Se trata de una acción terapéutica frente a la enfermedad mitocondrial mediante la disminución de los niveles de ROS, daño oxidativo y el aumento del ATP generado, evitando consecuencias mayores asociadas a esta enfermedad, como la neurodegeneración.

## **CONCLUSIÓN**

Con toda la información analizada y recopilada se determina que la actividad de las mitocondrias es fundamental para el correcto funcionamiento del organismo. Cualquier desequilibrio en la dinámica o disfunción mitocondrial resulta en una alteración de la actividad celular, siendo el origen de problemas fisiológicos como la neurodegeneración.

Las mitocondrias como orgánulos encargados de la producción de energía, mediante la respiración celular, tienen un papel principal en la funcionalidad de las neuronas. Es importante que haya una adecuada regulación de su dinámica así como del proceso de la autofagia, puesto que errores a estos niveles han resultado ser factores cruciales en el desarrollo y progresión de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson.

Respecto al tratamiento, las estrategias terapéuticas cuyas dianas son las mitocondrias y sus procesos aún están en situación de investigación y desarrollo. Pocas sustancias con esta diana son tratamiento de elección frente a estas patologías, prefiriéndose utilizar otros tratamientos. A pesar de esto, se cree que la corrección de errores a nivel mitocondrial podría suponer un gran avance en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.



## **BIBLIOGRAFIA**

- [1] Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006;368(9533): 387-403.
- [2] Prince M, Albanese E, Guerchet M, et al. *World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction and Analysis of Protective and Modifiable Factors*. 2014.
- [3] Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet*. 2015;386(9996): 896-912.
- [4] Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics-fusion, fission, movement and mitophagy-in neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet*. 2009;18(R2): R169-176.
- [5] Wang X, Su B, Lee HG, Li X, Perry G, Smith MA, Zhu X. Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2009;29(28): 9090-9103.
- [6] Toyama EQ, Herzig S, Courchet J, Lewis JT, Losón OC, et al. Metabolism. AMP-activated protein kinase mediates mitochondrial fission in response to energy stress. *Science*. 2016;351(6270): 275-281.
- [7] Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes Dev*. 2008;22(12): 1577-1590.
- [8] Itoh K, Nakamura K, Iijima M, Sesaki H. Mitochondrial dynamics in neurodegeneration. *Trends Cell Biol*. 2013;23(2): 64-71.
- [9] Zorzano A, Claret M. Implications of mitochondrial dynamics on neurodegeneration and on hypothalamic dysfunction. *Front Aging Neurosci*. 2015;7: 101.
- [10] Tamura Y, Itoh K, Sesaki H. SnapShot: Mitochondrial dynamics. *Cell*. 2011;145(7): 1158.
- [11] Otera H, Ishihara N, Mihara K. New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013;1833(5): 1256-1268.
- [12] Kasahara A, Scorrano L. Mitochondria: from cell death executioners to regulators of cell differentiation. *Trends Cell Biol*. 2014;24(12): 761-770.
- [13] Twig G, Elorza A, Molina AJ, Mohamed H, et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J*. 2008;27(2): 433-446.
- [14] Flippo KH, Strack S. Mitochondrial dynamics in neuronal injury, development and plasticity. *J Cell Sci*. 2017; 130(4): 671-681.
- [15] Mishra P. Interfaces between mitochondrial dynamics and disease. *Cell Calcium*. 2016;60(3): 190-198.
- [16] Smirnova E, Griparic L, Shurland DL, van der Bliek AM. Dynamin-related protein drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell*. 2001;12(8): 2245-2256.
- [17] Richter V, Singh AP, Kvensakul M, Ryan MT, Osellame LD. Splitting up the powerhouse: structural insights into the mechanism of mitochondrial fission. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72(19): 3695-3707.
- [18] Cribbs JT, Strack S. Reversible phosphorylation of Drp1 by cyclic AMP-dependent protein kinase and calcineurin regulates mitochondrial fission and cell death. *EMBO Rep*. 2007;8(10): 939-944.
- [19] Peng J, Ren KD, Yang J, Luo XJ. Mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1: A key enzyme in regulation of mitochondrial dynamics and functions. *Mitochondrion*. 2016;28: 49-53.
- [20] Harder Z, Zunino R, McBride H. Sumo1 conjugates mitochondrial substrates and participates in mitochondrial fission. *Curr Biol*. 2004;14(4): 340-345.
- [21] Friedman JR, Lackner LL, West M, DiBenedetto JR, Nunnari J, Voeltz, GK. ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science*. 2011;334(6054): 358-362.

- [22] Murley A, Lackner LL, Osman C, West M, Voeltz GK, Walter P, Nunnari J. ER-associated mitochondrial division links the distribution of mitochondria and mitochondrial DNA in yeast. *Elife*. 2013;2: e00422.
- [23] Ji WK, Chakrabarti R, Fan X, Schoenfeld L, Strack S, Higgs HN. Receptor-mediated Drp1 oligomerization on endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*. 2017;216(12): 4123-4139.
- [24] Wu W, Lin C, Wu K, Jiang L, Wang X, Li W, et al. FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics at the ER-mitochondrial contact site under hypoxic conditions. *EMBO J*. 2016;35(13): 1368-1384.
- [25] Rambold AS, Pearce EL. Mitochondrial dynamics at the interface of immune cell metabolism and function. *Trends Immunol*. 2018;39(1): 6-18.
- [26] Baloyannis SJ. Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2006;9(2):119-26.
- [27] Wang X, Su B, Siedlak SL, Moreira PI, Fujioka H, Wang Y, et al. Amyloid- $\beta$  overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of mitochondrial fission/fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(49): 19318-19323.
- [28] Bonda DJ, Wang X, Perry G, Smith MA, Zhu X. Mitochondrial dynamics in Alzheimer's disease: opportunities for future treatment strategies. *Drugs Aging*. 2010;27(3): 181-192.
- [29] Calkins MJ, Manczak M, Mao P, Shirendeb U, Reddy PH. Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*. 2011;20(23): 4515-4529.
- [30] Manczak M, Reddy PH. Abnormal interaction between the mitochondrial fission protein Drp1 and hyperphosphorylated tau in Alzheimer's disease neurons: implications for mitochondrial dysfunction and neuronal damage. *Hum Mol Genet*. 2012;21(11): 2538-2547.
- [31] Kamp F, Exner N, Lutz A K, Wender N, Hegermann J, et al. Inhibition of mitochondrial fusion by  $\alpha$ -synuclein is rescued by PINK1, Parkin and DJ-1. *EMBO J*. 2010;29(20): 3571-3589.
- [32] Sebastián D, Palacín M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics: coupling mitochondrial fitness with healthy aging. *Trends Mol Med*. 2017;23(3): 201-215.
- [33] Bhat AH, Dar KB, Anees S, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomed Pharmacother*. 2015;74:101-110.
- [34] Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death Differ*. 2013;20(1): 31-42.
- [35] Kageyama Y, Hoshijima M, Seo K, Bedja D, Sysashah P, Andrabi SA, et al. Parkin-independent mitophagy requires Drp1 and maintains the integrity of mammalian heart and brain. *EMBO J*. 2014;33(23): 2798-2813.
- [36] Eiyama A, Okamoto K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;33: 95-101.
- [37] Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12(1): 9-14.
- [38] Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron*. 2015;85(2): 257-273.
- [39] Lee JY, Nagano Y, Taylor JP, Lim KL, Yao TP. Disease-causing mutations in parkin impair mitochondrial ubiquitination, aggregation and HDAC6-dependent mitophagy. *J Cell Biol*. 2010;189(4): 671-679.
- [40] Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AH, Taanman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet*. 2010;19(24): 4861-4870.

- [41] Chen Y, Dorn GW 2nd. PINK1-phosphorylated mitofusin 2 is a parkin receptor for culling damaged mitochondria. *Science*. 2013;340(6131): 471-475.
- [42] Zhu T, Chen JL, Wang Q, et al. Modulation of Mitochondrial Dynamics in Neurodegenerative Diseases: An Insight Into Prion Diseases. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:336.
- [43] Chu CT, Ji J, Dagda RK, Jiang JF, Tyurina YY, Kapralov AA, et al. Cardiolipin externalization to the outer mitochondrial membrane acts as an elimination signal for mitophagy in neuronal cells. *Nat Cell Biol*. 2013;15(10): 1197-1205.
- [44] Strappazzon F, Nazio F, Corrado M, Cianfanelli V, Romagnoli A, Fimia GM, et al. AMBRA1 is able to induce mitophagy via LC3 binding, regardless of PARKIN and p62/SQSTM1. *Cell Death Differ*. 2015;22(3): 419-432.
- [45] Grenier K, McLelland GL, Fon EA. Parkin- and PINK1- dependent mitophagy in neurons: will the real pathway please stand up? *Front Neurol*. 2013;4: 100.
- [46] Van Laar VS, Arnold B, Cassady SJ, Chu CT, Burton EA, Berman SB. Bioenergetics of neurons inhibit the translocation response of Parkin following rapid mitochondrial depolarization. *Hum Mol Genet*. 2011;20(5): 927-940.
- [47] Cai Q, Zakaria HM, Simone A, Sheng Z. Spatial parkin translocation and degradation of damaged mitochondria via mitophagy in live cortical neurons. *Curr Biol*. 2012;22(6): 545-552.
- [48] Rakovic A, Shurkewitsch K, Seibler P, Grünwald A, Zanon A, et al. Phosphatase and tensin homolog (PTEN)-induced Putative Kinase 1 (PINK1)-dependent ubiquitination of endogenous parkin attenuates mitophagy: study in human primary fibroblasts and induced pluripotent stem cell-derived neurons. *J Biol Chem*. 2013;288(4): 2223-2237.
- [49] Roberts RF, Tang MY, Fon EA, Durcan TM. Defending the mitochondria: the pathways of mitophagy and mitochondrial-derived vesicles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2016;79: 427-436.
- [50] Maguire J.J, Tyurina YY, Mohammadyani D, Kapralov, AA, et al. Known unknowns of cardiolipin signaling: the best is yet to come. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1862(1): 8-24.
- [51] Shlevkov E, Schwarz TL. Have you seen? For parkin, it's not all or nothing. *EMBO J*. 2014;33(4): 277-279.
- [52] Martinez-Vicente M. Neuronal mitophagy in neurodegenerative diseases. *Front Mol Neurosci*. 2017;10: 64.
- [53] Rodolfo C, Campello S, Cecconi F. Mitophagy in neurodegenerative diseases. *Neurochem Int*. 2018;117: 156-166.
- [54] Ye X, Sun X, Starovoytov V, Cai Q. Parkin-mediated mitophagy in mutant hAPP neurons and Alzheimer's disease patient brains. *Hum Mol Genet*. 2015;24(10): 2938-2951
- [55] Bordi M, Berg MJ, Mohan PS, Peterhoff CM, Alldred MJ, Che S, Ginsberg SD, Nixon RA. Autophagy flux in CA1 neurons of Alzheimer hippocampus: Increased induction overburdens failing lysosomes to propel neuritic dystrophy. *Autophagy* 2016;12(12): 2467-2483.
- [56] Durcan TM, Tang MY, Pérusse JR, Dashti EA, et al. USP8 regulates mitophagy by removing K6-linked ubiquitin conjugates from parkin. *EMBO J*. 2014;33(21): 2473-2491.
- [57] Durcan TM, Fon EA. USP8 and PARK2/parkin-mediated mitophagy. *Autophagy*. 2015;11(2): 428-9.
- [58] Cai Q, Tammineni P. Alterations in mitochondrial quality control in Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci*. 2016;10: 24.
- [59] Ihara Y, Morishima-Kawashima M, Nixon R. The ubiquitin-proteasome system and the autophagic-lysosomal system in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2012;2(8): a006361.

- [60] LaFerla FM, Green KN, Oddo S. Intracellular amyloid- $\beta$  in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8(7): 499-509.
- [61] Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature.* 2002;416(6880): 535-539.
- [62] Peric A, Annaert W. Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? *Acta Neuropathol.* 2015;129(3): 363-381.
- [63] Ji ZS, Müllendorff K, Cheng IH, Miranda RD, Huang Y, Mahley RW. Reactivity of apolipoprotein E4 and amyloid  $\beta$  peptide: lysosomal stability and neurodegeneration. *J Biol Chem.* 2006;281(5): 2683-2692.
- [64] Lipinski MM, Zheng B, Lu T, Yan Z, et al. Genomewide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(32): 14164-14169.
- [65] Du H, Guo L, Fang F, Chen D, Sosunov AA, McKhann GM, et al. Cyclophilin D deficiency attenuates mitochondrial and neuronal perturbation and ameliorates learning and memory in Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2008;14(10): 1097-1105.
- [66] Reddy PH, Tripathi R, Troung Q, Tirumala K, et al. Abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration as early events in Alzheimer's disease: implications to mitochondria-targeted antioxidant therapeutics. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(5): 639-649.
- [67] Rodolfo C, Campello S, Cecconi F. Mitophagy in neurodegenerative diseases. *Neurochemistry International.* 2018;117: 156-166.
- [68] Martin-Maestro P, Gargini R, Perry G, Avila J, Garcia-Escudero V. PARK2 enhancement is able to compensate mitophagy alterations found in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2016;25(4): 792-806.
- [69] Corsetti V, Florenzano F, Atlante A, Bobba A, Ciotti MT, et al. NH2-truncated human tau induces deregulated mitophagy in neurons by aberrant recruitment of Parkin and UCHL-1: implications in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2015;24(11): 3058-3081.
- [70] Mata IF, Lockhart PJ, Farrer MJ. Parkin genetics: one model for Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2004;13 Spec No 1: R127-133.
- [71] Valente EM, Brancati F, Ferraris A, Graham EA, Davis MB, et al. PARK6-linked parkinsonism occurs in several European families. *Ann Neurol.* 2002;51(1): 14-18.
- [72] Greene AW, Grenier K, Aguilera MA, et al. Mitochondrial processing peptidase regulates PINK1 processing, import and Parkin recruitment. *EMBO Rep.* 2012;13(4): 378-385.
- [73] Durcan TM, Fon EA. The three 'P's of mitophagy: PARKIN, PINK1, and post-translational modifications. *Genes Dev.* 2015;29: 989-999.
- [74] Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AH, Taanman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet.* 2010;19(24): 4861-4870.
- [75] Wong YC, Holzbaur EL. Optineurin is an autophagy receptor for damaged mitochondria in parkin-mediated mitophagy that is disrupted by an ALS-linked mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(42): E4439-4448.
- [76] Itakura E, Kishi-Itakura C, Koyama-Honda I, Mizushima N. Structures containing Atg9A and the ULK1 complex independently target depolarized mitochondria at initial stages of Parkin-mediated mitophagy. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 6): 1488-1499.
- [77] Ashrafi G, Schlehe JS, LaVoie MJ, Schwarz TL. Mitophagy of damaged mitochondria occurs locally in distal neuronal axons and requires PINK1 and Parkin. *J Cell Biol.* 2014;206(5): 655-670.

- [78] Pawlyk AC, Giasson BI, Sampathu DM, et al. Novel monoclonal antibodies demonstrate biochemical variation of brain parkin with age. *J Biol Chem.* 2003;278(48): 48120-48128.
- [79] Wang C, Ko HS, Thomas B, Tsang F, Chew KC, Tay SP, et al. Stress-induced alterations in parkin solubility promote parkin aggregation and compromise parkin's protective function. *Hum Mol Genet.* 2005;14(24): 3885-3897.
- [80] Lazarou M, Sliter DA, Kane, LA, Sarraf SA, Wang C, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature.* 2015;524(7565): 309–314.
- [81] Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, Tanaka H, Ishikawa A, et al. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am. J. Hum. Genet.* 1997;60(3): 588–596.
- [82] Blesa J, Przedborski S. Parkinson's disease: animal models and dopaminergic cell vulnerability. *Front. Neuroanat.* 2014;8: 155.
- [83] Kitada T, Tong Y, Gautier CA, Shen J. Absence of nigral degeneration in aged parkin/DJ-1/PINK1 triple knockout mice. *J. Neurochem.* 2009;111(3): 696–702.
- [84] Van Rompuy AS, Lobbstaël E, Van der Perren A, et al. Long-term overexpression of human wild-type and T240R mutant Parkin in rat substantia nigra induces progressive dopaminergic neurodegeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2014;73(2): 159–174.
- [85] Burman JL, Yu S, Poole AC, Decal RB, Pallanck L. Analysis of neural subtypes reveals selective mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons from parkin mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012; 109(26): 10438–10443.
- [86] Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2012; 13(4): 225–238.
- [87] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature.* 2003; 425(6954): 191–196.
- [88] Song YM, Lee YH, Kim JW, Ham DS, et al. Metformin alleviates hepatosteatosis by restoring SIRT1-mediated autophagy induction via an AMP-activated protein kinase-independent pathway. *Autophagy.* 2015; 11(1): 46–59.
- [89] Bonkowski MS, Sinclair DA. Slowing ageing by design: the rise of NAD<sup>+</sup> and sirtuin-activating compounds. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2016;17(11): 679-690
- [90] Qi X, Qvit N, Su YC, Mochly-Rosen D. A novel Drp1 inhibitor diminishes aberrant mitochondrial fission and neurotoxicity. *J Cell Sci.* 2013;126(Pt 3): 789-802.
- [91] Bordt EA, Clerc P, Roelofs BA, et al. The Putative Drp1 Inhibitor mdivi-1 Is a Reversible Mitochondrial Complex I Inhibitor that Modulates Reactive Oxygen Species. *Dev Cell.* 2017;40(6): 583-594.
- [92] Webb M, Sideris DP, Biddle M. Modulation of mitochondrial dysfunction for treatment of disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 2019.
- [93] Myung SK, Ju W, Cho B, et al. Efficacy of vitamin and antioxidant supplements in prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2013;346: f10.
- [94] Langley M, Ghosh A, Charli A, Sarkar S, et al. Mito-apocynin prevents mitochondrial dysfunction, microglial activation, oxidative damage, and progressive neurodegeneration in MitoPark transgenic mice. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2017;27(14): 1048–1066.
- [95] Siegel MP, Kruse SE, Percival JM, et al. Mitochondrial-targeted peptide rapidly improves mitochondrial energetics and skeletal muscle performance in aged mice. *Aging Cell.* 2013;12(5): 763-771.