



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ROL DE LAS PLAQUETAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, ESCLEROSIS
LATERAL AMIOTRÓFICA Y ENFERMEDAD DE PARKINSON**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: CONSTANZA VALENZUELA MORÁN
PROFESOR GUÍA: Dr. TM. MARCELO ALARCÓN**

TALCA-CHILE

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
OBJETIVOS	7
1. OBJETIVO GENERAL	7
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
MARCO TEÓRICO	8
1. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS	8
2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	9
2.1. Epidemiología	10
2.2. Factores de riesgo	10
2.3. Etiopatología	11
2.3.1. Proteína Tau	12
2.3.2. Péptido β -amiloide ($A\beta$)	13
2.3.3. Plaquetas	16
2.3.4. APP en plaquetas	19
2.3.5. Calpaína	21
2.3.6. Secretasas plaquetarias	24
2.3.7. microRNAs	24
2.3.8. Serotonina	27
2.3.9. Actividad de monoaminooxidasa	27
2.3.10. Ciclooxygenasa	28
2.3.11. Óxido Nítrico sintasa y generación de radicales libres	29
2.3.12. Envejecimiento celular	30
3. ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA	31
3.1. Epidemiología	32
3.2. Factores de riesgo	33

3.3. Etiopatogenia	33
3.3.1. Factor activador de plaquetas	36
3.3.2. Variaciones plaquetarias y mitocondriales plaquetarias	37
3.3.3. Glutamato	41
4. ENFERMEDAD DE PARKINSON	41
4.1. Epidemiología	42
4.2. Factores de Riesgo	42
4.3. Etiopatología	43
CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Sitios de corte aminoacídicos de las enzimas involucradas en la producción de péptidos A β	14
Figura 2. Vía no amiloidogénica y vía amiloidogénica de la EA	15
Figura 3. Estructura plaquetaria	17
Figura 4. Mecanismo de activación de la vía cAMP / PKA en la regulación de la activación de calpaína y la secreción de A β en plaquetas humanas	22
Figura 5. Plaquetas ELA marcadas con JC-1	38
Figura 6. Variaciones en la ultraestructura de las plaquetas	39
Figura 7. Variaciones ultraestructurales en mitocondrias plaquetarias	40
Figura 8. Visión general de la relación entre alteración plaquetaria y las enfermedades neurodegenerativas.	48
Tabla 1. Gránulos intracelulares de las plaquetas	20
Tabla 2. Componentes de la membrana externa plaquetaria con su ligando y correspondientes funciones	23

RESUMEN

Las Enfermedades Neurodegenerativas (END) son un grupo de enfermedades que afectan al Sistema Nervioso Central, con causas multifactoriales y que tienen en común la producción de pérdidas neuronales y anatomofuncionales.

De las END, la más prevalentes a nivel mundial son la Enfermedad de Alzheimer, la Esclerosis Lateral Amiotrófica y la Enfermedad de Parkinson. Actualmente se han realizado muchas investigaciones que buscan dilucidar el rol de la plaqueta dentro de la fisiopatología de estas enfermedades, en donde se han documentado hiperactivación plaquetaria debido a neuroinflamación, aumento de la secreción plaquetaria, alteraciones morfológicas y estructurales mitocondriales, desregulación enzimática, aumento de estrés oxidativo y aumento de la expresión de microRNA.

Palabras claves: Enfermedades neurodegenerativas, activación plaquetaria, estrés oxidativo, disfuncionalidad mitocondrial, MAO-B.

INTRODUCCIÓN

El ser humano está conformado por millones de células, las cuales son capaces de conformar tejidos, órganos, aparatos y sistemas hasta formar un organismo completo. En este trabajo se hará alusión al tejido sanguíneo, el cual es una variación de un tejido conectivo especializado que va a circular por el aparato circulatorio, compuesto por plasma y elementos formes, como células sanguíneas (glóbulos rojos, leucocitos) y plaquetas (1).

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados que se van a encargar de diversos procesos fisiológicos y patológicos vinculados con hemostasia, la inflamación, la remodelación tisular, etc. Es por esto por lo que se realiza una revisión bibliográfica, con el objetivo de reunir información sobre el rol de las plaquetas en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas (END).

Las enfermedades neurodegenerativas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan al sistema nervioso central (SNC) y se caracterizan por una pérdida neuronal progresiva en áreas concretas cerebrales o sistemas anatomofuncionales que afectan de forma más común a la población adulta mayor.

Existen más de 100 patologías descritas dentro de las EN, por lo que se decide para esta revisión hacer hincapié en la Enfermedad de Alzheimer (EA), Parkinson (EP) y Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Analizar documentos científicos actualizados sobre el rol de las plaquetas en la fisiopatología de la Enfermedad de Alzheimer, en la Esclerosis Lateral Amiotrófica y en la Enfermedad de Parkinson.

2. Objetivos específicos

- Recopilar información sobre epidemiología, factores de riesgo y etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer, la Esclerosis Lateral Amiotrófica y la Enfermedad de Parkinson.

- Actualizar la información acerca del rol de la plaqueta en la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer, la Esclerosis Lateral Amiotrófica y la Enfermedad de Parkinson.

MARCO TEORICO

1. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas (END) constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan el sistema nervioso central (SNC) y se caracterizan por una pérdida neuronal progresiva en áreas concretas cerebrales o sistemas anatomofuncionales (2).

Son enfermedades muy heterogéneas en cuanto a síntomas y hallazgos anatomopatológicos. Se desconocen las causas que provocan las pérdidas neuronales, es por esto que a las enfermedades que se les conoce la causa de estas pérdidas no se les consideran enfermedades neurodegenerativas, por ejemplo, la desmielinización en la esclerosis múltiple (3).

De acuerdo con el National Institute of Neurological Disorder and Stroke Study (NINDSS) hay más de 600 END entre las que destacan por su alta prevalencia y gravedad, la Enfermedad de Alzheimer (EA), la Enfermedad de Parkinson (EP), la Enfermedad de Huntington (EH) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) (4).

La mayoría de estas enfermedades tienen en común que la patología se produce por la agregación y acumulación de proteínas mal plegadas que se depositan en forma de agregados intracelulares o extracelulares y que producen la muerte celular. Por lo tanto, no tienen un tratamiento etiológico y la terapia consiste en tratar los síntomas (4).

Generalmente, estas enfermedades generan dependencia en actividades básicas de la vida diaria, afectando la autonomía personal (la capacidad de toma de decisiones) y produciendo incapacidad laboral, lo que conlleva una disminución de la calidad de vida de la persona afectada y de su familia.

Muchas END están ligadas a la edad, por lo que el progresivo envejecimiento de la población en los países desarrollados supone un aumento de la prevalencia de este tipo de patologías.

2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad del Alzheimer es categorizada como un tipo de demencia con etiología y patogenia múltiple. Es una enfermedad crónica y adquirida, donde se produce alteración de la función cerebral, incluyendo la memoria, pensamiento, orientación, aprendizaje, lenguaje y juicio. Generalmente se acompaña de un deterioro emocional y comportamiento social. Es una patología dependiente de la edad y que afecta en mayor cantidad al sexo femenino.

2.1 Epidemiología

Aproximadamente, existe en el mundo alrededor de 35 millones de personas con algún tipo de demencia, cifra que se va duplicando cada 20 años, estimándose para el año 2050 la prevalencia sea de 135 millones (5).

En Chile, se estima que el 1,06% de la población total presenta algún tipo de demencia. El estudio Nacional de la Dependencia realizado por el Servicio Nacional del Adulto Mayor, Senama, en el año 2009, da cuenta que el 7,1% de las personas de 60 años y más (7,7% en mujeres y 5,9% en hombres) presenta deterioro cognitivo, el cual a partir de los 75 años muestra un aumento exponencial, alcanzando 13% en las personas entre 75-79 años y 36,2% en los mayores de 85 años (5, 6). Cabe señalar que la mayor prevalencia de demencia en Chile se ubica en niveles socioculturales bajos y en población rural, los que podrían considerarse como determinantes sociales de la enfermedad (7).

2.2 Factores de riesgo

Entre los factores de riesgo de la EA encontramos la vulnerabilidad y/o susceptibilidad genética debida a polimorfismos entre determinados grupos de sujetos. Por otro lado, también existen antecedentes de diversos factores que incrementan el riesgo de desarrollar EA, como traumatismos craneoencefálicos, una dieta rica en grasas, alteraciones en la homeostasis del colesterol, deficiencias de vitamina B12, infecciones recurrentes y sobrecarga de hierro redox en el cerebro, entre otros. Ninguno de los anteriores parece ser un

factor etiológico directo, sino que más bien actuarían como señales de daño, que se traducen molecularmente en: estrés oxidativo, cambios en la respuesta inmune, activación de las células gliales (involucrando la producción de citoquinas proinflamatorias y de señalización anómalas), anormalidades proteicas (alteraciones postraduccionales y agregación de la proteína tau y formación de agregados de péptido-amiloide), alteraciones sinápticas y factores neurotóxicos (8).

2.3 Etiopatogenia

Los estudios realizados para encontrar la causa de la enfermedad concuerdan en la existencia de acumulación de la proteína Tau que forma ovillos neurofibrilares y la acumulación de la proteína insoluble β -amiloide que forma placas amiloides. Estos cambios provocan modificaciones neuronales, inflamación, déficit de neurotransmisores (como la acetilcolina), cambios vasculares, y, por lo tanto, pérdida neuronal. Reflejándose de esta manera una alteración de la memoria, deterioro cognitivo y cambios conductuales (9). Por otro lado, se ha documentado que la plaqueta también influye en esta patología (como en la enfermedad de Parkinson y Esclerosis Lateral Amiotrófica), por medio de secreción de péptido $A\beta$, por expresión de microRNA, que participan en esta secreción, por desregulaciones enzimáticas (secretasas, calpaína, MAO, COX), cambios en la concentración de serotonina y por estrés oxidativo (este último involucrado en el envejecimiento celular).

2.3.1 Proteína Tau

La proteína Tau forma parte de una familia de proteínas asociadas a microtúbulos (MAPs) que se expresan principalmente en las neuronas. El gen que la codifica puede formar seis isoformas diferentes. Esta proteína participa en el ensamble de monómeros de tubulina dentro de los microtúbulos para dar lugar a la red de microtúbulos neuronales; los cuales contribuyen al mantenimiento de la forma celular y sirven como vía de transporte a través de los axones. Además, establece vínculos entre microtúbulos y otros elementos del citoesqueleto como los neurofilamentos u otras proteínas como son espectrina y filamentos de actina. Estudios han demostrado que estas actividades están reguladas en gran parte por el estado de fosforilación de Tau, así como por el número de dominios funcionales de unión a tubulina (10), localizados en el extremo C-terminal.

Normalmente, existe un equilibrio entre las fosforilaciones y desfosforilaciones de Tau, lo que produce cambios estructurales y conformacionales que regulan la estabilidad del citoesqueleto y, por lo tanto, la morfología axonal. Sin embargo, durante el desarrollo de la EA, Tau se hiperfosforila en múltiples sitios y se integra principalmente dentro de filamentos helicoidales apareados (PHF), dando lugar a complejos proteicos denominados desarreglos neurofibrilares (NFTS), perdiendo sus funciones fisiológicas (11), afectando el mecanismo de transporte neuronal, impidiendo la transmisión de señales eléctricas y transporte de nutrientes. Estos NFTS suelen ser más abundantes en las áreas donde es más intensa la destrucción neuronal, es decir, en el hipocampo y las zonas adyacentes al lóbulo temporal, estructuras implicadas en la función de la memoria (12).

Las proteínas involucradas en las fosforilaciones son cinasas y fosfatasas, siendo la proteína cinasa 5 ciclin-dependiente (cdk5) y el activador neuronal p35 los que intervendrían en la vía mediante la cual el péptido β -amiloide provocaría la muerte neuronal en la enfermedad de Alzheimer. La cdk5 es una de las principales cinasas en fosforilar Tau, por lo cual también se le denomina cinasa Tau II (TPKII). La fosforilación anómala de Tau por cdk5 estimula modificaciones en GSK3b, principal cinasa involucrada en la fosforilación aberrante de esta proteína, implicada en la patología de EA.

2.3.2 Péptido β -amiloide (A β)

El péptido A β es el principal componente de los depósitos amiloides en el cerebro de pacientes con EA. Este péptido, es producto de la digestión proteolítica de la proteína precursora amiloide (APP), en donde la APP es catalizada secuencialmente por 2 proteínas, β - y γ - secretasas (que se encuentran ancladas a la membrana) con actividad de endoproteasas, generando un péptido de 36 a 43 aminoácidos (proceso conocido como vía amiloidogénica) (13).

APP es una proteína integral de membrana que consta de un dominio intramembrana, un extremo amino-terminal extracelular glicosilado de gran tamaño y un extremo carboxi-terminal intracelular de pequeño tamaño, en donde, según el aminoácido en donde actúen las secretasas, es el tipo de péptido que se generará (Figura 1). En cuanto a su función, esta proteína se ve involucrada en el transporte anterógrado neuronal, la exportación de hierro y en la regulación y reparación sináptica.

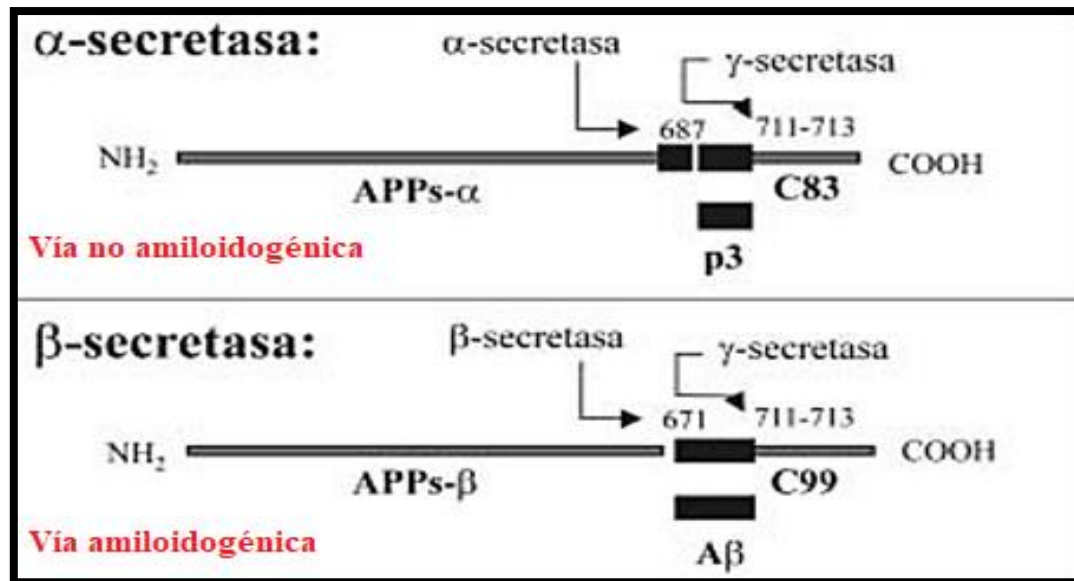


Figura 1. Sitios de corte aminoácidos de las enzimas involucradas en la producción de péptidos A β : α -secretasa (687), β -secretasa (671) y γ -secretasa (711-713). Extraída de Rommy von Bernhardt, 2005 (14).

El péptido A β se genera por 2 vías. Una es la vía no amiloidogénica, donde la enzima α -secretasa actúa sobre APP y escinde un fragmento sAPP α de la superficie celular, dejando un fragmento de APP C-terminal de 83 aminoácidos (C83). La producción de sAPP α aumenta en respuesta a la actividad eléctrica y la activación de los receptores muscarínicos de acetilcolina, lo que sugiere que la actividad neuronal aumenta la escisión de APP por la α -secretasa. Posteriormente, el fragmento C83 intramembrana puede ser escindido por la γ -secretasa, liberando el péptido P3 (3kDa) y el péptido A β (4kDa). Por otro lado, en la vía amiloidogénica actúa la enzima β -secretasa sobre el APP, liberando un fragmento soluble (el sAPP β) y el fragmento C-terminal (C99). Sobre este último fragmento actúa la γ -secretasa, formándose AICD y el péptido A β (A β ₄₀/A β ₄₂ son los principales péptidos secretados por esta vía) (Figura 2), a partir del cual se pueden formar oligómeros, agregados y placas seniles. La escisión por la γ -secretasa se produce dentro de la membrana celular, en los endosomas y en el aparato de Golgi, en un proceso conocido como proteólisis regulada intramembranosa (13).

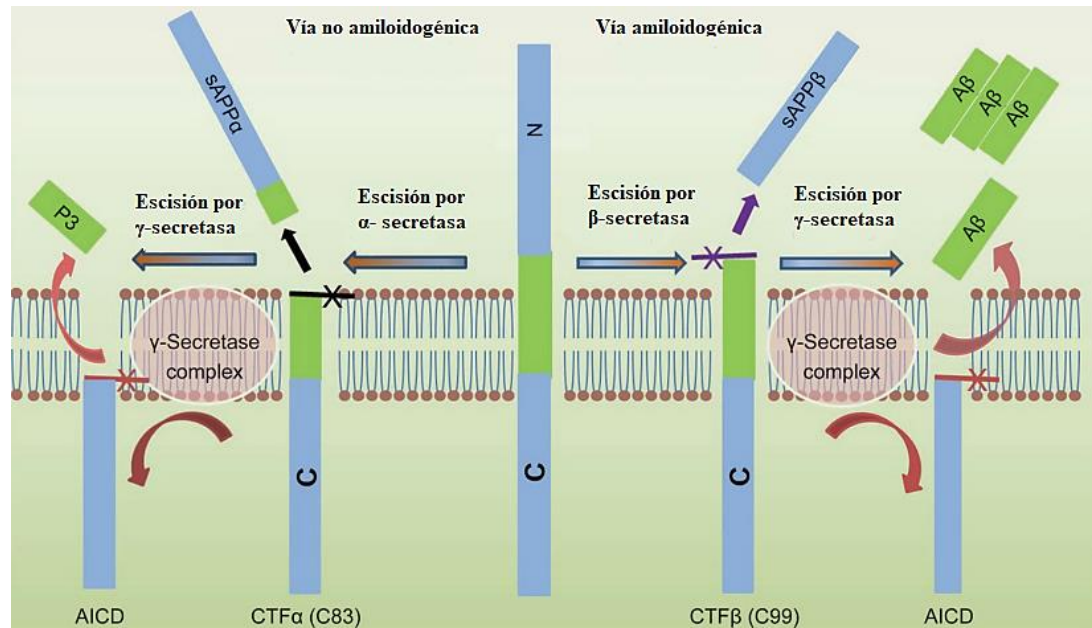


Figura 2. Vía no amiloidogénica y vía amiloidogénica de EA. En la vía no amiloidogénica, el precursor APP es catalizado por la α -secretasa formando el fragmento sAPP α y quedando un producto intramembrana que es CTF α (C83), sobre el cual puede actuar la γ -secretasa liberando un fragmento P3 y AICD. En la vía amiloidogénica, el precursor APP es catalizado por la β -secretasa liberando el fragmento sAPP β y el fragmento intramembrana CTF β (C99). Posteriormente actúa la γ -secretasa, liberando el péptido A β y el AICD. Modificado de CHEN, 2017.(15)

El péptido A β_{42} es más tóxico; forma agregados y placas seniles con mayor facilidad que el A β_{40} . Ambos se diferencian en la cantidad de aminoácidos y en sus propiedades fisicoquímicas. A β_{42} tiene mayor tendencia a polimerizar, formando oligómeros solubles. Se ha demostrado que la mezcla de péptidos A β causa rápidamente un aumento en los niveles de caspasa-3 con la inactivación funcional de las sinapsis en células neuronales e incluso mezclas de péptido A β_{38} con péptido A β_{40} aumentan su toxicidad considerablemente, siendo más tóxico que el péptido A β_{42} (16).

Fisiológicamente, la concentración de estos péptidos está regulada por enzimas degradadoras como la neprelisina (aspartail-proteasa), la enzima degradadora de insulina y la enzima convertidora de angiotensina I. Por lo tanto, el desequilibrio entre la formación y la eliminación de A β y su acumulación, desencadena una serie de eventos que producen disfunción sináptica, inflamación glial e hiperfosforilación que desencadenan con la muerte neuronal. Cuando la eliminación del A β soluble proveniente del cerebro fracasa, el principal efecto visible es la acumulación de A β insoluble como placas en el parénquima cerebral y en las paredes de los vasos sanguíneos como angiopatía amiloide cerebral.

Tradicionalmente se ha pensado que el A β depositado en el cerebro se origina sólo en el cerebro. Sin embargo, las plaquetas contribuyen en más de un 90% a la concentración de APP en circulación sanguínea. Estos fragmentos citoplasmáticos presentan isoformas de APP, siendo la APP770 y APP751 las predominantes en comparación con la isoforma APP695 presente en el tejido neuronal, que es casi indetectable en las plaquetas (17). Pueden procesar y secretar varias formas truncadas en el extremo carboxilo, generando distintos péptidos A β (A β ₁₋₃₇, A β ₁₋₃₈, A β ₁₋₃₉, A β ₁₋₄₀, A β ₁₋₄₂). A continuación, se describe brevemente las plaquetas y su proceso de activación.

2.3.3 Plaquetas

Las plaquetas son fragmentos de citoplasma con forma discoide de aproximadamente 0.5 x 3.0 μ m. Poseen una membrana plasmática, citoesqueleto, sistema de membrana interno (sistema canicular abierto y sistema tubular denso), mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, gránulos alfa y gránulos densos. Estos últimos tienen elevada importancia debido a que contienen factores que influyen en la coagulación. Su membrana plasmática está formada por

una doble capa fosfolípídica con una distribución asimétrica que se transforma por la activación celular, además, tiene importancia crítica en la fisiología de la hemostasia. Posee glicoproteínas que funcionan como receptores agonistas fisiológicos de la plaqueta (ADP, TXA2, trombina) y proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina, laminina, trombospondina, vitronectina, factor de von Willebrand [FWv])(18).

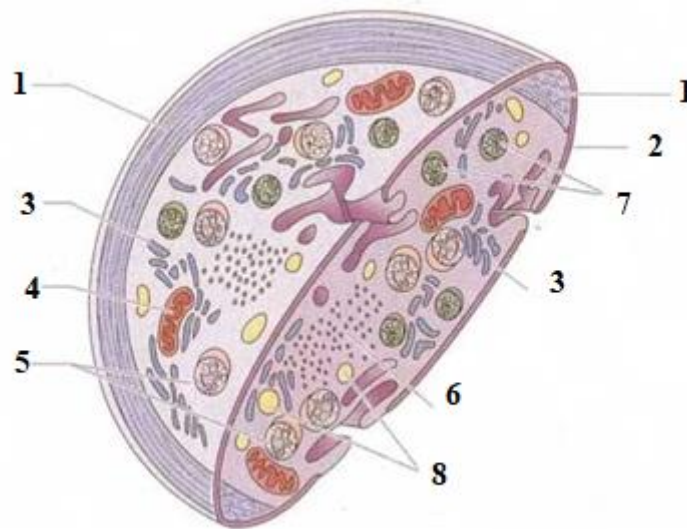


Figura 3. Estructura plaquetaria. (1) Microtúbulos, (2) Membrana plasmática, (3) Sistema tubular denso, (4) Mitocondria, (5) Gránulos alfa, (6) Glucógeno, (7) Gránulos delta, (8) Lisosomas. Modificada de Basualdo J, 2015 (19).

Por otro lado, la membrana permite la agregación y transformación plaquetaria, puesto que provee de una superficie esencial para la aceleración de la coagulación sanguínea (por sus fosfolípidos de membrana).

Cuando se produce la unión de los receptores plaquetarios con sus ligandos se activan cascadas bioquímicas de señalización intracelular por medio de segundos mensajeros, como las tirosinacinasas, el calcio, la fosfolipasa C, el fosfoinositol 3 cinasa y el AMP cíclico, entre otros, produciendo cuatro cambios principales en las plaquetas:

- 1) Reordenamiento del citoesqueleto de actina, produciendo aplanamiento de las plaquetas y prolongación de pseudópodos, para sellar el daño endotelial.
- 2) Activación de la fosfolipasa A2, lo que genera liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana, el cual se convierte en prostaglandinas y tromboxano A2 (TXA2), aumentando la vasoconstricción e induciendo el taponamiento local.
- 3) Liberación al plasma circundante del contenido de los gránulos intracelulares, los que se unen con el sistema canicular abierto de la membrana. Los gránulos densos liberan ADP y serotonina, los cuales actúan con los receptores de otras plaquetas circulantes, amplificando la activación y estimulando la agregación plaquetaria.
- 4) La activación plaquetaria aumenta la concentración de GPIIbIIIa en la membrana e induce cambios en su conformación, lo que permite su unión a fibrinógeno soluble y agregación de las plaquetas (20).

Además, cuando las plaquetas se activan, los fosfolípidos ubicados en el lado interno de la bicapa lipídica se mueven hacia la cara externa de esta bicapa lipídica. Ahora, esta superficie cargada negativamente proporciona sitios de unión para cofactores y enzimas de coagulación, mejorando la formación de coágulos sanguíneos hemostasia secundaria (21).

Como se mencionó anteriormente, la plaqueta contribuye en la concentración de péptido A β circulante debido a la presencia de APP en su membrana plasmática y en el espacio intracelular, además de poseer las secretasas que lo catalizan. Es por esto, que posee un sistema que lo regula en donde participa activamente la calpaína. A esto se le añade la presencia de microRNA que también estimulan la secreción de A β . A continuación, se describen estos procesos.

2.3.4 APP en la plaqueta

La APP plaquetaria se encuentra en la membrana plasmática, y es sintetizada por el precursor plaquetario en la médula ósea, por lo tanto, no es captado desde la circulación. La plaqueta contiene las enzimas necesarias (α -secretasa, β -secretasa, γ -secretasa) para producir los distintos productos catabólicos de la APP, los cuales pueden almacenarse dentro de los gránulos intracelulares (Tabla 1), pudiendo ocurrir este proceso en los organelos intracelulares como en la superficie plaquetaria. Los péptidos sAPP α y A β pueden almacenarse en gránulos α y liberarse mediante exocitosis tras la activación de las plaquetas por trombina o colágeno, que inducen la desgranulación dependiente de Ca²⁺ (17).

La forma principal de A β liberado por las plaquetas activadas es la A β ₄₀, siendo este el péptido que contribuye a los depósitos vasculares amiloides y su acumulación en el cerebro, puesto que cruza la barrera hematoencefálica.

Tabla 1. Gránulos intracelulares de las plaquetas: gránulos alfa y gránulos densos de las plaquetas con su correspondiente contenido.

Gránulos alfa	Gránulos densos
Factor plaquetario 4	ATP
β -tromboglulolina	ADP
Factor de crecimiento (PDGF)	Calcio
Fibrinógeno	Magnesio
FVw	Epinefrina
Trombospondina	Norepinefrina
Fibronectina	
P- Selectina	
Colagenasa	
Elastasa	
Inhibidores de proteasas	
Péptido A β	
APP α	

Extraído de García, M (2000) (18)

El TXA₂, la ciclooxigenasa 1 (COX-1) y fosfolipasa Cc2 (PLC_{c2}) son moléculas intermedias que participan en la producción del péptido A β y conducen a la activación de la calpaína para poder secretar el péptido A β (16).

2.3.5 Calpaína

La calpaína pertenece a la familia de las cisteínas proteasas citoplasmáticas no lisosómicas que se expresan de forma ubicua en las células de seres humanos. Estas desempeñan una variedad de funciones celulares reguladas por Ca^{2+} , que las activa y calpastatina (CAST) que las inhibe. Presenta dos isoformas principales: μ -calpain y m-calpaína, su nombre refleja su requerimiento de activación en μM y mM de Ca^{2+} .

El sistema regulador se tiende a deteriorar con el aumento de la edad, por lo que la activación descontrolada de la calpaína implica el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, como la EA. El estrés oxidativo y el aumento de la activación del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) producen entrada de Ca^{2+} intracelular, lo que hiperactiva estas enzimas. En condiciones celulares fisiológicas normales, la concentración de Ca^{2+} es inferior a $0.05 \mu\text{M}$, condición en la que las calpaínas actúan como un biomodulador para los procesos regulados por este catión, incluida, entre otras cosas, la transducción de señales, la proliferación celular, progresión del ciclo celular, diferenciación, apoptosis, aprendizaje y memoria (22).

Estudio han demostrado que la actividad de la calpaína sería modulada por la ruta cAMP / PKA, en donde al utilizar forskolina, ésta disminuía la actividad de la calpaína por un aumento de cAMP. Por lo tanto, el aumento del cAMP inhibe la actividad de la calpaína, siendo aún desconocido el mecanismo estructural que conduce a la inactivación de esta por la fosforilación de la PKA. Otro problema desconocido es el mecanismo principal por el cual se produce la secreción del péptido $\text{A}\beta$ en las plaquetas. La enzima BACE1 es fundamental para la escisión de la APP de la membrana (16) y se ha informado que los pacientes que

presentan EA expresan mayor actividad de esta enzima en comparación con los controles (23).

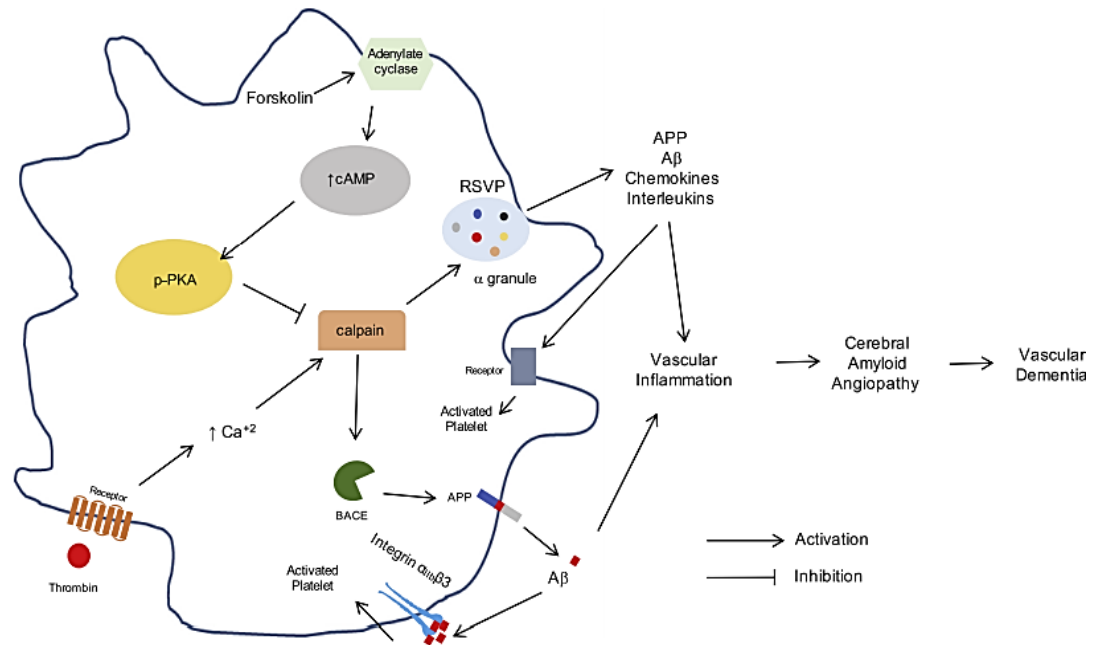


Figura 4. Mecanismo de activación de la vía cAMP / PKA en la regulación de la activación de calpaína y la secreción de A β en plaquetas humanas. La trombina produce aumento de calcio intracelular, lo que activa la calpaína generándose secreción de los gránulos alfa, APP, péptido A β , quimiocinas e interleucinas, las cuales producen activación plaquetaria e inflamación vascular, desencadenando una angiopatía cerebral amiloide. Por otro lado, la calpaína puede estimular las enzimas responsables del procesamiento de APP y por consiguiente liberar el péptido A β , que puede nuevamente activar la plaqueta y producir inflamación vascular. La forskoline produce un aumento en los niveles de cAMP con la consiguiente inhibición de la actividad de la calpaína, inhibiendo todos los procesos mencionados anteriormente. Modificado de C. Sepúlveda, 2019 (16).

Se produce un ciclo vicioso de activación plaquetaria y liberación de A β cuando este último es liberado a circulación, puesto que puede unirse a tres posibles receptores plaquetarios, como PAR 1 (receptor de trombina y activador de calpaína), integrina $\alpha\text{IIb}\beta$ y RAGE, que activan vías de señalización plaquetarias e inducen un aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular, lo que estimula la secreción de los gránulos alfa y los gránulos densos y por lo tanto, la secreción de péptido A β , el cual se acumula en los vasos cerebrales como placa amiloide, desempeñando un papel importante en la gravedad de la EA.

Tabla 2. Componentes de la membrana externa plaquetaria con su ligando y correspondientes funciones.

Integrina	Ligando	Funciones
GPIIb/IIIa	Fibrinógeno FWv Vitronectina Trombospondina	Principal receptor en la agregación plaquetaria y su función principal es unir fibrinógeno.
GPIb-IX-V	FVw	Receptor de unión de la superficie plaquetaria al subendotelio, mediante el factor FVw y la trombina. Es considerado el más importante de los receptores en la adhesión plaquetaria.
GPIa/IIa	Colágeno	Une colágeno.
GPIV	Trombospondina	Involucrado en la adhesión y agregación plaquetario. Receptor de colágeno tipo II y trombospondina.
GPVI	Colágeno	Es el receptor de colágeno más importante. Comprometido en eventos tempranos de la función plaquetaria. Participa en la activación y agregación. Es el receptor de colágeno más importante.
GPIc/IIa	Fibronectina	Une fibronectina.

Modificado de García, M (2000) y Bermejo, E (2017) (18, 24).

2.3.6 Secretasas plaquetarias

En contraste con las células de origen neuronal, que procesan predominantemente la APP a través de la vía de la β -secretasa, las plaquetas, al igual que otras células no neuronales, favorecen el procesamiento por la α -secretasa., por lo cual, la concentración de sAPP α en plaquetas es mucho más alta que el péptido A β . Por otro lado, estudios han observado que la actividad de esta α -secretasa no se correlaciona con la edad, sino que se mantiene constante toda la vida, en comparación con la actividad de la β -secretasa, que sí se incrementa (23). En la actualidad, no hay estudios que informen sobre la alteración de la actividad de la γ -secretasa en pacientes con AD.

2.3.7 microRNAs

Las plaquetas con la edad pueden adoptar un fenotipo caracterizado por una fuerte secreción de vesículas extracelulares que, a su vez, podrían representar alrededor del 70-90% de las vesículas que circulan en la sangre. Es interesante que estas vesículas extracelulares están cargadas con ARN mensajeros y microRNA (miRNA) que pueden tener un profundo impacto en la fisiología de las proteínas a nivel de los sistemas.

Los miARN no codifican proteínas, pero participan en la regulación postranscripcional de la expresión génica. La molécula madura deriva del procesamiento que se inicia en el núcleo de la célula y termina en el citoplasma, donde realizan su función. Son transcritos por la RNA polimerasa II, que produce una larga molécula de RNA que puede ser

de hasta un kilo base, conocida con el nombre de microRNA primario (pri-RNA). Ésta forma una estructura en “hairpin-stem-loop” (horquilla-tallo-bucle), la cual es cortada en el núcleo por la endonucleasa RNAsa III –conocida con el nombre de Drosha–, que está asociada con la proteína DGCR8 (en mamíferos). Drosha corta de forma asimétrica ambas cadenas en los sitios cercanos a la base de la estructura primaria en forma de horquilla, generando un producto de 60-70 nucleótidos denominado pre-microRNA.

El pre-microRNA es exportado al citoplasma de forma activa a través del complejo dependiente de RAN-GTP, exportina. En el citoplasma, la molécula de GTP es hidrolizada a GDP y el pre-microRNA es liberado del complejo exportador. Una vez en el citoplasma, esta molécula es cortada por la endonucleasa RNAsa III conocida como Dicer, asociada a las proteínas TRBP y PACT en mamíferos, dando lugar a una molécula de doble cadena conocida como microRNA dúplex. Al separarse las dos cadenas, una de ellas da lugar al microRNA maduro que se incorporará al complejo ribonucleoproteico conocido como “complejo de silenciamiento de RNA” (RISC, del inglés RNA induced silencing complex), que es la maquinaria catalítica responsable de la degradación del RNAm blanco y/o de la inhibición de la traducción (25).

Se ha propuesto que los pre-microRNA o los microRNA maduros se unen a los cuerpos multivesiculares (MVB, del inglés multivesicular bodies) para ser incorporados a vesículas de exocitosis que, al unirse a la membrana, liberan a los MVB para ser endocitados por otras células o liberar su contenido al espacio extracelular, de donde pueden incorporarse al torrente sanguíneo (25).

Se sabe que numerosos miRNAs participan en el desarrollo y producción de megacariocitos y, en última instancia, de plaquetas. Las plaquetas tienen una maquinaria de miARN totalmente funcional y muestran su propio repertorio de miARN, siendo miR-142-3p, miR-223, miR-126 y miR-26 los miRNA más expresados en las plaquetas (25).

Estos estudios llevan a la idea de que las plaquetas pueden representar una de las fuentes más ricas de miRNAs humanos. Además, se ha encontrado que algunos de estos y otros miARN son importantes para la producción, reactividad, agregación, secreción o adhesión de plaquetas; particularmente miR-21, miR-34a, miR-96, miR-126, miR-146a, miR-150, miR-155, miR-200b y miR-223; el último es excepcionalmente relevante para la transición de los megacariocitos a las plaquetas y para el funcionamiento de las plaquetas.

La vía amiloidogénica también está regulada postranscripcionalmente por miRNAs en varios niveles. Cabe mencionar que el fibrinógeno (FGF), proteína que participa en la coagulación y que contribuye a la deposición de A β , está regulado por miR-144-3p y miRNA, moléculas que se encuentran en las vesículas extracelulares plaquetarias. De la misma manera, BACE1, la enzima responsable de la escisión de la β -secretasa de APP, está regulada por miR-9, miR-29a / b-1, miR-124, miR-195, miR-285, miR-298 entre otros. Finalmente, la APP también está estrechamente regulada por algunos miARN relacionados con las plaquetas, como let-7i, miR-16, miR-20a, miR-101, miR-106a / b, y miR-155.

Por otro lado, se ha relacionado la actividad de la monoaminoxidasa (MAO) plaquetaria con la concentración de serotonina, puesto que esta enzima actúa en el metabolismo de este neurotransmisor, evidenciándose una mayor actividad de la MAO en pacientes con EA, que presentaban menor concentración de serotonina.

2.3.8 Serotonina

Existen varios estudios que han reportado anomalías en el contenido celular de la serotonina, como también, alteraciones en su captación en regiones del cerebro de pacientes con EA. Si bien algunos trabajos no pudieron detectar ninguna alteración en el nivel de esta molécula en pacientes con AD en comparación con los controles, otros documentaron una reducción en la captación de serotonina en las plaquetas con EA. Por otro lado, se ha detectado una concentración significativamente menor de serotonina en plaquetas de pacientes con EA en fase tardía, lo que se podría relacionar con una reducción en la captación de serotonina (17).

2.3.9 Actividad de la monoaminoxidasa

Se han documentado distintos resultados en relación con la actividad de la MAO-B. Esta MAO-B es una isoforma de las monoaminoxidasas presente en plaquetas y neuronas, mientras que la MAO-A se encuentra en la membrana mitocondrial de las neuronas en conjunto con la MAO-B. Estas enzimas catalizan la serotonina produciendo su inactivación al formar ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en un proceso de dos etapas. La MAO-A metaboliza preferentemente la serotonina (5-HT) y a la noradrenalina, y la MAO-B a la feniletilamina y la benzilamina (26).

Estudios informaron una mayor actividad de la MAO-B en plaquetas y en el cerebro con EA, mientras que otros informes no reportaron ninguna alteración de la actividad de esta

enzima en comparación con los controles. Otras investigaciones indicaron que la actividad de esta monoaminoxidasa podría usarse como biomarcador para determinar la presencia de características psicóticas en la EA, y para definir esta enfermedad en un inicio temprano o tardío (17).

Por otro lado, se ha relacionado la actividad de la MAO-B con la concentración de la serotonina, siendo esta última significativamente menor en pacientes en fase tardía de EA en comparación con otras fases de la enfermedad o en controles sanos. Además, investigaciones han encontrado una correlación positiva entre las puntuaciones del MMSE y la actividad de la MAO-B plaquetaria en la EA, lo que indica que los síntomas más graves se asocian con una menor actividad de la enzima (17).

2.3.10 Ciclooxygenasa

Los datos actuales sugieren que la proteína quinasa C, junto con la actividad de PI3K y Ca^{2+} son cruciales en la escisión y secreción de APP en plaquetas humanas, mientras que la ciclooxigenasa (COX) tiene una función menor en este proceso. Por el contrario, la liberación de $\text{A}\beta$ es totalmente independiente de la actividad de PKC y COX, siendo responsabilidad del Ca^{2+} la liberación del péptido $\text{A}\beta$.

La ciclooxigenasa es una enzima clave en la síntesis de las prostaglandinas, a través de la oxidación del ácido araquidónico. La COX-1 desempeña un papel importante en la síntesis de los prostanoides para propósitos fisiológicos y regula funciones como la

protección gastrointestinal, la homeostasis vascular, la hemodinámica renal y la función plaquetaria. En la célula, generalmente se encuentra en el citoplasma o cerca del retículo endoplásmico. Aunque esta enzima se expresa constitutivamente en muchos tejidos, sus valores cambian durante el desarrollo. Su estructura presenta dos dominios, el que se une a las membranas está constituido por cuatro hélices que forman un canal que permite la entrada del ácido araquidónico de la membrana al lugar con actividad enzimática. En esta región hay dos lugares activos, uno que cataliza la ciclooxigenación y otro la peroxidación (27).

Las plaquetas activadas presentan casi de forma exclusiva COX-1, la isoenzima COX-2 es casi indetectable en la mayoría de los tejidos, pero puede ser inducida rápidamente por estímulos proinflamatorios o mitogénicos, por lo que existe evidencia de que elevadas concentraciones de citoquinas circulantes pueden aumentar la concentración de COX-2 en megacariocitos, con un consiguiente aumento en plaquetas, situación que se presenta en pacientes con EA (17). Esta COX-2 se encuentra principalmente en la región perinuclear y en la membrana nuclear. Estructuralmente, ambas isoformas son parecidas, pero el sitio de unión para el ácido araquidónico es diferente. La COX-2 presenta un canal más amplio, que le permite el acceso a AINE de gran tamaño que no penetrarían en el canal de la COX-1. Su estructura tridimensional consta de tres unidades independientes: una similar al factor de crecimiento epidérmico 2, otra en la membrana y otra en la que contiene los dominios enzimáticos (27).

2.3.11 Óxido nítrico sintasa y generación de radicales libres

Varios estudios han documentado un aumento de la producción de óxido nítrico (NO) y anión superóxido (ONNO-) en plaquetas obtenidas de pacientes con EA, lo cual se asoció

a una disminución de la actividad de Na^+/K^+ ATPasa en la membrana de estos fragmentos citoplasmáticos. Por otro lado, un estudio diferente evidenció un aumento significativo de la actividad de óxido nítrico sintasa (NOS) en pacientes con EA, en comparación a controles jóvenes y ancianos. En una investigación realizada en pacientes con EA leve y moderada, se encontró que la agregación plaquetaria estaba potenciada, proceso paralelo a una disminución de la actividad de NOS constitutiva endotelial, lo que causaría una reducción de NO en las plaquetas. Se propuso que esta disminución era la responsable del aumento de la agregación plaquetaria, ya que el óxido nítrico es inhibidor de este proceso. Sin embargo, esta evidencia es contradictoria a lo que se ha documentado sobre el aumento de la concentración de NO y la actividad de NOS en la EA en relación con los controles, por lo tanto, se necesitan más investigaciones para determinar este sistema (17).

Este proceso de estrés oxidativo se ve implicado en el envejecimiento celular como en la patogénesis de varios trastornos neurodegenerativos.

2.3.12 Envejecimiento celular

El efecto de la edad en la función de las plaquetas aún no se ha aclarado por completo. Los cambios en el número y la función de las plaquetas se han relacionado en gran medida con el envejecimiento. Se ha informado que el recuento de plaquetas permanece relativamente estable en personas menores de 60 años, pero disminuye después de esa edad, disminuyendo en alrededor de un 8%, aproximadamente 20,000 plaquetas / μl (28)

Vale la pena señalar que el aumento en la activación de las plaquetas es un reflejo del entorno circundante, por ejemplo, la activación endotelial aumenta la función de las plaquetas y puede terminar en trombosis (29). Esta situación aumenta con la edad, debido a una alteración en la función mitocondrial, entre las que se encuentra la vía mTOR y alteraciones en los niveles de ácidos grasos y glucosa (30).

Los cambios en el tono redox asociados con el envejecimiento contribuyen a la activación de las plaquetas y podrían estar relacionados con una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (31). El aumento de ROS es responsable de la activación de vías de señalización, como la p38 MAP quinasa, que predispone a las plaquetas a una activación adicional que resulta en un aumento del estado protrombótico (32).

Además, diferentes autores han mostrado muchas alteraciones en las plaquetas con respecto al envejecimiento, tales como variaciones en las actividades de las proteínas serina / treonina quinasa, transductores de señales, ubiquitina-proteína ligasas y GTPasas, así como en el transporte de vesículas y la organización del citoesqueleto (33).

3. ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

La Esclerosis Lateral Amiotrófica es un desorden neurodegenerativo sin cura conocida. Causa debilidad muscular, discapacidad y eventualmente conduce a la muerte. Se caracteriza por presentarse degeneración progresiva de las neuronas motoras de la corteza

cerebral, tallo cerebral y médula espinal afectando el movimiento de los músculos voluntarios superiores e inferiores (34).

Esta enfermedad tiene un curso implacablemente progresivo que conduce a la muerte habitualmente por insuficiencia respiratoria en un plazo de 2 a 5 años tras el diagnóstico. Se produce una debilidad de la musculatura voluntaria que avanza hasta la parálisis, extendiéndose de unas regiones corporales a otras. Amenaza la autonomía motora, la comunicación oral, la deglución y la respiración, aunque se mantienen intactos los sentidos, el intelecto y los músculos de los ojos.

3.1 Epidemiología

Esta enfermedad tiene una incidencia de 1-5 casos por 100.000 habitantes, predominando en la quinta y séptima décadas de la vida; iniciando entre los 50-59 años, teniendo su pico máximo a los 75 años, y disminuyendo a partir de los 80 años o más. Es la tercera enfermedad neurodegenerativa más prevalente y su evolución es progresiva, de 2 a 6 años, con una supervivencia media de 1 a 3 años. Del 5-10% de los casos tiene un carácter familiar, con una herencia autosómica dominante; el resto (90%) corresponde a la forma esporádica. La evolución de la forma bulbar es el tipo más maligno. Se han descrito focos endémicos de mayor prevalencia en el Pacífico Occidental (Guam, Nueva Guinea Papúa), donde la prevalencia es 50 veces mayor que la mundial (35).

3.2 Factores de riesgo

Al ser una enfermedad neurodegenerativa, la edad es el factor de riesgo principal. Siendo el grupo riesgo entre los 50-59 años. Sin embargo, puede presentarse a cualquier edad. Las personas de raza blanca y etnias no hispanas tienen mayor probabilidad de desarrollar ELA. Tener un familiar con esta patología aumenta la probabilidad de expresar la enfermedad. Por otro lado, se describen factores externos como la exposición a tóxicos (plomo, mercurio, arsénico, manganeso) (35).

3.3 Etiopatogenia

Actualmente, esta patología se clasifica en familiar (ELAF) y esporádicas (ELAS). En ambas se produce un proceso neurodegenerativo que lleva a la muerte de las neuronas motoras. Los mecanismos que inician la enfermedad parecen reflejar una interacción entre factores genéticos, ambientales y la edad. Se han realizado estudios sobre el rol de factores como infecciones virales, exposición a insecticidas, tabaquismo, metabolismo del hierro y transporte del glutamato, sin poder precisarlo hasta el momento (36). Sin embargo, en pacientes con enfermedades autoinmunes con anticuerpos anti-canales de voltaje de calcio también han desencadenado en una degeneración de neuronas motoras (35).

Las ELAF son de origen genético y se heredan de forma autosómica dominante. Existe otro tipo de ELA familiar recesiva o forma tunecina, que tiene este nombre porque

esta solo descrita en familias de origen tunecino y es de herencia autosómica recesiva. Es muy poco frecuente.

Se conocen varios genes que están relacionados con la ELA:

- SOD1m: Es la forma mutada de la Superóxido dismutasa de Cobre/Zinc (SOD1), la principal enzima antioxidante neuronal que cataliza la eliminación de radicales. Una alteración en la actividad de la SOD1 causaría un aumento de radicales de oxígeno libre (ROS) conduciendo al estrés oxidativo con el consiguiente daño celular que produce la muerte de la neurona. Ha sido identificada en un 13% de los casos de ELA familiar y un 1% en ELA esporádica.

- TDP-43: Las mutaciones en el gen que produce la TDP-43 pueden causar que esta proteína se acumule en las células. La acumulación de TDP-43 en el interior de las neuronas motoras puede alcanzar niveles tóxicos, unirse al ARN y alterar sus funciones.

- VCP, CHMPB, DCTN1: genes relacionados con la autofagia: proceso celular que se encarga de la degradación y reciclaje de componentes celulares. Se han visto implicados en varios casos de ELA familiar(37).

Dentro de los factores bioquímicos se encuentran:

- Excitotoxicidad por glutamato: el glutamato es el principal neurotransmisor excitador dentro del sistema nervioso, activa receptores de la neurona motora produciendo una alteración mitocondrial y estrés oxidativo, que se pueden combinar en un círculo vicioso que culmina finalmente con la muerte de la neurona motora.

- Alteración de función de las mitocondrias: son los orgánulos celulares responsables del mantenimiento energético tanto de la neurona como del músculo, así como de la producción de la señal que precede a la muerte neuronal programada (apoptosis). En los estudios post-mortem de pacientes con ELA se han encontrado moléculas relacionadas con apoptosis (caspasas) en las neuronas motoras.

-Alteración del citoesqueleto neuronal: En los estudios post-mortem de pacientes con ELA se han encontrado cuerpos de inclusión, acúmulo de neurofilamentos y balonamientos axonales, apoyando la hipótesis de que hay una alteración en el transporte axonal involucrada en la ELA.

-Alteración de células gliales: astrocitos y microglía, que rodean las neuronas motoras: este mecanismo puede explicar el proceso por el cual la degeneración de neurona motora comienza focalmente pero gradualmente se extiende a grupos contiguos de neuronas motoras. La interacción entre neuronas motoras y células gliales es importante en la evolución progresiva y puede contribuir a la desaparición de las primeras (37).

La neuroinflamación, la permeabilización de los linfocitos y la activación de las células microglías es otro mecanismo importante. Se ha detectado en los pacientes con ELA una elevación de la interleuquina (IL) pro-inflamatoria IL-18 en el líquido cefalorraquídeo. Esta IL es producida por las células dendríticas estimuladas por el factor activador de plaquetas (PAF), importante mediador de la neuroinflamación, el cual sugiere que la sobreexpresión de su receptor en las células dendríticas tendría un importante rol en la patogenia de la enfermedad y la inhibición de este aumentaría la viabilidad celular neuronal, disminuyendo el déficit neurológico (38). Por otra parte, se ha evidenciado mayor activación de las plaquetas en pacientes con ELA, presentándose variaciones morfológicas y mitocondriales, en conjunto con una mayor actividad de la enzima glutamina sintetasa, que actúa en la excitotoxicidad por el glutamato.

3.3.1 Factor activador de plaquetas

El PAF es un potente activador de fosfolípidos y mediador de varias funciones de leucocitos, agregación y desgranulación de plaquetas, inflamación y anafilaxis. También está involucrado en cambios en la quimiotaxis de los leucocitos, la permeabilidad vascular, el estallido oxidativo y el aumento del metabolismo del ácido araquidónico en los fagocitos. Los niveles altos de PAF están asociados con una variedad de afecciones médicas que incluyen: reacciones alérgicas, esclerosis múltiple, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, colitis, inflamación del intestino grueso y sepsis (39).

Es producido por varios tipos de células, especialmente aquellas involucradas en la inmunidad del huésped, como plaquetas, macrófagos, neutrófilos, monocitos y células endoteliales. Se expresa de forma constitutiva en bajos niveles por las células previamente

mencionadas y su síntesis se controlada mediante la actividad de las acetilhidrolasas de PAF o por medio de la síntesis de novo por la fosfocolintransferasa (PAF-PCT). Es producido en grandes cantidades por células inflamatorias en respuesta a estímulos, actuando sobre su receptor específico PAFR, expresado en células dendríticas maduras e inmaduras derivadas de los monocitos (39).

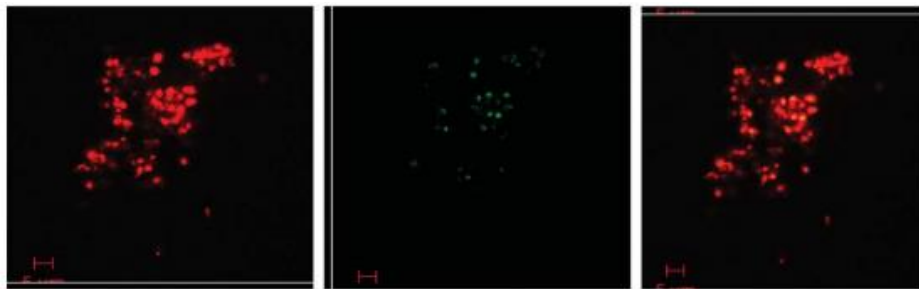
En un estudio realizado en células de neuroblastoma humano en donde se probó un antagonista de PAFR, se evidenció aumento de la viabilidad celular en comparación con el control (40). Un modelo de ratones knockout para PAFR utilizado en un experimento transitorio de isquemia cerebral global y reperfusión mostró que la falta de PAFR mejora los déficits neurológicos y disminuye el porcentaje de cavidades necróticas (41). Aunque el PAF ya se ha estudiado en otras enfermedades neuronales, se sabe poco sobre el efecto del PAF en la ELA.

3.3.2 Variaciones plaquetarias y mitocondriales plaquetarias

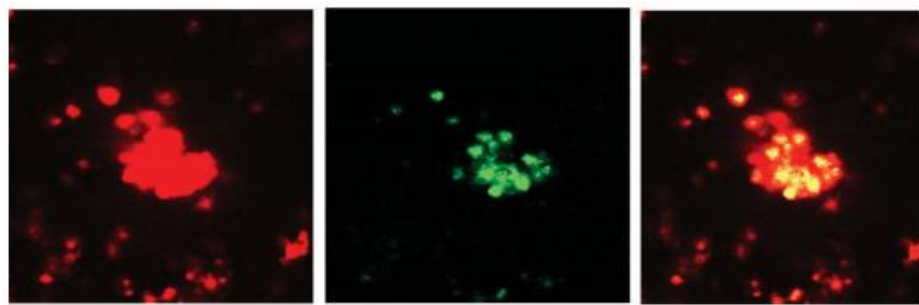
Existe un estudio que evaluó la disfunción mitocondrial en las plaquetas de ELA en términos de permeabilidad y alteraciones de potencial de membrana mitocondrial (MMP), utilizando una distribución heterogénea de JC-1 (un tinte fluorescente catiónico dual), en donde se visualizaron plaquetas marcadas con rojo de mitotracker por la exposición de un residuo de fosfatidil serina (sello de apoptosis). Se observó que las plaquetas se encontraban más agregadas en comparación con los controles, lo que indicaba activación plaquetaria. (Figura 4). Además, se estudiaron cambios ultraestructurales de las plaquetas y las mitocondrias plaquetarias (Figura 5 y 6).



A) Fluorescencia roja Fluorescencia verde Superposición (amarillo)



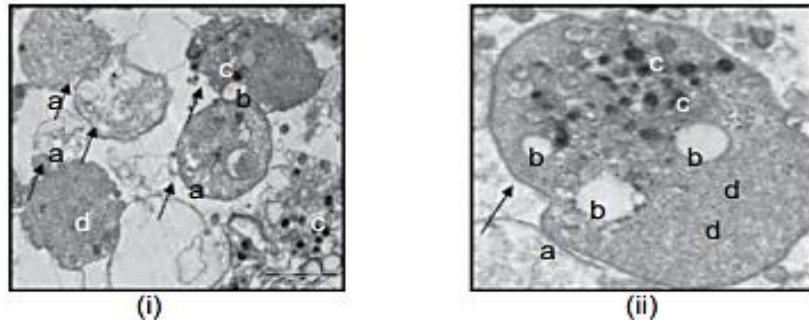
B) Fluorescencia roja Fluorescencia verde Superposición (amarillo)



C) Fluorescencia roja Fluorescencia verde Superposición (amarillo)

Figura 5. Plaquetas ELA marcadas con JC-1. (A – C, imágenes divididas que muestran plaquetas JC-1 utilizando microscopía confocal). Las plaquetas de ALS se marcaron heterogéneamente con colorante JC-1 y mostraron fluorescencia roja (potencial de membrana alto con mitocondrias polarizadas), fluorescencia verde (potencial de membrana bajo con mitocondria despolarizada) y superposición amarilla (producto simultáneo de rojo y verde). También se muestra un mayor patrón de agregación y acumulación en las plaquetas de ELA en comparación con las plaquetas de control. (A) Plaquetas de control (53 / M); (B) plaquetas de paciente joven (25 / M); (C) Plaquetas de paciente antiguo (68 / M). Modificado de Behari, 2013 (42).

A) Controles



B) Plaquetas de ELA

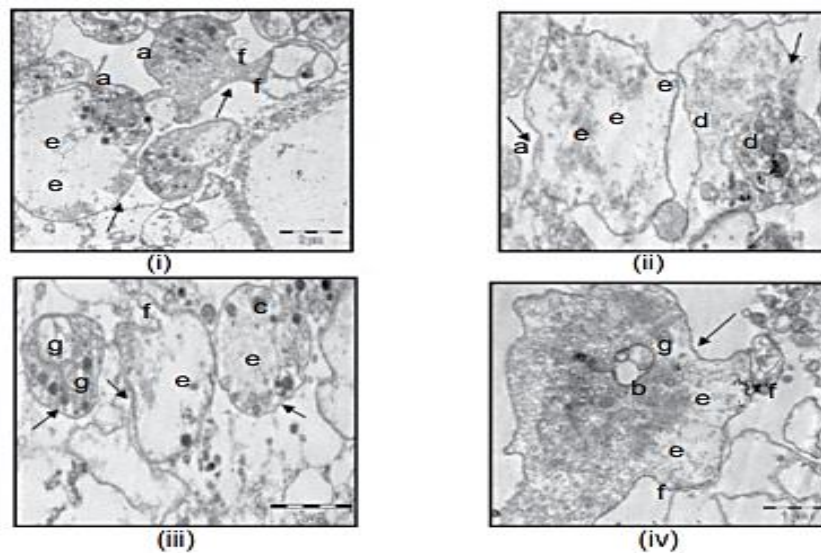
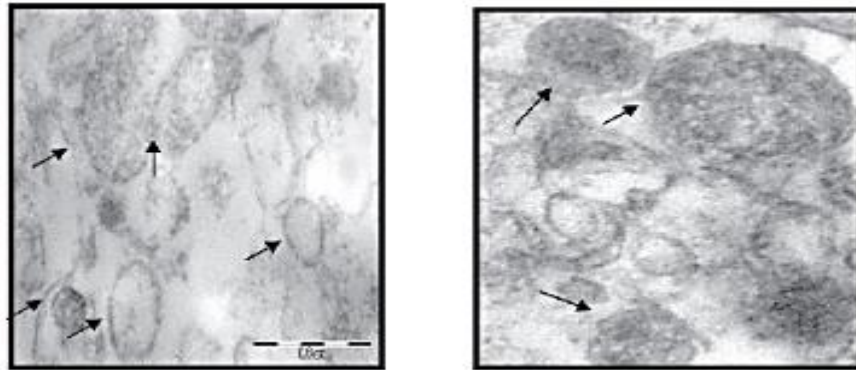


Figura 6. Variaciones en la ultraestructura de las plaquetas, en controles y pacientes con ELA. Observación mediante microscopía electrónica de transmisión. (i) Las plaquetas en los controles conservaron la forma discoidal o redonda y mostraron una densidad similar, distribución uniforme de gránulos citoplásmicos densos, sin desgranulación, membrana celular intacta y demarcada sin ninguna ampolla y pseudopodio. (ii) Una plaqueta de control enfocada única a 3500 \times . (B) (i, ii, y iii) Se observaron plaquetas en pacientes con ELA con pérdida de morfología (forma irregular), distribución no uniforme y dispersa de gránulos citoplásmicos densos, formación de ampollas/pseudopodios prominentes, formación de vacuolar evidente, membrana celular degenerativa con floja demarcación, y desgranulación pronunciada que deja las plaquetas ALS vacías. (B) (iv) Una sola plaqueta ALS enfocada a 3500 \times . a, morfología de las plaquetas; b, sistema canalicular y tubular abierto; c, patrón denso de electrones; d, densidad granular; e, desgranulación; f, ampollas y formación de pseudópodos; g, vacuolación; Flecha, demarcación de la membrana celular. Modificada de Shrivastava, 2011 (43).

A) Controles



B) Pacientes con ELA

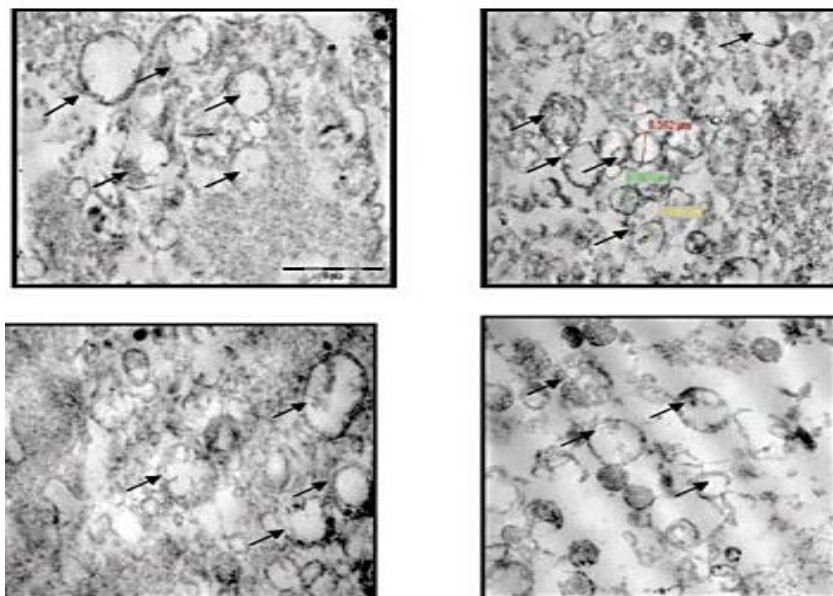


Figura 7. Variaciones ultraestructurales en mitocondrias plaquetarias. Se observan variaciones de la ultraestructura en las mitocondrias plaquetarias de los controles y pacientes con ELA examinados por microscopía electrónica de transmisión. (A) Las mitocondrias plaquetarias en los controles se observaron principalmente de forma alargada u ovalada, crestas claras, pocos cuerpos lisosomales y matriz oscura con gránulos intramitocondriales. (B) Las mitocondrias plaquetarias en pacientes con ELA estaban hinchadas y redondas, con pocas y débiles crestas, más cuerpos lisosómicos y matriz pálida y parcheada con pocos gránulos intramitocondriales. Las flechas indican mitocondrias (alargadas u ovaladas en los controles e hinchadas y redondas en los pacientes). Modificada de Shrivastava, 2011 (43).

3.3.3 Glutamato

Se ha encontrado un aumento de la glutamina sintetasa, pero una expresión normal de EAAT2 (transportador de glutamato glial) en las plaquetas de los pacientes con ELA, lo que implica la excitotoxicidad del glutamato en esta enfermedad.

El glutamato es el principal neurotransmisor (NT) excitador en el SNC. La concentración de glutamato en la hendidura sináptica se controla estrechamente mediante la interacción entre la liberación de glutamato y el aclaramiento de glutamato. La liberación anormal de este NT y/o la disfunción de su aclaramiento pueden causar una sobreestimulación de sus receptores y provocar una lesión neuronal conocida como excitotoxicidad. El EAAT2 desempeña un papel importante en su eliminación y la disfunción o expresión reducida de se ha documentado en muchas enfermedades neurodegenerativas (incluyendo la ELA). Además, muchos estudios en modelos animales de enfermedades indican que una mayor expresión de EAAT2 proporciona protección neuronal (44).

4. ENFERMEDAD DE PARKINSON

La Enfermedad de Parkinson es un proceso neurodegenerativo progresivo, en el cual, la lesión fundamental recae en la parte compacta de la sustancia negra (SN) que forma parte de los ganglios basales (GB). Es una enfermedad crónica y progresiva que causa una pérdida paulatina de la capacidad física y mental, hasta llegar a la discapacidad total. Se caracteriza por síntomas como la bradicinesia (movimiento lento), temblor en reposo y rigidez. La

mayoría de los pacientes de Parkinson se encuentran en situación de doble vulnerabilidad: vejez y discapacidad (45).

4.1 Epidemiología

En Chile, el 2013 se estudió la tendencia de la tasa de mortalidad por EP según rango de edad y sexo, durante el período 1997-2008, obteniéndose los datos de información demográfica de mortalidad del Ministerio de Salud, a partir de certificados de defunción. Los resultados del estudio revelaron que la tasa de mortalidad cruda observada (por 100.000 habitantes) en la población general mostró un crecimiento significativo en el período, aumentando desde 0,79 en 1997 hasta 3,0 en 2008, mientras que la tasa ajustada por edad aumentó de 3,1 a 11,0. El reporte de mortalidad por EP demostró un predominio en hombre, siendo su tasa promedio por 100.000 habitantes 7,3% más frecuente comparada con mujeres. Se asoció una mayor mortalidad con un aumento en la edad de la población con EP, alcanzando tasas hasta de 100 por 1000 habitantes en personas mayores de 80 años.

4.2 Factores de Riesgo

Al igual que otras enfermedades neurodegenerativas, el envejecimiento es el principal factor de riesgo de la EP, aunque el 10% de las personas con la enfermedad son menores de 45 años. Por otra parte, estudios señalan que la incidencia parece disminuir a partir de los 90 años, lo que podría estar relacionado con el infradiagnóstico, por la normalización de manifestaciones clínicas de la enfermedad como la lentitud y rigidez (46).

El trastorno conductual del sueño REM y las enfermedades de salud mental aumentan el riesgo de la enfermedad de Parkinson, pero también pueden representar estadios preclínicos de la enfermedad motora.

Los factores de riesgo que se encuentran más estudiados son los de tipo genético. En la enfermedad de Parkinson, hasta el año 2010 se habían relacionado 11 genes y 3 locus con el riesgo de desarrollar la enfermedad, con un patrón autosómico dominante y autosómico recesivo, y se encuentra frecuentemente relacionados con el inicio temprano de la enfermedad (46).

Si bien la EP es mayoritariamente una enfermedad esporádica asociada al envejecimiento, también se han encontrado mutaciones responsables de un cierto número de casos en los genes que codifican para la α -sinucleína, la parkina y el DJ-1 o Nurr-1, entre otros, que propician el desarrollo de la enfermedad (47). Además, se han detectado algunas mutaciones en el DNA mitocondrial que también podrían estar relacionadas con la aparición de la EP en algunos casos (48).

4.3 Etiopatogenia

Los GB tienen como función el mantenimiento de la postura del cuerpo y de las extremidades, la producción de movimientos espontáneos (como parpadeo) y automáticos, que acompañan a un acto motor voluntario (como el balanceo de brazos al andar). Mientras

más tardía es la aparición de la enfermedad, más benigno será el curso evolutivo de la misma (49).

La causa es desconocida, aunque probablemente multifactorial, siendo los principales factores etiológicos de naturaleza genética y ambiental.

La EP produce una pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas del sistema nigroestriado, con despigmentación y consecuente gliosis, que se asocia con la presencia de cuerpos de inclusión intracelulares denominados cuerpos de Lewy (agregados enriquecidos de la proteína α -sinucleína), a la disfunción del sistema proteosomal, estrés oxidativo y a la actividad reducida de las enzimas mitocondriales. El déficit de enzimas antioxidantes por estrés oxidativo se ve implicado en células de sangre periférica, incluyendo glóbulos rojos y plaquetas.

La degeneración axonal de las células nigricas en el estriado explica la disminución de la Dopamina (DA) en el estriado y la alteración en la transmisión dopaminérgica. Se cree que una de las causas que conducen a una degeneración preferente de las neuronas dopaminérgicas es que el metabolismo de dicho neurotransmisor conlleva a la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual acentúa el estrés oxidativo en esta población. Es importante mencionar que las ERO están relacionadas con la hiperactivación plaquetaria, y por lo tanto, con un aumento de los componentes liberados en la secreción plaquetaria que están relacionados con las END (45).

Los estudios asociados al rol plaquetario en esta patología se asocian a alteraciones vasculares, en particular la angiogénesis, el cual podría ser un posible mecanismo involucrado en la patogenia. Los pericitos son uno de los actores clave en la angiogénesis y en la integridad de la barrera hematoencefálica. También contribuyen a la homeostasis local, segregan factores de crecimiento y moléculas inflamatorias. Es importante destacar que estos expresan factor de crecimiento derivado de plaquetas y su correspondiente receptor, los cuales son necesarios para estabilizar los vasos sanguíneos recién formados. Este proceso tiene un efecto neuroprotector en neuronas dopaminérgicas con pérdida progresiva y se ha demostrado que restaura la vía nigrostriatal en diferentes modelos de EP con lesión parcial *in vivo* (50).

Por otro lado, existen hallazgos en la literatura de que al utilizar MPTP (1-metil-4-fenil-1, 2,3,6-tetrahidropiridina) este sería metabolizado por la MAO-B plaquetaria a MPP+ (agente neurotóxico que afecta las neuronas dopaminérgicas), el que produciría alteraciones estructurales en las plaquetas, agotamiento del ATP y la agregación plaquetaria. Este metabolito al atravesar la barrera hematoencefálica inhibe el complejo I de la cadena transportadora de electrones mitocondrial, lo que produce degeneración neuronal (45).

Las monoaminoxidasa son una familia de enzimas que pertenecen a las oxidoreductasas de amina que contienen flavina y que catalizan el oxidante de las monoaminas. En las mitocondrias están unidas a la membrana externa en la mayoría de las células en el cuerpo. El oxígeno se usa con frecuencia para eliminar las aminas de varias moléculas por la acción de la MAO que produce diferentes grupos, como el aldehído y el amoníaco. La capacidad enzimática de la MAO degrada los neurotransmisores de amina, como la dopamina, la norepinefrina y la serotonina (21).

Los miRNAs son cruciales en la regulación de las vías de señalización redox asociadas con varios procesos patológicos relacionados con la EP, como la disfunción mitocondrial, la agregación de α -sinucleína (α -Syn) y la neuroinflamación. Por ejemplo, el cerebro contiene alta concentración de miR-7 y miR-153, los cuales desempeñan funciones importantes en la regulación de la expresión de α -Syn provocado por la acción mediada de ROS mitocondrial, ambos miRNAs pueden regular de forma sinérgica la expresión de α -syn y pueden asociarse con la forma familiar de la EP mediante la desregulación del gen de la quinasa 2 (LRRK2) de repetición rica en leucina. Se ha demostrado que miR-34b y miR-34c alteran la función mitocondrial en las células neuronales a través de la inhibición de la proteína deglicasa (DJ1, también conocida como PARK7), una proteína sensible a la redox que desencadena la activación de las defensas antioxidantes a través del Nrf2 (21).

Por otra parte, la reducción de la captación de glutamato y el aumento del nivel de este mismo, también se observó en las plaquetas de los pacientes con EP idiopática.

La agranulocitosis inducida por fármacos y la asociación entre la enfermedad de Gaucher tipo 1 y la EP se han notificado con trombocitopenia. Estos hallazgos, aunque no son sólidos, abren nuevas vías de investigación para comprender la implicación de la trombocitopenia no solo en la EP sino también en otras END.

CONCLUSIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas son un grupo de enfermedades que tienen un gran impacto en la salud y calidad de vida de las personas. Por esta razón, se realizan una gran cantidad de investigaciones con el fin de determinar las causas y los mecanismos por los cuales se producen, con el objetivo de disminuir la probabilidad de desarrollar una END;

Actualmente se busca encontrar causas de estas enfermedades fuera del sistema nervioso y dentro de células periféricas, por lo que las plaquetas son un importante objetivo al ser fáciles de obtener y manipular, al poseer ADNm, ser desprovisto de núcleo, poseer maquinaria necesaria para apoptosis y ser fáciles de fusionar con diferentes líneas celulares, siendo un biomarcador sistémico importante para estudiar la fisiopatología de las END.

A pesar de que aún faltan estudios que ayuden a dilucidar todos los mecanismos de acción de la plaqueta en la generación de las END, la evidencia actual apunta a la hiperactivación plaquetaria, hiper secreción de moléculas que actúan a nivel del SNC, desregulación enzimática (como calpaína y MAO-B), aumento de estrés oxidativo, neuroinflamación, alteraciones morfológicas plaquetarias y mitocondriales y expresión de microRNAs (Figura 8).

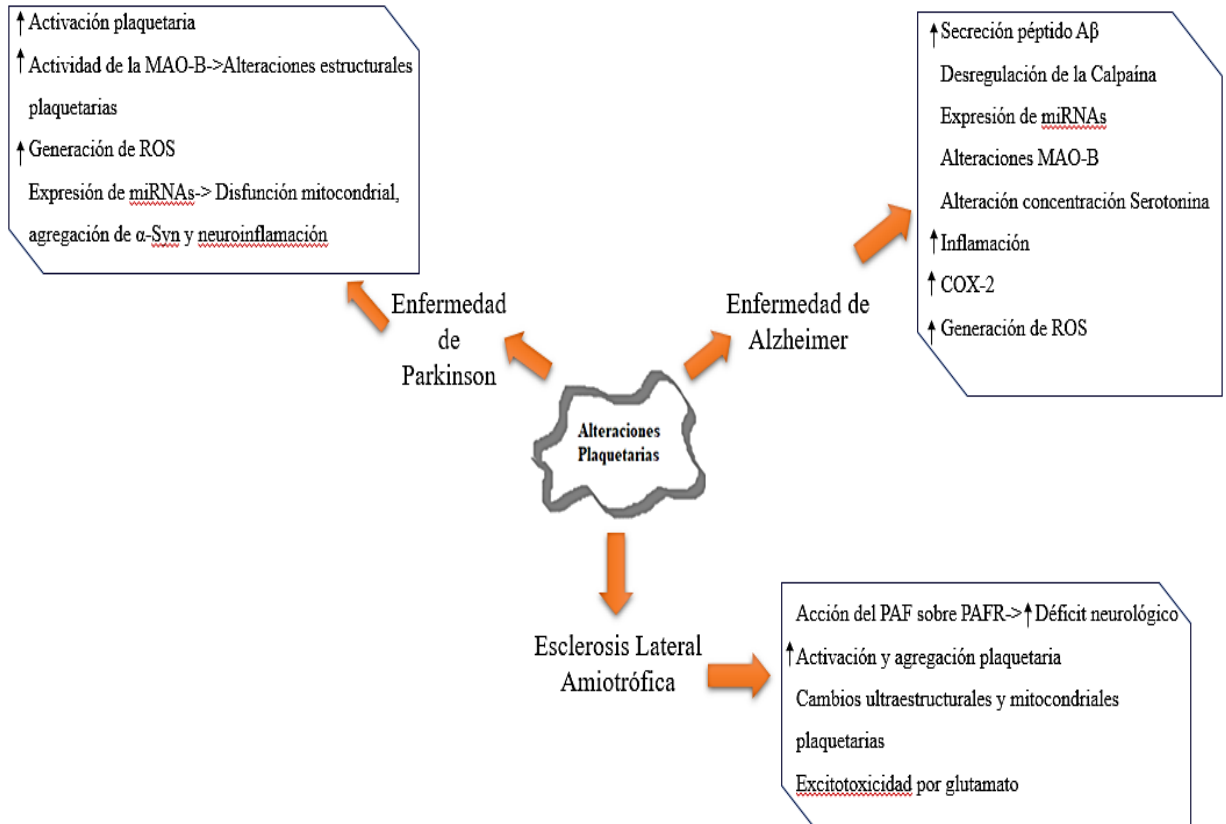


Figura 8. Visión general de la relación entre alteración plaquetaria y las enfermedades neurodegenerativas. Elaboración propia, 2019.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sepúlveda J. Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular, 2e. In: Soto A, editor. 2014.
2. Torrell G. Enfermedades neurodegenerativas. 2015.
3. R-Antigüedad A. Enfermedades Neurodegenerativas. Dossier. 2015.
4. Sanidad Md. Estrategia en Enfermedades Neurodegenerativas del Sistema Nacional de Salud. 2016.
5. MINSAL. Documento Preliminar para la elaboración del Plan Nacional para las demencias. 2015.
6. Salud Md. Documento Preliminar para la elaboración del Plan Nacional para las demencias. 2015.
7. Mayor SNdA. Estudio Nacional de la Dependencia en las Personas Mayores. 2010.
8. Morales I. La neuroinflamación como factor detonante del desarrollo de la enfermedad de Alzheimer2010. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272010000200007.
9. Gutiérrez L. La Enfermedad de Alzheimer y otras demencias como problema nacional de salud. 2017.
10. Lovestone S, Reynolds CH. The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neuroscience*. 1997;78(2):309-24.
11. García T. Fosforilación de tau y enfermedad de Alzheimer. 2002.
12. Gra S. Péptido beta amiloide, proteína Tau y enfermedad de Alzheimer. 2002.
13. Pedrosa M. Mecanismos bioquímicos de la Enfermedad de Alzheimer: Aproximaciones terapéuticas.
14. Bernhardt Rv. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. 2005.
15. CHEN G-f. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. 2017.

16. Sepúlveda C, Hernández B, Burgos CF, Fuentes E, Palomo I, Alarcón M. The cAMP/PKA Pathway Inhibits Beta-amyloid Peptide Release from Human Platelets. *Neuroscience*. 2019;397:159-71.
17. Caticala S. Alzheimer disease and platelets: how's that relevant. 2012.
18. García M. Características estructurales y funcionales de las plaquetas2000. Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/ang/vol1_2_00/ang08200.pdf.
19. Basualdo J. Concentrados Plaquetarios2015.
20. Gómez B. Fisiología plaquetaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica2018. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2018/mim182g.pdf>.
21. Espinosa Y. Decoding the role of platelets and related MicroRNAs in Aging and Neurodegenerative Disorders. 2019.
22. Razak Y. Involvement of calpain in the neuropathogenesis of Alzheimer's disease. 2018.
23. Smith CC, Prichard BN, Cooper MB. Platelet alpha- and beta-secretase activities: A preliminary study in normal human subjects. *Platelets*. 2009;20(1):29-34.
24. Bermejo E. Plaquetas2017. Available from: <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol21/extra/06-Vol%2021-extra.pdf>.
25. Romero M. Los microRNA: una herramienta que podría ser usada como biomarcadores de la corticogénesis fetal. 2014.
26. Moreno J. La plaqueta como marcador biológico periférico de la función serotoninérgica neuronal. 2005.
27. García J. Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. 2000.
28. Jones C. Platelet function and ageing. 2016.
29. Tomaiuolo M, Brass LF, Stalker TJ. Regulation of Platelet Activation and Coagulation and Its Role in Vascular Injury and Arterial Thrombosis. *Interv Cardiol Clin*. 2017;6(1):1-12.
30. Houtkooper RH, Argmann C, Houten SM, Cantó C, Jenning EH, Andreux PA, et al. The metabolic footprint of aging in mice. *Sci Rep*. 2011;1:134.

31. Donato AJ, Walker AE, Magerko KA, Bramwell RC, Black AD, Henson GD, et al. Life-long caloric restriction reduces oxidative stress and preserves nitric oxide bioavailability and function in arteries of old mice. *Aging Cell*. 2013;12(5):772-83.
32. Herkert O, Diebold I, Brandes RP, Hess J, Busse R, Görlach A. NADPH oxidase mediates tissue factor-dependent surface procoagulant activity by thrombin in human vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 2002;105(17):2030-6.
33. Espinoza Y. Decoding the role of platelets and related MicroRNAs in Aging and Neurodegenerative Disorders. 2019.
34. MINSAL. INFORME DE EVALUACIÓN CIENTÍFICA BASADA EN LA EVIDENCIA DISPONIBLE. 2017.
35. González N. Esclerosis lateral amiotrófica. Monografía. 2003.
36. Zapata C. Esclerosis lateral amiotrófica: actualización. 2016.
37. Madero T. Esclerosis Lateral Amiotrófica: Enfermedad, tratamiento actual y nuevas líneas de investigación. Masitinib. 2017.
38. Briones MRS, Snyder AM, Ferreira RC, Neely EB, Connor JR, Broach JR. A Possible Role for Platelet-Activating Factor Receptor in Amyotrophic Lateral Sclerosis Treatment. *Front Neurol*. 2018;9:39.
39. Briones MRS, Snyder AM, Ferreira RC, Neely EB, Connor JR, Broach JR. A Possible role for Platelet-Activating Factor receptor in Amyotrophic Lateral sclerosis treatment. *Frontiers in Neurology*. 2018;9.
40. Sirangelo I, Giovane A, Maritato R, D'Onofrio N, Iannuzzi C, Giordano A, et al. Platelet-activating factor mediates the cytotoxicity induced by W7FW14F apomyoglobin amyloid aggregates in neuroblastoma cells. *J Cell Biochem*. 2014;115(12):2116-22.
41. Toscano EC, Silva BC, Victoria EC, Cardoso AC, Miranda AS, Sugimoto MA, et al. Platelet-activating factor receptor (PAFR) plays a crucial role in experimental global cerebral ischemia and reperfusion. *Brain Res Bull*. 2016;124:55-61.
42. Behari M. Role of platelets in neurodegenerative diseases: a universal pathophysiology. 2013.

43. Shrivastava M, Das TK, Behari M, Pati U, Vivekanandhan S. Ultrastructural variations in platelets and platelet mitochondria: a novel feature in amyotrophic lateral sclerosis. *Ultrastruct Pathol.* 2011;35(2):52-9.
44. Lin CL, Kong Q, Cuny GD, Glicksman MA. Glutamate transporter EAAT2: a new target for the treatment of neurodegenerative diseases. *Future Med Chem.* 2012;4(13):1689-700.
45. Soria A. Fisiología de la enfermedad del Parkinson. Causas y mecanismos fisiopatológicos.: Universidad de Alcalá; 2016.
46. MINSAL. Enfermedad de Parkinson: Tratamiento farmacológico y Quirúrgico. 2016.
47. Liviu A. Pro-survival rol for Parkinson's Associated Gene DJ-1 revealed in trophically impaired dopaminergic neurons. 2010.
48. Alarcón A. Modelos neurotóxicos de la Enfermedad de Parkinson y disfunción mitocondrial. 2010.
49. MINSAL. Guía Clínica Enfermedad Parkinson. 2010.
50. Padel T, Özen I, Boix J, Barbariga M, Gaceb A, Roth M, et al. Platelet-derived growth factor-BB has neurorestorative effects and modulates the pericyte response in a partial 6-hydroxydopamine lesion mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2016;94:95-105.