

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



Efecto del péptido  $A\beta_{1-40}$  sobre el Balance Energético y  
la Función Mitocondrial. Repercusiones en la  
Dishomeostasis de  $Ca^{2+}$  intracelular y Viabilidad  
Celular.

TESIS DE MAGISTER

Tesis de Magíster presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de  
Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en  
Ciencias, mención Fisiología

Por

ANDREA J. DIBARRART VERA

## RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo que se caracteriza por presentar agregados extracelulares insolubles de proteína beta-amiloide ( $A\beta$ ). El mecanismo involucrado en la neurotoxicidad del  $A\beta$  no está completamente dilucidado. Algunos de los efectos que se conocen hasta ahora son: pérdida de la selectividad iónica, aumento de la concentración de calcio intracelular  $[Ca^{2+}]_i$ , generación de especies reactivas del oxígeno y activación de vías de señalización apoptóticas.

La dishomeostasis de la  $[Ca^{2+}]_i$  se observa en fases tempranas de la enfermedad, atribuyéndosele un papel central en sucesos de atrofia dendrítica, falla sináptica, desorganización del citoesqueleto, activación de caspasas y apoptosis. Sin embargo, los mecanismos moleculares que preceden y, por tanto, conllevan a la desregulación del  $Ca^{2+}$  intracelular continúan en estudio.

Por otra parte, se ha descrito una disminución en la eficiencia de la cadena transportadora de electrones, asociada tanto a daño del ADN mitocondrial como a la acción directa del  $A\beta$  sobre proteínas mitocondriales, resultando en la pérdida del potencial de membrana, generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y una disfunción mitocondrial que a largo plazo se manifiesta como una disminución de los niveles de producción de ATP.

En este contexto, nuestra hipótesis de trabajo apunta a que *"Los agregados solubles del péptido  $A\beta_{1-40}$  inducen pérdida de selectividad de la membrana plasmática, generando un desbalance energético por fuga de ATP intracelular y disfunción mitocondrial, que potencian la dishomeostasis del  $Ca^{2+}$ "*

*intracelular, y contribuyen a la disfunción sináptica, y la neurodegeneración".* Para esto nos propusimos evidenciar los efectos agudos y crónicos de agregados extracelulares de  $A\beta_{1-40}$  sobre la actividad mitocondrial y el balance energético, y su contribución en los efectos citotóxicos del péptido  $A\beta_{1-40}$ .

Entre los resultados obtenidos que cabe destacar se encuentra que: el péptido  $A\beta_{1-40}$  agregado ( $0,5 \mu\text{M}$ ) induce en forma crónica (24 horas) una disminución en la concentración de ATP intracelular que alcanza niveles del  $79,8\%$  ( $\pm 9$ ;  $n=12$ ) en células hipocampales, mientras que a una concentración de  $1\mu\text{M}$ , el péptido  $A\beta_{1-40}$  induce una disminución en la concentración de ATP intracelular que alcanza el  $65,8\%$  ( $\pm 6$ ;  $n=12$ ). Adicionalmente, incubaciones agudas de 30 minutos inducen un aumento tanto en la concentración de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , como en los niveles de ATP extracelular ( $174 \pm 13\%$ ;  $n=14$ ) en neuronas hipocampales. Por otro lado, incubaciones agudas también generan una disminución del  $\Psi_{\text{mit}}$  ( $\sim -100\%$ ) un efecto no descrito hasta el momento de la redacción de esta tesis.

Por otra parte, cultivos de neuronas co-incubadas con Suramina ( $100\mu\text{M}$ ; bloqueador purinérgico) y péptido  $A\beta_{1-40}$  ( $0,5 \mu\text{M}$ ), muestran una reversión de los efectos tóxicos de éste. La viabilidad se recuperó en un  $19\%$  ( $\pm 3,7$ ;  $n=8$ ) y, las transitorias de  $\text{Ca}^{2+}$  se recuperaron hasta un  $99\%$  ( $\pm 4,2$ ;  $n=4$ ), lo que se correlaciona con las pruebas de inmunomarcaje de SV2. En paralelo, ensayos realizados mostraron una potenciación cuando el péptido  $A\beta$  fue co-incubado con un potente agonista purinérgico como es BzATP ( $50 \mu\text{M}$ ).

En conclusión, este estudio sugiere un rol sinérgico entre la dishomeotaxis del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, la disfunción mitocondrial y el desbalance intracelular de