

La malaltia de

• Escrit per

• **Daniel del Toro**

• Departament de Biologia Cel·lular, Immunologia i Neurociències

• de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona - IDIPABS

La malaltia de Huntington és un trastorn neurodegeneratiu autosòmic dominant de penetrància completa, amb una prevalença que es troba entre 3 i 7 de cada 100.000 habitants. Aquesta afecció, coneguda normalment com *el desordre* o *el ball de Sant Vito*, va ser descrita per primer cop l'any 1872 pel doctor George Huntington (1850-1916) com un trastorn hereditari sota el nom de *corea* (del grec *chorea*, que significa 'dansa') a causa del moviment exagerat de les extremitats. La simptomatologia de la malaltia engloba alteracions cognitives, psiquiàtriques i motores, les quals es presenten majoritàriament entre els 30 i els 50 anys i progressen de manera molt lenta fins a la mort del pacient en un període de 15-20 anys. No obstant això, hi ha casos en què la simptomatologia es pot presentar en edats juvenils compreses entre els 10 i els 20 anys.

La patologia de la malaltia de Huntington es caracteritza per una degeneració progressiva dels nuclis putamen i caudat, coneguts conjuntament en rosegadors com a *nucli estriat*. En estadis avançats de la malaltia també hi ha disfunció del còrtex cerebral, associada amb una degeneració d'aquesta estructura (**fig. 1**). Aquests fets, descrits l'any 1877, indicaven que les neurones d'aquestes regions, sobretot les del nucli estriat, són les més vulnerables, i que la pèrdua o la disfunció d'aquestes era la causa de la simptomatologia motora i cognitiva de la malaltia de Huntington.

La causa d'aquesta neurodegeneració va ser descoberta l'any 1993 i és deguda a una mutació específica del gen anomenat *IT15*, localitzat en el braç curt del cromosoma 4, el qual codifica per a la proteïna huntingtina. La mutació consisteix en una expansió anòmla del trinucleòtid citosina-adenina-guanina (CAG) i es tradueix en una repetició de glutamines (polyQ) en l'extrem N-terminal de la huntingtina. Hi ha una forta correlació inversa entre el nombre de repeticions CAG i l'inici de la simptomatologia. D'aquesta manera, depenent del nombre de repeticions, els al·lels es classifiquen com a normals, intermedis o causa de Huntington (**taula 1**).

La mutació de la huntingtina provoca la degeneració específica de regions cerebrals i a la vegada de determinats tipus neuronals. Dins del nucli estriat trobem dos grups de neurones: les de projecció, que utilitzen el neurotransmissor GABA, són la població majoritària (aproximadament, un 90-95 % del total); la resta correspon a les interneurons. En la malaltia de Huntington les neurones de projecció són les que presenten una disfunció progressiva i mort posterior, mentre que les interneurons no es veuen afectades. A més, dins de les neurones de projecció, les que expressen encefalina i projecten cap al globus pàl·lid es veuen afectades abans que les que expressen substància P, que connecten amb la substància negra *pars reticulata* i amb el globus pàl·lid intern. Aquesta afectació específica de poblacions neuronals també s'observa en el còrtex; en aquesta regió, degeneren les neurones piramidals de les capes III, V i VI del còrtex motor i associatiu. Tot i que en la malaltia de Huntington es veuen afectades determinades regions i neurones del cervell, la proteïna huntingtina s'expressa en tot el sistema nerviós, en teixits perifèrics i també durant el desenvolupament embrionari. Per tant, no solament són importants els efectes de la huntingtina quan està mutada, sinó també el context cel·lular on es produeixen, i d'aquesta manera cal conèixer les funcions fisiològiques de la huntingtina.

Huntington

NORMAL

HUNTINGTON

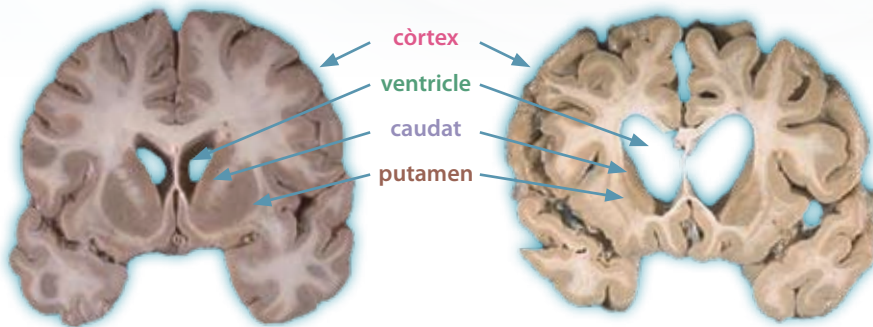


Figura 1. Patologia de la malaltia de Huntington. Seccions coronals on es pot observar l'atrofia cortical i dels nuclis caudat i putamen amb la dilatació corresponent del ventricle en el cervell afectat per la malaltia de Huntington. (Imatge adaptada del web <http://pathology.mc.duke.edu/neuropath/>, del Departament de Patologia de la Universitat de Duke)

La proteïna huntingtina

La huntingtina és una proteïna d'alt pes molecular (350 kDa) que es localitza principalment al citosol i de manera minoritària dins dels nuclis cel·lulars. Dintre del citosol, la huntingtina s'associa amb molts orgànuls, com ara els endosomes, el reticle endoplasmàtic i l'aparell de Golgi, i també amb vesícules i amb la membrana plasmàtica. La huntingtina conté 3.144 aminoàcids, dins dels quals hi ha moltes regions importants pel que fa a la funció (**fig. 2**), com ara la gran repetició de seqüències anomenades *HEAT*.

Aquestes seqüències d'uns cinquanta aminoàcids estan implicades en la interacció proteica i es troben de manera general en proteïnes que necessiten la formació de complexos proteics per dur a terme la seva funció, com ara les implicades en el transport intracel·lular, en la dinàmica del citosquelet i en la segregació cromosòmica. A més, les tres primeres seqüències *HEAT*, juntament amb els primers 17 aminoàcids, faciliten el reclutament de la huntingtina als compartiments intracel·lulars esmentats anteriorment. La huntingtina pot rebre modificacions posttraduccio-

Taula 1. Classificació dels al·lels de la huntingtina segons el nombre de repeticions CAG.

Tipus d'al·lel		Nre. de CAG	Descripció
Normal		< 26	Els al·lels presents en individus normals presenten de manera més general entre 17 i 20 repeticions.
Intermedi		27-35	També coneguts com a al·lels <i>mutables</i> , les persones portadores d'aquests al·lels no tenen risc de patir la malaltia de Huntington. No obstant això, a causa de la inestabilitat de les repeticions de CAG d'aquest rang, poden tenir descendència amb més nombre de CAG i, per tant, tenir malaltia de Huntington.
Causa de Huntington	Penetrància reduïda	36-39	En aquest rang hi ha risc de patir Huntington, però no de patir tota la simptomatologia associada amb aquesta malaltia.
	Penetrància completa	< 40	En aquest rang la probabilitat de desenvolupar la malaltia de Huntington és completa. A més, tenir més de 50 CAG s'associa amb el fet de patir aquesta malaltia en edats juvenils.



Figura 2. Esquema general de l'estructura de la huntingtina. (Q)n indica la cadena de glutamines la qual és continuada per una altra de prolines (P)n. Els rectangles vermells indiquen tres seqüències HEAT rellevants. Els rectangles de colors indiquen regions que es proteolitzen per l'acció de caspases (triangles del mateix color) en el còrtex (C), en l'estriat (S) o en ambdós (C/S). Els triangles de color taronja indiquen el lloc d'acció de les calpaines. La regió NES indica la regió exportadora nuclear. (Figura adaptada de Cattaneo i col., 2005)

nals, com ara la sumoïlació i la ubiquitinació, les quals regulen la vida mitjana, la localització de la huntingtina i també la toxicitat de la huntingtina mutada. Finalment, diverses proteïnes, com ara les caspases i les calpaïnes, poden proteolitzar la huntingtina en diferents regions. Encara que no es coneix com aquest procés regula la funció de la huntingtina, s'ha observat que incrementa la toxicitat de la huntingtina mutada, ja que els fragments N-terminals són més tòxics que la huntingtina mutada de seqüència completa.

Actualment les funcions de la huntingtina no estan ben definides. Això és degut a l'elevada complexitat que presenta la seva estructura, a més de la capacitat d'interaccionar amb més de dues centes proteïnes. Per aquest motiu actualment està àmpliament acceptat que la huntingtina actua com una proteïna que facilita la formació de complexos proteics amb determinades funcions. Així, la huntingtina s'ha implicat en funcions molt diverses, com ara la regulació transcripcional, la funcionalitat sinàptica, l'apoptosi i el transport intracel·lular. Totes aquestes funcions indiquen la rellevància de la huntingtina per a l'homeòstasi cel·lular. De fet, els models murins amb silenciament de la huntingtina presenten molta mort cel·lular al voltant del dia embrionari 8,5. A més, la deleció condicional de la huntingtina en el prosencèfal i en els testicles de ratolins adults provoca neurodegeneració i esterilitat, respectivament.

La disfunció neuronal en la malaltia de Huntington: guany o pèrdua de funcions?

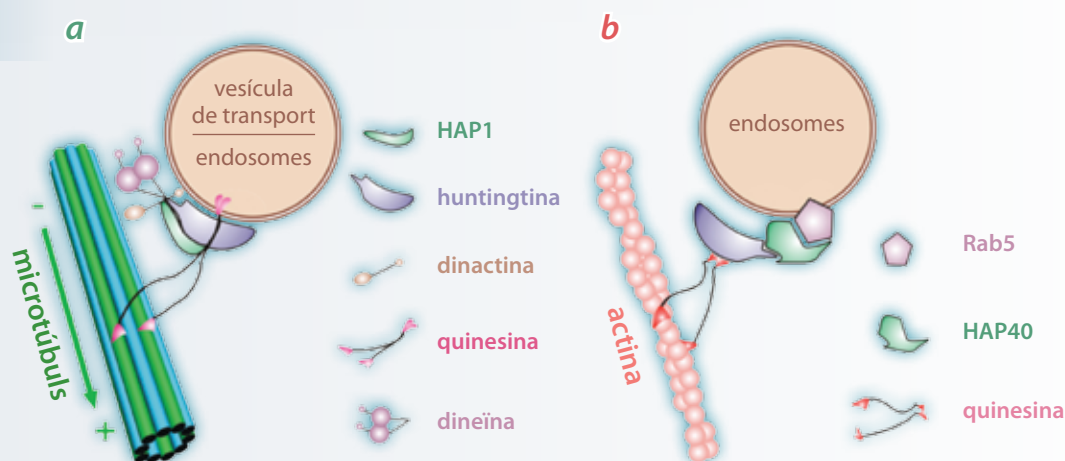
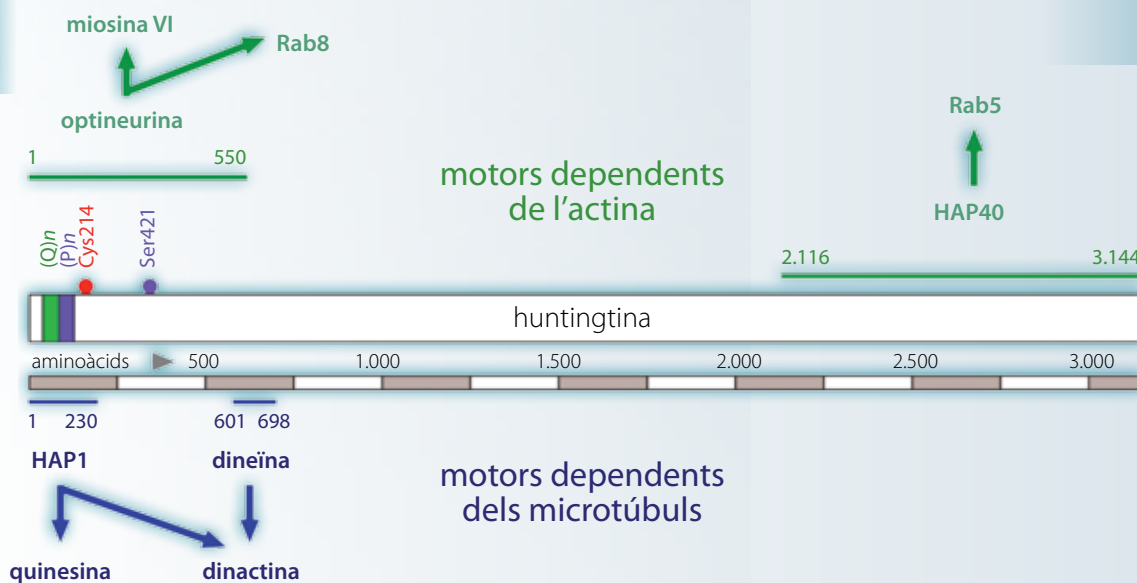
La fisiopatologia de la malaltia de Huntington és complexa, ja que hi intervenen molts mecanismes, els quals s'intenten explicar sobre la base de dues teories. D'una banda, la mutació de la huntingtina altera moltes funcions fisiològiques

de la huntingtina, i dóna forma a la teoria que la *pèrdua de funcions* de la huntingtina està implicada en la fisiopatologia de la malaltia. No obstant això, encara que el silenciament de la huntingtina sigui letal, la reducció d'un 50 % en els nivells d'aquesta proteïna no provoca cap simptomatologia de Huntington, com ocorre en la síndrome de Wolf-Hirschhorn, produïda per la deleció terminal del cromosoma 4, incloent-hi el gen de la huntingtina. Per això s'ha proposat la teoria del *guany tòxic* de la huntingtina mutada. Això es confirma per la toxicitat cel·lular que, *per se*, provoca l'expressió de fragments N-terminals que contenen la mutació de la huntingtina. Els fragments N-terminals tenen tendència a formar agregats citosòlics com a nuclears. Aquests agregats són presents en cervells de pacients de la malaltia de Huntington, com en models murins de la malaltia, i són una de les característiques patològiques de la malaltia de Huntington.

Encara que no es coneix la toxicitat *per se* d'aquests agregats, s'ha observat que poden alterar la funció de la huntingtina segregant-la o segregant proteïnes que hi interaccionen. D'aquesta manera, a més de la pèrdua de les funcions de la huntingtina, hi ha mecanismes tòxics intrínsecs a la mutació de la huntingtina presents en la malaltia de Huntington.

L'alteració del transport intracel·lular en la malaltia de Huntington

El transport intracel·lular és un procés crític per a la correcta homeòstasi cel·lular. En aquest sentit, actualment hi ha una associació creixent entre mutacions de proteïnes implicades en el tràfic intracel·lular i malalties neurodegeneratives. La implicació de la huntingtina en el transport intracel·lular es va postular a partir d'estudis de fraccionament subcel·lular i de microscòpia, on es va observar l'associació de la huntingtina amb ve-



▲ Figura 3. Esquema de les interaccions entre la huntingtina i proteïnes implicades en el transport dependent dels microtúbuls o dependent de l'actina. Les proteïnes associades amb el transport dependent dels microtúbuls o dependent de l'actina estan acolorides de blau o de verd, respectivament. La posició de fosforilació de la serina 421 i de palmitoïlació en la cisteïna 214 estan marcades en lila i en vermell, respectivament. (Figura adaptada del treball de Caviston i Holzbaur, 2009)

Figura 4. Esquema de les interaccions entre la huntingtina i les proteïnes implicades en transport al llarg dels microtúbuls o d'ancoratge al citoesquelet d'actina. a) La huntingtina afavoreix la formació de complexos implicats en el transport de vesícules o d'endosomes al llarg dels microtúbuls. b) La interacció entre la huntingtina i HAP40 afavoreix la unió dels endosomes amb el citoesquelet d'actina i en redueix d'aquesta manera el transport. En aquest cas, les proteïnes motores, encara que no són conegudes, sembla que podrien involucrar les miosines.

sícules de transport i amb els microtúbuls. Aquesta hipòtesi va ser demostrada posteriorment arran de diferents estudis on es va mostrar la implicació directa de la huntingtina en el transport de vesícules al llarg dels microtúbuls i dels àxons, exocitosi i endocitosi sinàptica, a causa de la capacitat de la huntingtina de formar complexos proteics implicats en el transport intracel·lular (fig. 3).

La huntingtina interacciona amb proteïnes implicades en el transport de vesícules al llarg dels microtúbuls, com ara la dineïna i HAP1. Aquesta última és important per a la interacció de proteïnes motores, com ara el complex dineïna-dinactina i la quinesina amb els micro-

túbuls. Estudis recents han mostrat que la fosforilació de la huntingtina en el residu serina 421 (Ser421) incrementa el reclutament de la quinesina als motors dependents dels microtúbuls i afavoreix el transport anterògrad de les vesícules. La huntingtina també s'ha implicat en el trànsit dels endosomes al llarg dels microtúbuls. No obstant això, també pot reduir el seu transport mitjançant la interacció amb HAP40, la qual s'uneix a la vegada amb la proteïna dels endosomes Rab5. La interacció entre la huntingtina i HAP40 afavoreix l'ancoratge dels endosomes en el citoesquelet d'actina, on el transport és molt menor si es compara amb el dels microtúbuls (fig. 4).

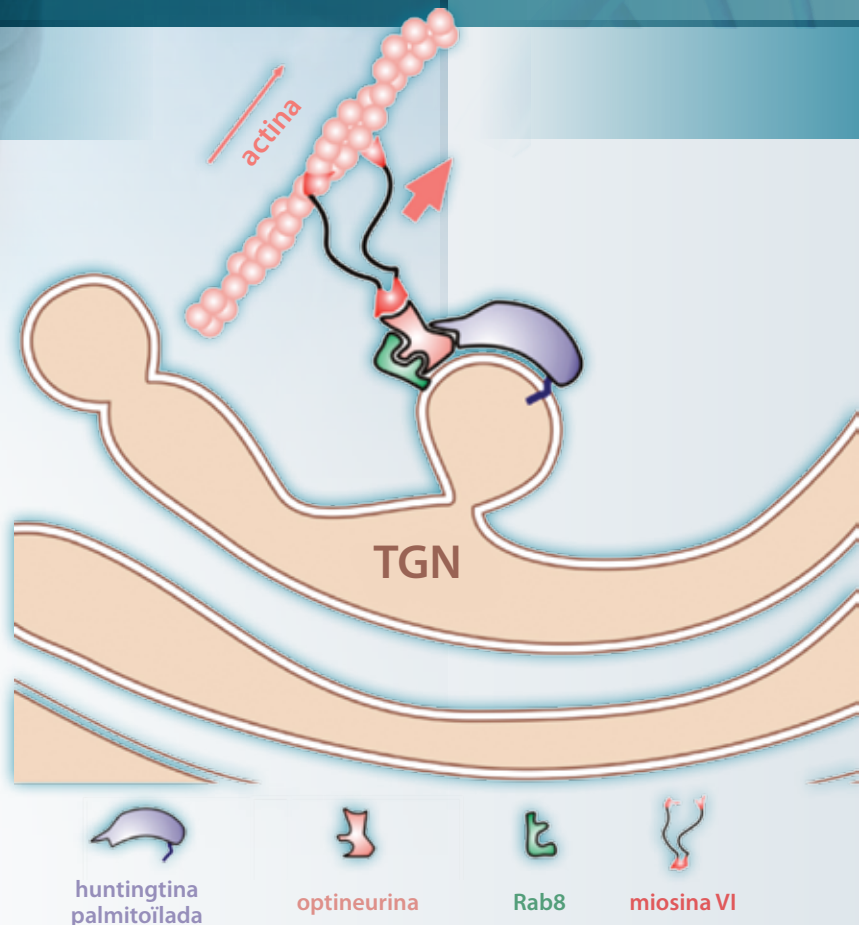


Figura 5. Esquema de les interaccions entre la huntingtina i proteïnes implicades en el transport post-Golgi mitjançant motors dependents de l'actina, com ara la miosina VI. Trans-Golgi Network (TGN).

Recentment s'ha demostrat que la huntingtina també interacciona amb proteïnes motores del citoesquelet d'actina. La palmitoilació de la huntingtina en la cisteïna 214 (Cys214), mitjançant la proteïna HIP14, permet la seva localització en les membranes de l'aparell de Golgi. En aquest lloc la huntingtina pot interaccionar amb l'optineurina, la qual, a la vegada, afavoreix el reclutament de la proteïna Rab8 i de la miosina VI, que és una proteïna motora dependent de l'actina. La formació d'aquest complex gràcies a la huntingtina és important per afavorir el transport post-Golgi i, d'aquesta manera, la formació de vesícules (fig. 5).

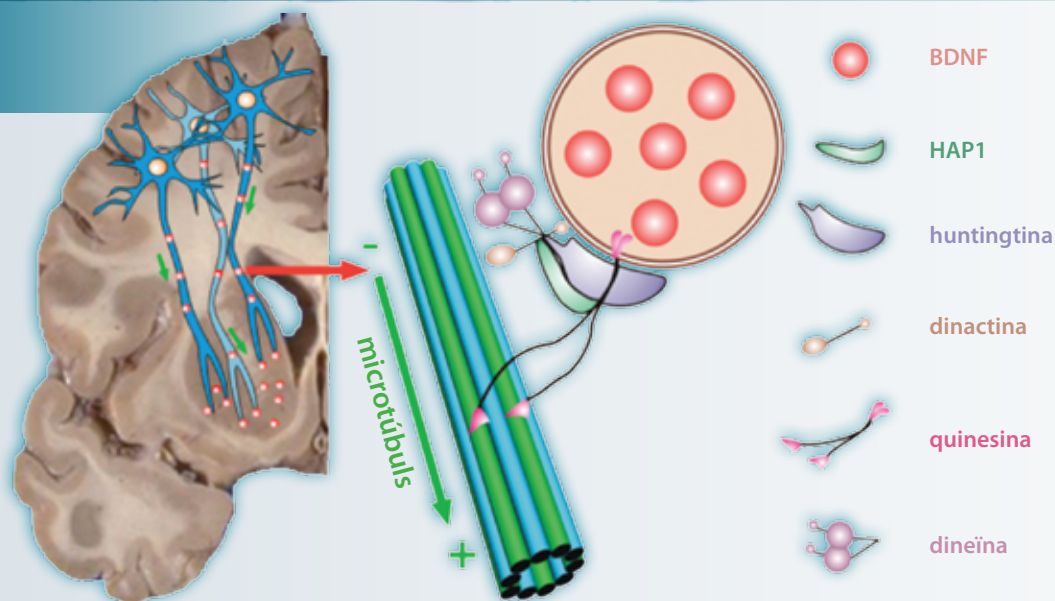
La mutació de la huntingtina provoca una reducció del transport de vesícules al llarg dels microtúbuls. Això és degut al fet que la huntingtina mutada no pot interaccionar de manera correcta amb les proteïnes motores dependents dels microtúbuls, i, per tant, la formació dels complexos responsables del moviment de les vesícules al llarg dels microtúbuls està alterada. A més, s'ha observat que la presència d'agregats de huntingtina pot reduir el transport de vesícules al llarg dels àxons i impedir-ne el transport de manera física.

D'altra banda, la localització de la huntingtina mutada en l'aparell de Golgi es veu reduïda

en presència de la mutació. Això, conjuntament amb la menor interacció entre la huntingtina mutada i l'optineurina, provoca que el transport post-Golgi estigui afectat, i, per tant, la formació de vesícules sigui menor.

Per aquests dos efectes, el transport intracel·lular de moltes proteïnes es veu afectat en presència de la huntingtina mutada, com, per exemple, el factor neurotròfic BDNF. Aquesta neurotrofina se sintetitza principalment en el còrtex i és transportada mitjançant les projeccions corticoestriatals cap a l'estriat (fig. 6).

Dintre de la família de les neurotrofines, el BDNF és un dels factors més importants per a la supervivència de les neurones de projecció del nucli estriat, a més de ser un dels més potents protegint aquestes neurones de molts estímuls tòxics, com ara un excés d'activitat glutamatèrgica. En la malaltia de Huntington, el transport post-Golgi de BDNF es veu reduït, i provoca una formació menor de vesícules; a més, el transport de vesícules que contenen BDNF al llarg dels microtúbuls també està alterat. Aquests efectes provoquen un alliberament menor d'aquesta neurotrofina i, per tant, una manca de suport tròfic en les neurones estriatals. De fet, tant en mostres d'estriat provinents de pacients de Hun-



tington com de models murins de la malaltia, s'ha observat una menor quantitat de BDNF.

La menor quantitat de BDNF a l'estriat està associada amb una major vulnerabilitat de les neurones presents en aquesta regió. De fet, el silenciament condicional del BDNF cortical s'acompanya de degeneració del còrtex i de l'estriat amb l'aparició de símptomes similars als observats en models murins de la malaltia de Huntington. Finalment, la reducció d'un 50 % en l'expressió de BDNF s'ha demostrat que agreuja i avança la simptomatologia de Huntington en models murins. A més, es va observar que la disminució de BDNF provoca la degeneració de les neurones de projecció encefalinèrgiques, les més vulnerables en la malaltia de Huntington, i que aquest efecte es pot inhibir amb l'administració exògena de BDNF en l'estriat. Aquests estudis mostren la forta associació de BDNF en la fisiopatologia de Huntington i d'aquesta manera també impliquen

l'alteració del transport intracel·lular com un mecanisme important dintre d'aquest procés.

Conclusió

Des que es va identificar la huntingtina com la proteïna responsable de la malaltia de Huntington hi ha hagut un gran esforç científic per conèixer-ne les funcions. No obstant això, avui encara no estan ben caracteritzades, a causa de la gran dimensió i complexitat d'aquesta proteïna, a més de la seva capacitat d'interaccionar amb més de dues-centes proteïnes. L'estudi dels complexos proteics on participa la huntingtina contribueix a entendre'n les funcions fisiològiques i la rellevància neural que té. A més, ens aporta mecanismes moleculars per a conèixer com la mutació de la huntingtina provoca efectes deleters en les neurones. El repte dels anys vinents serà l'aplicació d'aquests coneixements per al desenvolupament de teràpies per a la malaltia de Huntington. I

Figura 6. La proteïna huntingtina afavoreix el transport de BDNF. El BDNF se sintetitza majoritàriament en neurones corticals i es transporta cap a l'estriat; on actua com a factor tròfic.

Referències bibliogràfiques

- BORRELL-PAGÈS, M. [et al.] (2006). «Huntington's disease: from huntingtin function and dysfunction to therapeutic strategies». *Cell. Mol. Life Sci.*, núm. 22, vol. 63, p. 2642-2660.
- CANALS, J. M. [et al.] (2004a). «Brain-derived neurotrophic factor regulates the onset and severity of motor dysfunction associated with enkephalinergic neuronal degeneration in Huntington's disease». *J. Neurosci.*, núm. 35, vol. 24, p. 7727-7739.
- CATTANEO, E.; ZUCCATO, C.; TARTARI, M. (2005). «Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease». *Nat. Rev. Neurosci.*, núm. 12, vol. 6, p. 919-930.
- CAVISTON, J. P.; HOLZBAUR, E. L. (2009). «Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking». *Trends Cell. Biol.*, núm. 4, vol. 19, p. 147-155.
- DEL TORO, D. [et al.] (2006). «Mutant huntingtin impairs the post-Golgi trafficking of brain-derived neurotrophic

- factor but not its Val66Met polymorphism». *J. Neurosci.*, núm. 49, vol. 26, p. 12748-12757.
- DEL TORO, D. [et al.] (2009). «Mutant huntingtin impairs post-Golgi trafficking to lysosomes by delocalizing optineurin/Rab8 complex from the Golgi apparatus». *Mol. Biol. Cell.*, núm. 5, vol. 20, p. 1478-1492.
- GAUTHIER, L. R. [et al.] (2004). «Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules». *Cell.*, núm. 1, vol. 118, p. 127-138.
- IMARISIO, S. [et al.] (2008). «Huntington's disease: from pathology and genetics to potential therapies». *Biochem. J.*, núm. 2, vol. 412, p. 191-209.
- PEREZ-NAVARRO, E. [et al.] (2006). «Cellular and molecular mechanisms involved in the selective vulnerability of striatal projection neurons in Huntington's disease». *Histol. Histopathol.*, núm. 21, p. 1217-1232.

Daniel del Toro
(Barcelona, 1981)



Es va llicenciar en biologia l'any 2004 a la Universitat Pompeu Fabra. Va obtenir el títol de doctor el 2009 amb una

tesi elaborada sota la direcció dels doctors Jordi Alberch i Josep M. Canals al Departament de Biologia Cel·lular, Immunologia i Neurociències de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona. Els seu treball se centra en l'estudi dels mecanismes que porten a la neurodegeneració en la malaltia de Huntington, concretament en l'estudi de les alteracions del tràfic intracel·lular. Com a derivació d'aquest tema, actualment analitza la implicació dels lípids en aquesta malaltia.