

10 DE DICIEMBRE DE 99

Los investigadores encuentran un activador precoz de la muerte de células cerebrales en la enfermedad de Alzheimer

Estudiando las células cerebrales de pacientes con la enfermedad de Alzheimer, los investigadores han identificado una molécula que activa la formación precoz de algunos de los entramados mortales de proteínas que dañan y matan a las células cerebrales.

El descubrimiento proporciona un importante entendimiento de la patología subyacente a la enfermedad de Alzheimer y también indica nuevos y prometedores objetos para la terapia con drogas, dicen la investigadora del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) Li-Huei Tsai y sus colegas de la Facultad de Medicina de Harvard.

Estudios post mortem en los cerebros de personas con la enfermedad de Alzheimer han revelado una cantidad de detalles sorprendentes acerca de la patología de la enfermedad. Notoriamente, los investigadores creen que la muerte de las células cerebrales es causada por la acumulación de las proteínas amiloide- β que se encuentra en placas extracelulares y tau, que es un componente de los nudos neurofibrilares observados en el tejido cerebral de pacientes con la enfermedad.

"La posibilidad de bloquear a la misma p25 o a la proteasa que la produce, hace que ambas puedan ser objeto de una terapia con drogas, más benigna y efectiva, para la enfermedad de Alzheimer."

- Li-Huei Tsai

En el número del 9 de diciembre de 1999 de la revista *Nature*, Tsai y sus colegas describen cómo la interacción de muchas moléculas puede llevar a la

formación prematura de nudos neurofibrilares. De acuerdo a lo que describen Tsai y sus colegas Gentry N. Patrick, Lawrence Zukerberg, Margareta Nikolic, Suzanne de la Monte y Pieter Dikkes, las personas con la enfermedad de Alzheimer tienen en sus cerebros altos niveles de una versión abreviada y defectuosa de la proteína p35. Normalmente, p35 regula a la quinasa 5 dependiente de ciclina (Cdk5) una enzima que, durante el desarrollo, cataliza la construcción y el mantenimiento del tejido neuronal asociándose a ella y anclándola en la membrana plasmática de las células cerebrales. Las enzimas que son quinasas, tales como Cdk5, activan otras enzimas agregándoles grupos fosfatos-proceso llamado fosforilación.

El grupo de Tsai mostró que en las células de personas con la enfermedad de Alzheimer, p35 es clivada en dos proteínas menores, p10 y p25. El fragmento p25 mantiene la actividad de p35 y aún puede activar a Cdk5. El problema empieza porque p25 pierde un segmento diana crítico que está contenido en p35, entonces p25 activa a Cdk5 y le permite moverse libremente a través del citoplasma celular "hiperfosforilando" otras proteínas principalmente a una proteína estabilizadora del citoesqueleto, llamada tau. La proteína tau alterada se vuelve menos capaz de asociarse a las proteínas del citoesqueleto y se agrega formando nudos neurofibrilares letales, que son observados en células cerebrales dañadas por la enfermedad de Alzheimer.

"Normalmente la proteína p35 completa es muy finamente regulada y tiene una vida media muy corta", explicó Tsai. "La degradación de p35 es activada normalmente por su asociación con Cdk5, que la fosforila. Por otro lado, p25 es completamente estable, razón por la cual la encontramos a niveles entre 20 y 40 veces mayores en cerebros afectados por la enfermedad de Alzheimer". Los niveles de p25 tanto más altos en las células cerebrales superan la normal regulación de Cdk5, dijo Tsai, activando constantemente a la enzima.

En el artículo de *Nature*, los científicos compararon muestras de tejido cerebral de ocho pacientes con la enfermedad de Alzheimer con muestras de cinco personas que no padecían la enfermedad. Mientras que sus análisis revelaron niveles normales de Cdk5 y p35 en el tejido con Alzheimer, encontraron niveles mucho mayores de la proteína p25, la versión abreviada de p35. Utilizando anticuerpos que selectivamente reconocen y tiñen p25, p35 y tau, los científicos mostraron que los altos niveles de p25 fueron asociados distintivamente con células que presentaban nudos neurofibrilares.

La secuenciación genética de las proteínas p35 y p25 reveló que la más pequeña, p25, carecía de una señal fundamental que permite su anclaje a la membrana plasmática, lugar donde normalmente Cdk5 activa a otras enzimas. Cuando los científicos separaron los variados componentes de las células cerebrales y los analizaron, descubrieron que mientras que p35 era más abundante en la fracción celular membranosa, p25 estaba enriquecida en la fracción citoplasmática.

Utilizando técnicas de ingeniería genética, los científicos insertaron los genes para p25 o p35, juntos con aquellos para tau y para Cdk5, en células que

carecían de los mismos, y encontraron que p25 y Cdk5, en efecto, hiperfosforilaron a tau in vivo mucho más eficientemente que p35 y Cdk5.

"Este experimento fue importante, porque se ha visto que casi todas las quinasas que existen fosforilan a tau en el tubo de ensayo", dijo Tsai. "Por lo tanto, queríamos asegurarnos que p25/Cdk5 regulaban a tau en células vivas". Además, cuando los científicos insertaron los genes para p25 y Cdk5 en células cerebrales, que de otra manera serían normales, encontraron que las células presentaron disrupción del citoesqueleto, degeneración y muerte.

En particular, dijo Tsai, dos líneas de evidencia de los estudios de su equipo implicaron a p25 como una causa precoz de la enfermedad de Alzheimer.

"En primer término, encontramos más neuronas con p25 acumulada que neuronas con nudos neurofibrilares", dijo. "Esto sugiere que p25 precede la formación de nudos detectables".

"Tampoco encontramos p25 en un paciente que presentaba un estado terminal de la enfermedad de Alzheimer. Su cerebro pesaba menos de la mitad de lo que pesa un cerebro normal y dado que todas las neuronas afectadas ya habían muerto, no esperábamos encontrar p25".

Tsai y sus colegas están buscando la enzima culpable, una enzima proteolítica, que es responsable del clivaje de p35 para producir p25 y p10. En un artículo en el mismo número de la revista Nature, en la sección News and Views, Eckhard Mandelkow de la Unidad para Biología Molecular Estructural del Max-Planck en Hamburgo, Alemania, escribe que "los resultados de Tsai y sus colegas proveen de objetos potenciales para el diagnóstico o la terapia. Estos podrían venir ya sea a nivel del clivaje de p35 o a nivel de la inhibición de Cdk5 y la terapia debiera ser posible con el desarrollo de inhibidores altamente específicos".

Tsai concuerda, afirmando que la proteasa podría ser un excelente objeto para el uso de drogas destinadas a bloquear la formación de los nudos neurofibrilares.

"Mientras que muchos investigadores han considerado el uso de drogas para bloquear Cdk5, la enzima es absolutamente esencial para el normal funcionamiento neuronal" dijo Tsai. "Sin embargo, la posibilidad de bloquear a la misma p25 o a la proteasa que la produce, hace que ambas puedan ser objetos de una terapia con drogas, más benigna y efectiva, para la enfermedad de Alzheimer".

Los investigadores también están buscando cualquier posible conexión entre la formación de p25 y de las placas amiloideas grupos fibrosos de proteínas y restos neuronales presentes en el tejido cerebral que son característicos de la enfermedad de Alzheimer. Con el descubrimiento de tales conexiones se podría empezar a relacionar el mecanismo de formación de las placas y de los

nudos neurofibrilares que se piensa son las dos mayores causas de la muerte de las células cerebrales en la enfermedad de Alzheimer.