

Saccharomyces cerevisiae como modelo para el estudio de la enfermedad de Alzheimer

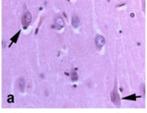


Marta Valenti Sanguino. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer: mecanismos moleculares¹

El Alzheimer es la enfermedad neurodegenerativa más frecuente en la población actualmente. Se caracteriza por la aparición en el sistema nervioso central de placas neuríticas seniles extracelulares y ovillos neurofibrilares intracelulares, entre los cuales debe existir una relación. Estos agregados proteicos van a llevar a una grave atrofia cerebral.



Los ovillos neurofibrilares están formados por la proteína tau hiperfosforilada debido a un desequilibrio en la actividad de quinasas y fosfatasa.

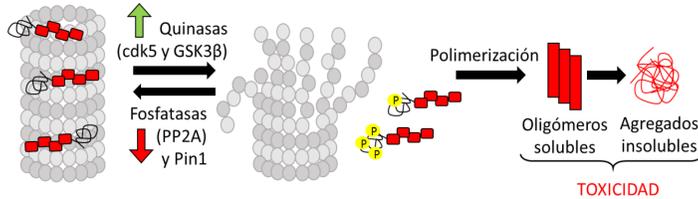
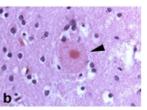


Figura 1. Hiperfosforilación de la proteína tau



Las placas neuríticas seniles están formadas por el péptido Aβ (isoforma Aβ42), que se forma a partir de la proteína precursora amiloide a través de la ruta amiloidogénica.

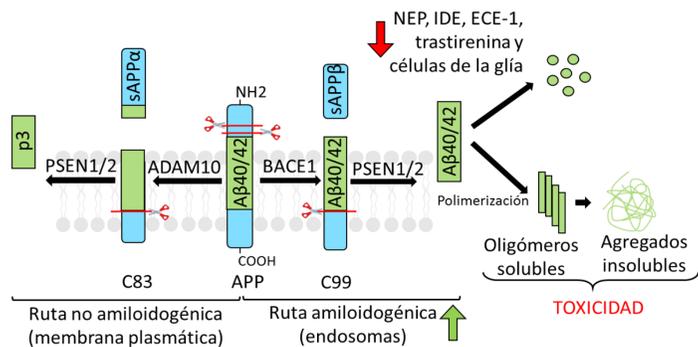
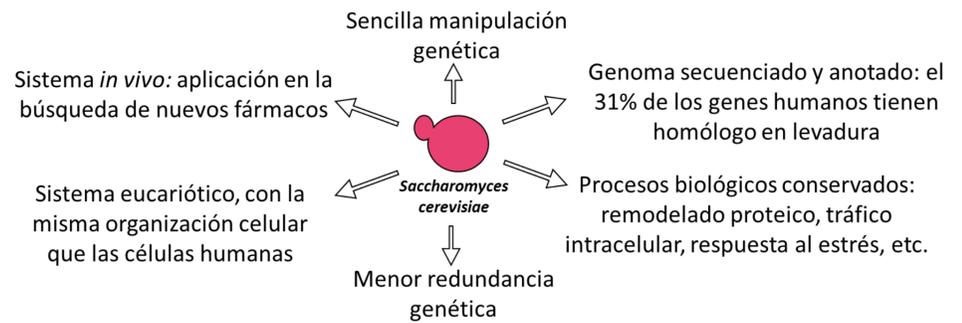


Figura 2. Procesamiento de APP a través de las rutas amiloidogénica y no amiloidogénica

S. cerevisiae como modelo para el estudio de enfermedades humanas²



OBJETIVOS

- 1 Conocer las aportaciones realizadas por los diferentes modelos de Alzheimer en *S. cerevisiae*.
- 2 Determinar las ventajas/limitaciones de esta aproximación.
- 3 Estudiar el impacto y posibles aplicaciones futuras de estos modelos de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica basada en: PubMed, biblioteca de la Universidad Complutense de Madrid, Uniprot, *Saccharomyces Genome Database* (SGD) y el programa BLAST del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Modelos en *S. cerevisiae* de la cascada β-amiloide

A **Expresión APP**

Prepro factor α + APP sin péptido señal

- Yapsinas (aspartil proteasas): actividad α-secretasa³.
- Pmt4: modificaciones postraduccionales de O-manosilación³.

B **Toxicidad extracelular del péptido Aβ**

Péptido Aβ + HFIP/NH₄OH

- Preparación con HFIP: se forman oligómeros y fibras con efectos tóxicos⁴.
- Preparación con NH₄OH: la agregación es más lenta y no tiene efectos tóxicos⁴.

C **Reconstrucción γ-secretasa**

GAL10-LacZ-HIS3-ADE2

- Los 4 componentes de la γ-secretasa (PS1/2, Nct, APH-1 y PEN1) son necesarios para su funcionamiento³.
- APH-1 forma un complejo ternario con Nct y PS1/2³.
- Los dobles mutantes de PS1 que comparten la mutación S438P no necesitan Nct para crecer³.

D **Reconstrucción β-secretasa**

Sacarosa → Glucosa + fructosa + Galactosa

Suc2 + APP + BACE1 + AG

- Los dos dominios catalíticos de BACE1 son necesarios para su actividad³.
- Útil en *screenings* farmacológicos³.

Modelos en *S. cerevisiae* de la proteína tau

G **Expresión de tau**

Ess1/PPA2 (AT180 y PT321) / Mds1-Pho85 (AD2) (PG5)

(Tau1) S198/199/202 / (S231) S235

(P) 1 / (P) 244 / (P) 368 / (P) 404 / (P) 409 / (P) 441

NH₂ ————— COOH

Dominios de unión a tubulina

- Tau no tiene efectos tóxicos porque no interacciona con la tubulina de la levadura¹⁰.
- Mds1, Pho85 y Ess1 (homólogos en levadura de GSK3β, Cdk5 y Pin1 respectivamente) afectan a la fosforilación de la proteína¹⁰.
- El estrés oxidativo favorece la agregación de tau independientemente del estado de fosforilación¹⁰.
- La isoforma 4R tiene mayor tendencia a formar agregados¹⁰.

Aplicaciones y limitaciones de los modelos de Alzheimer en *S. cerevisiae*

Aplicaciones

- Estudio de los mecanismos moleculares de la enfermedad.
- Búsqueda de nuevos compuestos con posible aplicación farmacológica.
- *Screenings* de colecciones de sobreexpresión y delección para identificar nuevas interacciones.

Otras levaduras

- *Kluyveromyces lactis*
- *Schizosaccharomyces pombe*
- *Pichia pastoris*

Limitaciones

- Son sistemas unicelulares.
- No existe respuesta inmune inflamatoria.
- Algunos de los receptores o dianas de la proteína tau y el péptido Aβ pueden no tener homólogo en levadura.
- Existen diferencias en modificaciones postraduccionales.
- El uso de codones, el fondo genético y los niveles de expresión pueden influir en los resultados.

E **Toxicidad intracelular del péptido Aβ (internalización en la ruta secretora)**

Secuencia señal Kar2 + Péptido Aβ

Prepro factor α + Péptido Aβ + GFP

- Efecto tóxico mayor frente a la expresión citoplasmática: alteración de la cadena respiratoria, estrés oxidativo⁵, activación de la respuesta frente a proteínas mal plegadas del retículo endoplásmico⁶, inhibición del proteasoma⁷, y alteración de la síntesis de lípidos⁶.
- Útil en *screenings* farmacológicos⁷.
- YAP1802 (homólogo en levadura de PICALM): relación con Alzheimer⁷.

F **Toxicidad intracelular del péptido Aβ (expresión citosólica)**

Péptido Aβ + MRF

Formación de agregados → ADE1-14

No hay formación de agregados → ADE1-14

Péptido Aβ + GFP

- Se induce la respuesta de choque térmico³ y afecta a: funcionamiento mitocondrial, metabolismo de fosfolípidos, regulación de la transcripción/traducción y biosíntesis de inositol⁸.
- Residuos 19, 20 y 31 → interacción entre monómeros del péptido Aβ³.
- Chaperona Hsp104, YAP1802 → relación con la formación de placas amiloides^{3,9}.
- Útil en *screenings* farmacológicos³.

CONCLUSIONES

- 1 *S. cerevisiae* ha ayudado a conocer los mecanismos moleculares de la enfermedad de Alzheimer, a buscar nuevas posibles dianas y compuestos para su tratamiento.
- 2 La principal ventaja de estos modelos es que son sistemas *in vivo* de tipo eucariótico, en los que muchas rutas y proteínas relacionadas con el Alzheimer están conservadas. Pese a ello todos los resultados deben confirmarse en células de mamífero y animales de experimentación por las diferencias existentes entre levaduras y neuronas.
- 3 Las levaduras se han consolidado como modelo de diversas enfermedades humanas y en un futuro podrán contribuir a una mejor comprensión de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Ingelsson M, Hyman BT. The Molecular Basis of Alzheimer's Disease. *Molecular Neurology*. 2007; 241-255.
2. Khurana V, Lindquist S. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11:436-49.
3. Bharadwaj P, Martins R, Macreadie I. *FEMS Yeast Res*. 2010;10:961-9.
4. Moosavi B, Mousavi B, Macreadie IG. *J Alzheimers Dis*. 2015;47:9-16.
5. França MB, Lima KC, Eleutherio EC. *J Cell Biochem*. 2017;118:1442-1452.
6. Chen X, Bisschops MMM, Agarwal NR, Ji B, Shanmugavel KP, Petranovic D. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:232.
7. Fruhmant G, Seynnaeve D, Zheng J, Ven K, Molenberghs S, Wilms T *et al*. *Mech Ageing Dev*. 2017;161:288-305.
8. Nair S, Traini M, Dawes IW, Perrone GG. *Mol Biol Cell*. 2014;25:2235-49.
9. Park SK, Ratia K, Ba M, Valencik M, Liebman SW. *Microb Cell*. 2016;3:53-64.
10. De Vos A, Anandhakumar J, Van den Brande J, Verduyck M, Franssens V, Winderickx J *et al*. *Int J Alzheimers Dis*. 2011;2011:428970.