

Nuevas aproximaciones para la comprensión de la enfermedad de Alzheimer

New approaches to understanding Alzheimer disease

John Fredy Castro-Álvarez PhD¹, Gloria Patricia Cardona-Gómez PhD²

Resumen: La enfermedad de Alzheimer es la causa de demencia senil más común en el mundo. Los marcadores histopatológicos asociados a la enfermedad son la acumulación extracelular de los péptidos β -amiloides y la intracelular de la proteína tau hiperfosforilada. La fosforilación de la proteína tau es regulada por múltiples quinasas y fosfatasa, y del equilibrio entre éstas depende su adecuada función o su agregación. La quinasa dependiente de ciclina 5 es una de las principales quinasas implicadas en la fosforilación de la proteína tau; tiene una acción directa sobre diversos residuos y participa en la regulación de diferentes sustratos para el funcionamiento correcto de la neurona; sin embargo, en condiciones alteradas puede desencadenar la enfermedad de Alzheimer. Así mismo, alteraciones que lleven a la agregación de proteínas o fallas en las vías de degradación de éstas en la célula, como el sistema ubiquitina-proteasoma y la autofagia, pueden facilitar el desarrollo de la enfermedad. La búsqueda de estrategias terapéuticas eficaces para los pacientes con la enfermedad de Alzheimer debe intentar unificar los mecanismos patogénicos de la enfermedad desde la complejidad que representa un proceso crónico y multifactorial.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, demencia, péptidos beta-amiloides, proteínas tau, quinasa 5 dependiente de la ciclina.

Abstract: Alzheimer disease is the most common cause of dementia in the world. The major histopathological markers associated with the disease are the accumulation of extracellular amyloid β -peptides and the accumulation of intracellular hyperphosphorylated tau protein. Multiple kinases and phosphatases can regulate tau phosphorylation, and the adequate function or aggregation depends on the balance between these enzymes. Cyclin-dependent kinase 5 is one of the major kinases involved in tau phosphorylation. This kinase has a direct action by phosphorylating various residues, and participates in the regulation of a variety of substrates for proper neuron function; however, dysregulation conditions can trigger Alzheimer disease. As well, changes in the cell that leading to protein aggregation or failure in their degradation pathways, such as the ubiquitin-proteasome system and autophagy, can facilitate the development of the disease. The search of effective treatment strategies for patients with Alzheimer disease should try to unify the pathogenic mechanisms from within complexity of this chronic and multifactorial condition.

Key words: Alzheimer disease, dementia, amyloid beta-peptides, tau proteins, cyclin-dependent kinase 5.

Castro-Álvarez JF, Cardona-Gómez GP. Nuevas aproximaciones para la comprensión de la enfermedad de Alzheimer. *Medicina & Laboratorio* 2014; 20: 337-356.

¹Microbiólogo y Bioanalista, MSc en Biología, PhD en Biología. Grupo de Investigación en Patología Clínica. Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia. e-mail: idi@lch.co

²Bióloga, PhD en Ciencias Biológicas. Coordinadora Área de Neurobiología celular y molecular, Grupo de Neurociencias de Antioquia, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Conflicto de intereses: los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.
Medicina & Laboratorio 2014; 20: 337-356

Módulo 3 (Genética), número 6. Editora Médica Colombiana S.A. 2014[©]

Recibido el 11 de julio de 2014; aceptado el 02 de agosto de 2014

Las enfermedades neurodegenerativas son un problema creciente en la población senil, entre ellas, la enfermedad de Alzheimer representa la causa más común de demencia en personas mayores de 65 años. Aproximadamente 20 millones de personas en el mundo se encuentran afectadas por la enfermedad de Alzheimer esporádica; específicamente, en Colombia hay alrededor de mil portadores de la mutación de inicio precoz E280A, descrita en el departamento de Antioquia [1]. La enfermedad de Alzheimer es caracterizada por el plegamiento anormal y la acumulación de los péptidos β -amiloides y de la proteína tau hiperfosforilada, que favorecen la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, que causan atrofia cerebral con marcadas alteraciones cognitivas a medida que avanza la enfermedad [2,3].

La enfermedad de Alzheimer está caracterizada por dos proteinopatías: la amiloidopatía, producto del corte anormal de la proteína precursora amiloide, que da lugar a la acumulación de los péptidos β -amiloides en las placas seniles o amiloideas, y la taupatía, debida a la hiperfosforilación y agregación de la proteína tau (ver figura 1). La proteína tau está asociada a microtúbulos; cuando es fosforilada de forma anormal se disocia y se agrega formando filamentos helicoidales pareados y, posterior a ello, estructuras denominadas ovillos neurofibrilares. Estas dos proteinopatías generan una pérdida de la homeostasis celular y tisular durante el proceso neuropatológico de la enfermedad de Alzheimer, que conduce a una degeneración neuronal progresiva y a la pérdida de las funciones cognitivas del paciente [2].

El Alzheimer es una demencia senil que se manifiesta inicialmente en el lóbulo temporal, en la zona del giro dentado del hipocampo, por lo que se ha relacionado con problemas en la consolidación de la memoria a corto plazo. Posteriormente, se ve afectado el lóbulo parietal, lo que altera los procesos de visualización espacial o genera la pérdida del conocimiento de hábitos; y, finalmente, el lóbulo frontal, lo que puede producir problemas en la conducta social (ver figura 1). La enfermedad de Alzheimer se puede clasificar de acuerdo con la edad de aparición como presenil o de inicio precoz, la cual aparece antes de los 65 años, o senil o de inicio tardío, cuando aparece después de los 65 años. Con base en la presencia o ausencia de antecedentes familiares de la enfermedad se clasifica como enfermedad de Alzheimer familiar o como enfermedad de Alzheimer esporádica; sin embargo, estas clasificaciones no son mutuamente excluyentes [3,4].

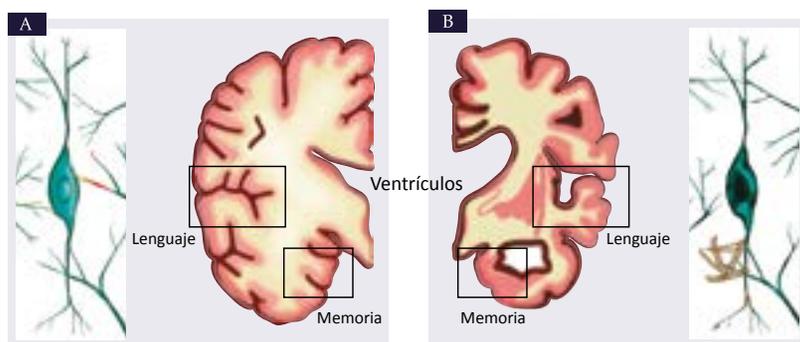


Figura 1. Alteraciones neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer. **A.** Esquema de un hemisferio cerebral y un ambiente neuronal normal, como se observa en los individuos sanos. **B.** Esquema de un hemisferio cerebral con pérdida de las neuronas por la enfermedad de Alzheimer, principalmente en las zonas asociadas a la memoria y el lenguaje, en la que la taupatía y la amiloidosis son factores determinantes de la muerte neuronal.

El avance de la genética ha demostrado la importancia de varios cromosomas en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Los cromosomas 1, 14 y 21 se asocian a formas familiares de inicio precoz, mientras que las formas de inicio tardío aparecen ligadas al cromosoma 19 (ver [tabla 1](#)); no obstante, la mayoría de los casos de la enfermedad de Alzheimer no son explicados genéticamente. Para estos casos se han planteado distintas hipótesis, entre las que cabe señalar las que inciden en los aspectos genéticos, las que sugieren la existencia de posibles agentes infecciosos no identificados o el efecto de tóxicos ambientales o endógenos desconocidos. La influencia de todos estos factores incrementa el riesgo de padecer la enfermedad en cualquier momento de la vida [5].

Tabla 1. Causas de la enfermedad de Alzheimer

	Casos (%)
1. Enfermedad de Alzheimer esporádico: por agentes infecciosos, tóxicos ambientales o endógenos	~ 75
2. Enfermedad de Alzheimer familiar	~ 25
Enfermedad de Alzheimer familiar de inicio tardío:	15 - 25
▪ Alelo épsilon 4 de la Apolipoproteína E (cromosoma 19)	
Familiar de inicio temprano:	< 2
▪ Mutaciones en la presenilina 1 (cromosoma 14)	
▪ Mutaciones en la presenilina 2 (cromosoma 1)	
▪ Mutaciones en la proteína precursora amiloide (cromosoma 21)	
3. Aberraciones cromosómicas (síndrome de Down)	< 1
<i>Tomado y modificado de [6]</i>	

Péptidos β -amiloides

La mayoría de los trabajos realizados sobre la enfermedad de Alzheimer se basan en los descubrimientos bioquímicos y neurobiológicos que sustentan la hipótesis de la cascada amiloide. Varios estudios han demostrado que el procesamiento normal de la proteína precursora amiloide se realiza por una proteasa conocida como la α -secretasa, la cual realiza un corte en esta proteína que libera un fragmento extracelular soluble de 695 aminoácidos. Posteriormente, la parte que queda integrada en la membrana es procesada mediante la acción de una segunda enzima, la γ -secretasa, que libera la porción del carboxilo terminal de la proteína. Esta vía es conocida como la vía no amiloidogénica, debido a que la acción de la α -secretasa previene la formación del péptido β -amiloide, y por tanto, la generación de los depósitos (ver [figura 2](#)) [2,3].

Por otro lado, en la vía amiloidogénica, una parte de la proteína precursora amiloide es procesada de manera diferente. Otra enzima, denominada β -secretasa, corta a la proteína precursora amiloide produciendo la liberación de un fragmento carboxilo terminal más largo, que tras ser procesado por la γ -secretasa libera los péptidos β -amiloides [7]. Estos péptidos tienen una solubilidad limitada y forman autoagregados que constituyen las fibrillas insolubles que se encuentran en las placas seniles. La acción de la β -secretasa y la γ -secretasa produce diversos tipos de péptidos; la forma más común, relativamente soluble, tiene 40 aminoácidos (β -amiloide 40), mientras que las formas menos solubles tienen una longitud de 42 ó 43 residuos (β -amiloide 42) (ver [figura 2](#)) [7].

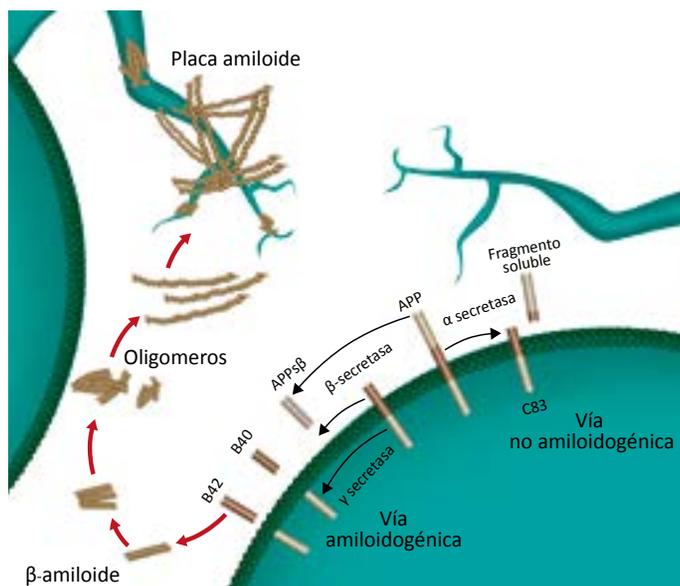


Figura 2. Esquema de la vía no amiloidogénica y de la vía amiloidogénica. La proteína precursora amiloide (APP) puede ser procesada inicialmente por la α-secretasa o por la β-secretasa, siendo el corte por la β-secretasa y posteriormente por la γ-secretasa, factores determinantes para la formación del péptido β-amiloide, y la posterior acumulación y formación de las placas amiloides.

En la enfermedad de Alzheimer, como consecuencia de la agregación de las placas amiloides y del proceso neuroinflamatorio que éstas producen, se ha descrito la formación de ovillos neurofibrilares [4], los cuales son causados por un aumento anormal de la fosforilación de la proteína tau, asociada a microtúbulos y neurofilamentos, que evita su ensamblaje y estabilización, procesos que son importantes para el crecimiento axonal y el transporte a través de éste [8]. La proteína tau es fosforilada por diferentes quinasas que regulan su unión al citoesqueleto neuronal y su función. Un aumento de la fosforilación (hiperfosforilación) de la proteína tau puede llevar a una pérdida de la función, que impide la unión o induce el desprendimiento de los microtúbulos y su acumulación en el citoplasma, lo que conduce a la formación de filamentos helicoidales pareados, posteriormente, a la acumulación extracelular en los ovillos neurofibrilares y, finalmente, al deterioro cerebral [4,9].

Durante los últimos años se ha cuestionado el papel central del β-amiloide en la enfermedad de Alzheimer; por una parte se postula que la sobreproducción del péptido β-amiloide se relaciona con el origen de la enfermedad, debido a la producción de los ovillos neurofibrilares como resultado de la presencia de los péptidos β-amiloides [10,11]; pero por otra, con base en las demencias sin placas seniles y la demencia acompañada de parkinsonismo unida al cromosoma 17 o la demencia de tipo frontotemporal, se sugiere que la hiperfosforilación de la proteína tau y su posterior deposición es la responsable final de la neurodegeneración [12,13]. Aunque ambos postulados hacen parte de las posibles explicaciones del fenómeno de neurodegeneración, sólo el estudio continuo del contexto particular de la enfermedad de Alzheimer llevará a la identificación de las vías de acción y sus posibilidades terapéuticas.

A pesar del amplio conocimiento que se tiene sobre la enfermedad de Alzheimer, permanece incurable; no obstante, existen avances recientes que sugieren diferentes blancos terapéuticos y con ellos, nuevas aproximaciones sobre el desarrollo de la enfermedad [14-16]. Por esta razón, desde hace más de 10 años el Grupo de Neurociencias de la Universidad de Antioquia ha trabajado en nuevas aproximaciones terapéuticas, desde la investigación básica y aplica-

da, evaluando algunas proteínas centrales de la enfermedad de Alzheimer vinculadas a los procesos patogénicos, como es el caso de la quinasa dependiente de ciclina 5 y su rol en la hiperfosforilación de la proteína tau, así como la participación de las vías de degradación de proteínas en la patogénesis de la enfermedad y su posible resolución, las cuales se describirán con mayor detalle a continuación.

Proteína tau

La proteína tau fue descubierta en 1975 como un regulador importante del ensamblaje de la tubulina, para la formación de los microtúbulos en las células [17,18]. Esta proteína se encuentra ubicada en el cromosoma 17 humano, con un tamaño aproximado de 100 Kb con 16 exones, se localiza principalmente en el cerebro y posee seis isoformas identificadas en el sistema nervioso central, cada una con dos dominios: el dominio de proyección en el amino terminal y el dominio de unión a microtúbulos en el carboxilo terminal. Por su parte, el dominio de proyección se divide en una región rica en residuos ácidos y otra rica en prolina, y el dominio de unión a microtúbulos se divide en la región básica, región de unión a tubulina y la región ácida [8,19].

La proteína tau se caracteriza por fosforilarse fácilmente, lo que permite su movilidad dentro de la neurona. Cuando la proteína tau es fosforilada en las regiones ricas en prolina se distribuye en los compartimientos somatodendríticos; cuando estas regiones son defosforiladas se encuentra en la parte distal de los axones, en el mismo sitio en el que se localiza cuando es fosforilada en la región carboxilo terminal [8,20,21]. Los sitios de fosforilación de la proteína tau se dividen en dos: los que pueden ser modificados por quinasas de serina/treonina seguidas de prolina, como la quinasa dependiente de ciclina 5, la quinasa glicógeno sintetasa 3, la proteína quinasa activada por mitógenos y la quinasa c-Jun N-terminal; y las no dirigidas a prolina, como la quinasa reguladora de afinidad a microtúbulos, la proteína quinasa A, la proteína quinasa C y la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II [8,22-25]. De acuerdo con el patrón de fosforilación establecido por las diferentes quinasas, se regulan las distintas funciones de la proteína tau en el espacio celular.

La participación de la proteína tau en la célula está dirigida al establecimiento de la dinámica de la formación de los microtúbulos y la estabilidad de los mismos en la célula (ver [figura 3](#)) [21,23,26]; además, se ha vinculado con la formación de extensiones citoplasmáticas, el transporte axonal y la protección frente a compuestos deletéreos para la célula, debido a su asociación a los microtúbulos [27-30]. En ratones deficientes para la proteína tau se ha identificado la disminución en el número de microtúbulos, axones de calibre pequeño, espasmos musculares y alteraciones en el comportamiento, aunque se ha visto que la proteína asociada a microtúbulos 2 puede compensar parcialmente la deficiencia de la proteína tau [27].

En la enfermedad de Alzheimer y en otras taupatías, como la parálisis supranuclear progresiva, la demencia acompañada de parkinsonismo unida al cromosoma 17 o la demencia de tipo frontotemporal, se produce un fenómeno de hiperfosforilación o de fosforilación anormal de la proteína tau, responsable de un conjunto de alteraciones que pueden llevar a la degeneración neuronal, la afectación del transporte axonal, la alteración de la función mitocondrial y lisosomal y la de otras funciones asociadas a los microtúbulos [8,31]. Como resultado de la acción anormal de las quinasas, la proteína tau se disocia de los microtúbulos y se acumula

en el citosol, en paquetes de fibras anormales de filamentos pares en forma de hélices, denominados filamentos helicoidales pareados, los cuales a su vez se agregan formando los ovillos neurofibrilares (ver [figura 3](#)) [9,32,33]. Las condiciones que facilitan la agregación y la formación de estas estructuras aún se desconocen, lo que hace de vital importancia realizar estudios del contexto celular implicado en este fenómeno.

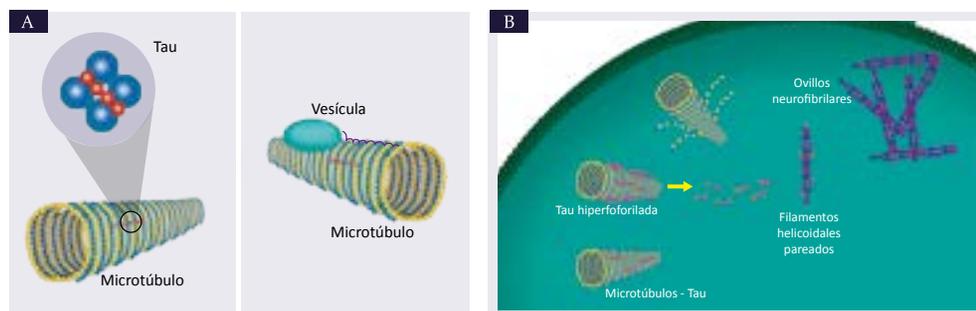


Figura 3. La proteína tau normal y la agregación del tau hiperfosforilado. **A.** La proteína tau en condiciones normales desempeña un papel esencial en la dinámica de la polimerización y despolimerización de los microtúbulos en la neurona y el transporte de vesículas en el interior de la célula. **B.** La hiperfosforilación de la proteína tau induce el desprendimiento de la proteína tau y su posterior agregación en ovillos neurofibrilares.

Quinasa dependiente de ciclina 5 (Cdk5)

La familia de quinasas dependientes de ciclinas es un grupo de proteínas implicadas en la regulación de la replicación del ADN y la división celular, en el control de la transición de las fases G1 a S y de G2 a M. En el humano se han descrito 10 miembros de esta familia, cuya función está regulada por la unión de una ciclina a una quinasa, a la cual activa fosforilando sus residuos de serina/ treonina dirigidos por prolina. Uno de los miembros de esta familia es la quinasa dependiente de ciclina 5, que posee un 60% de homología con la quinasa dependiente de ciclina 2, pero tiene una escasa participación en la regulación del ciclo celular, es altamente conservada entre especies, su expresión es predominante en el sistema nervioso y su función no es regulada por ciclinas [34,35].

La participación de la quinasa dependiente de ciclina 5 en el sistema nervioso se ha descrito en el crecimiento neurítico, la guía axonal, la migración neuronal, la secreción, la dinámica del citoesqueleto, la señalización dopaminérgica, la diferenciación neuronal, la transmisión sináptica, la supervivencia neuronal y la apoptosis, entre otras funciones que aún se encuentran en estudio (ver [figura 4](#)) [35]. La quinasa dependiente de ciclina 5 está relacionada con los macrocomplejos moleculares implicados en el transporte intracelular, con vías de señalización diferentes y con un número amplio de sustratos identificados que se relacionan con las funciones antes mencionadas [35]. Un porcentaje alto de ratones con deficiencia de la quinasa dependiente de ciclina 5 mueren en el útero; los embriones que nacen no alcanzan los 10 días de vida posparto y los análisis *post mortem* de éstos muestran una pronunciada alteración en la formación de las capas corticales, hipocampales y cerebelares, lo que demuestra que la quinasa dependiente de ciclina 5 es esencial para el desarrollo neuronal [36,37].

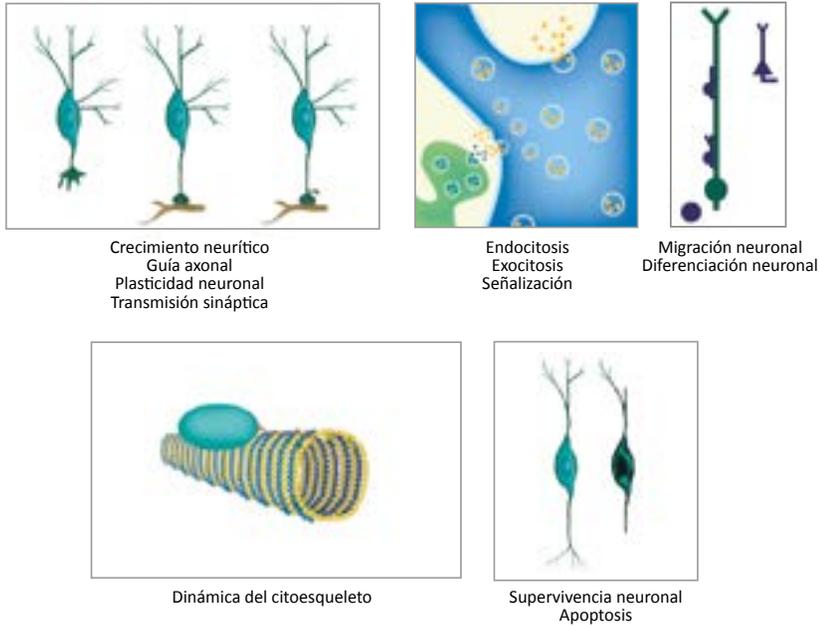


Figura 4. Representación esquemática de las funciones de la quinasa dependiente de ciclina 5.

La expresión de la quinasa dependiente de ciclina 5 se ha encontrado en diferentes órganos [38], con mayor expresión en el cerebro en desarrollo y en el sistema nervioso adulto. De igual forma, las proteínas activadoras neuronales de la quinasa dependiente de ciclina 5, la p35 y la p39, se han encontrado especialmente en el cerebro, y a pesar de que no son ciclinas y cuentan con una homología muy baja, su estructura plegada es bastante similar a la de estas moléculas implicadas en el ciclo celular [35,39-42]. La quinasa dependiente de ciclina 5 puede ser activada por las proteínas p35 o p39, proteínas que presentan una homología del 57% entre sí y que tienen una expresión temporal y espacial diferente en las neuronas en desarrollo respecto a las adultas [39,41,42]. Aun así, los ratones deficientes de las proteínas p35 o p39 por separado, no equiparan el fenotipo de ratones deficientes de la quinasa dependiente de ciclina 5, lo que sí sucede cuando se tiene un ratón deficiente para ambos activadores, posiblemente porque la presencia de un activador puede subsanar la ausencia del otro [41].

La diferenciación neuronal, caracterizada por el crecimiento dendrítico, la formación del axón y el establecimiento de la sinapsis, se encuentra asociada a una amplia variedad de sustratos de la quinasa dependiente de ciclina 5, los cuales modulan el citoesqueleto por intermedio de los filamentos de actina, los neurofilamentos y los microtúbulos, para la formación del cono de crecimiento y la extensión/retracción neurítica [43]. La inhibición de la quinasa dependiente de ciclina 5 en cultivos primarios de corteza impide el crecimiento neurítico. Así mismo, se ha encontrado la participación de la p35 y la p39 en los conos de crecimiento, al igual que la asociación de la quinasa dependiente de ciclina 5 con los miembros de la familia Rho/Rac GTPasa (del inglés *Ras-homologous/Ras-related C3 botulinum toxin substrate guanosine triphosphatases*) [41,44-46], que regulan la polimerización/despolimerización de la actina [47].

La quinasa dependiente de ciclina 5 también se ha asociado con neurofilamentos y microtúbulos; los primeros corresponden a filamentos intermedios asociados con la dinámica de la actina, los microtúbulos y la formación del axón, y los segundos a polímeros de tubulina que, al igual que los neurofilamentos, mantienen la forma celular, pero además se encuentran asociados al transporte intracelular junto con las proteínas motoras dineína y quinesina. La regulación del funcionamiento de los neurofilamentos y los microtúbulos por la quinasa dependiente de ciclina 5 se produce por la fosforilación directa de los neurofilamentos o de las proteínas asociadas a microtúbulos, como la proteína asociada a microtúbulos 2, la proteína asociada a microtúbulos 1b y la proteína tau, las cuales al ser fosforiladas inducen la formación y estabilidad de los microtúbulos (ver [figura 5](#)). Además, la quinasa dependiente de ciclina 5 regula la proteína Nudel, que está relacionada con la actividad motora de la dineína [37,48-50].

El balance en la activación de la quinasa dependiente de ciclina 5 y la fosforilación de los diferentes sustratos es clave para el desempeño adecuado de la red neuronal, la sinapsis y la plasticidad neuronal; las alteraciones que puedan afectar este balance se han relacionado con condiciones patológicas como la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Parkinson y la isquemia cerebral, entre otras [35]. El desequilibrio de la función de la quinasa dependiente de ciclina 5 está asociado con la alteración del citoesqueleto, la inducción de apoptosis, el aumento en el ingreso de calcio dependiente del receptor NMDA (del inglés *N-methyl-D-aspartic acid*) y la pérdida de la homeostasis celular, producto de la hiperfosforilación de los diferentes sustratos de la quinasa dependiente de ciclina 5 [2,35,51-53].

En la enfermedad de Alzheimer se ha descrito que el corte anómalo de los activadores p35 y p39 produce la sobreactivación de la quinasa dependiente de ciclina 5, que puede llevar a la hiperfosforilación de la proteína tau. En condiciones normales, cuando la quinasa dependiente de ciclina 5 es activada, fosforila a p35, y posiblemente a p39, para facilitar la degradación dependiente del proteasoma de ambos activadores, lo que permite regular su propio tiempo de activación [31,54,55]. En un proceso patológico como la enfermedad de Alzheimer la activación de las proteasas dependientes de calcio m-calpaína o μ -calpaína puede generar un corte de los activadores p35 y p39, que da origen a las proteínas p25 y p29, respectivamente, las cuales actúan también como activadores de la quinasa dependiente de ciclina 5, pero poseen una mayor estabilidad e inducen una activación más prolongada [55-57]. Esta sobreactivación de la quinasa dependiente de ciclina 5 lleva a la hiperfosforilación de sus diferentes sustratos, en este caso de la proteína tau, y por tanto, a la formación de filamentos helicoidales pareados, la posterior formación de ovillos neurofibrilares, que producen la alteración del citoesqueleto y el transporte intracelular, lo que conduce a las neuronas al proceso neurodegenerativo (ver [figura 5](#)) [54,58].

A pesar de las evidencias que relacionan a la quinasa dependiente de ciclina 5 con la hiperfosforilación de la proteína tau, aún no se cuenta con un consenso sobre su participación en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer; no obstante, se conocen algunos sitios de fosforilación de la proteína tau en los que la quinasa dependiente de ciclina 5 puede actuar y que están implicados en la formación de los filamentos helicoidales pareados [24,59]. Además, se ha encontrado mayor inmunoreactividad de la quinasa dependiente de ciclina 5 en neuronas que comienzan la formación de los ovillos neurofibrilares en comparación con neuronas que tienen los ovillos neurofibrilares maduros [60]. Diferentes estudios con compuestos que favorecen la sobreactivación de la quinasa dependiente de ciclina 5 por aumento del ingreso

de calcio a la célula, como el glutamato, NMDA, β -amiloide e ionóforo de calcio, y la sobreexpresión inducida de la p35, la p25 y la quinasa dependiente de ciclina 5, dan evidencias contundentes de la participación de la quinasa dependiente de ciclina 5 en la hiperfosforilación de la proteína tau y la formación de los ovillos neurofibrilares [24,52,54,55,58,61-64], siendo posiblemente la contribución de la quinasa dependiente de ciclina 5 en la enfermedad de Alzheimer dependiente del contexto celular, pero sin lugar a duda, uno de los factores implicados en su avance.

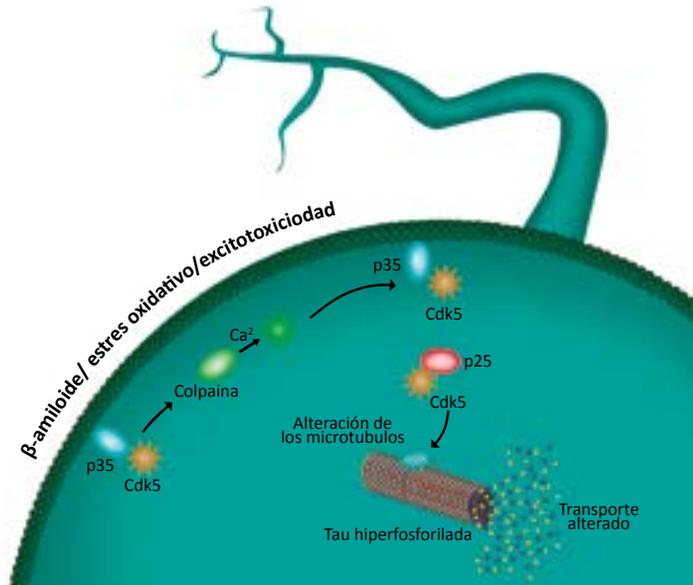


Figura 5. La quinasa dependiente de ciclina 5 y su rol en la enfermedad de Alzheimer. Factores externos como la acumulación de los péptidos β -amiloides, la liberación de glutamato (excitotoxicidad) y el estrés oxidativo, entre otros, pueden producir un aumento del calcio intracelular, que genera el corte de los activadores de la quinasa dependiente de ciclina 5, como la proteína p35, y la sobreactivación de esta quinasa implicada en la hiperfosforilación de la proteína tau y en el daño en los microtúbulos, lo que desencadena la muerte neuronal.

En el Área de Neurobiología celular y molecular del Grupo de Neurociencias de la Universidad de Antioquia se ha validado la utilización *in vitro* e *in vivo* de un ARN de interferencia dirigido contra la proteína quinasa dependiente de ciclina 5 como una aproximación terapéutica, el cual puede disminuir los niveles de la quinasa dependiente de ciclina 5 y revertir la agregación de la proteína tau en cultivos de neuronas expuestas a un estímulo excitotóxico y en un modelo de ratón triple transgénico que presenta los marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer [65]. Además, se ha evaluado la eficacia terapéutica del silenciamiento de la quinasa dependiente de ciclina 5 en ratones que desarrollan la enfermedad de Alzheimer, encontrando mejorías en el desempeño cognitivo a corto y largo plazo, reversión de los marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer y modulación de las vías de degradación asociadas a la agregación de la proteína tau y de los péptidos β -amiloides [66,67].

Neurodegeneración y degradación de proteínas

Los agregados proteicos forman parte de muchas enfermedades neurodegenerativas incluyendo la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson, de Huntington y las enfermedades prió-

nicas, las cuales se caracterizan por poseer depósitos de proteínas mal plegadas que son resistentes a la degradación [68,69]. En cerebros *post mortem* es frecuente encontrar proteínas agregadas, como las placas amiloideas, los ovillos neurofibrilares, los cuerpos de Lewy, las proteínas priónicas y los cuerpos de inclusión de poliglutaminas [68,70]. Hoy en día se conoce que los mayores complejos proteolíticos en las células son el proteasoma y los lisosomas [68,70-72] y, que estos sistemas pueden presentar fallas en la señalización, en el transporte de las proteínas agregadas a los complejos de degradación o en los mecanismos enzimáticos necesarios para el proceso de degradación [72-74]; sin embargo, hace falta mayor investigación para determinar cuáles y de qué forma participan las alteraciones en los mecanismos de degradación celular en cada enfermedad, en este caso en la enfermedad de Alzheimer.

El sistema ubiquitina-proteasoma

La ubiquitina es una proteína de 76 aminoácidos, altamente conservada en las células eucariotas, que participa en la modificación postraduccional conocida como ubiquitilación, en la cual se marcan las proteínas a degradar formando una unión isopeptídica entre un residuo de lisina de la proteína y el carboxilo terminal de la ubiquitina [75,76]. El sistema ubiquitina-proteasoma es la maquinaria celular que participa en la degradación, regulación o determinación de la vida media de las proteínas intracelulares. El sistema ubiquitina-proteasoma reconoce proteínas poliubiquitiladas y degrada proteínas nativas plegadas utilizando adenosín trifosfato (ATP). En el proceso de ubiquitilación y presentación al proteasoma participa un grupo de enzimas conocidas como enzima 1, 2, 3 y 4 [77,78], donde las enzimas 3 y 4 son altamente específicas de sustrato, lo que le confiere alta especificidad al proceso de degradación.

Una de las principales funciones del proteasoma es realizar el control de calidad durante el procesamiento de las proteínas, el correcto plegamiento de las mismas y la adecuada interacción proteína-proteína y membrana-proteína. Cuando se presentan alteraciones en alguno de estos procesos, las proteínas son retiradas del ambiente nativo para ser degradadas vía proteasoma (ver [figura 6](#)). Esta función depende de enzimas conocidas como chaperonas, encargadas de vigilar el correcto procesamiento de las proteínas y, en caso de encontrar alteraciones, presentar el polipéptido alterado al proteasoma para su degradación [79]. Las proteínas de choque térmico son chaperonas fundamentales en la vigilancia de las proteínas nativas y la protección en condiciones de estrés celular, como las temperaturas altas, las toxinas, la hipoxia, la carencia de nutrientes y la inflamación, entre otras. La proteína de choque térmico 90 (hsp90, del inglés *heat shock protein 90*), en colaboración con las proteínas de choque térmico 40 y 70 (hsp40 y hsp70) están involucradas en el reconocimiento de las proteínas mal plegadas y en ayudar al replegamiento o a la proteólisis vía proteasoma [80]. Estas proteínas están estrechamente vinculadas con la tau hiperfosforilada y se ha descrito su participación en diferentes enfermedades neurodegenerativas asociadas a proteinopatías [81,82].

Vía lisosomal

Los lisosomas son reconocidos como compartimientos de degradación de la vía endocítica, importantes para la digestión del material intracelular que es segregado y degradado en la vía conocida como autofagia [83]. A su vez, las proteínas de membrana o exógenas pueden ser transportadas al lisosoma por un mecanismo conocido como heterofagia, mediante los procesos de endocitosis, pinocitosis mediada por receptor o fagocitosis [84]. En ambos casos, las

proteínas son endocitadas o envueltas en vacuolas de doble membrana, luego son etiquetadas para ser llevadas a los endosomas tardíos, y posteriormente a la degradación en los lisosomas (ver figura 6). Se ha descrito que en enfermedades neurodegenerativas asociadas a proteopatías, esta vía desempeña un papel relevante, tanto en la degradación de las proteínas como en la patogénesis de la enfermedad [69,73,85].

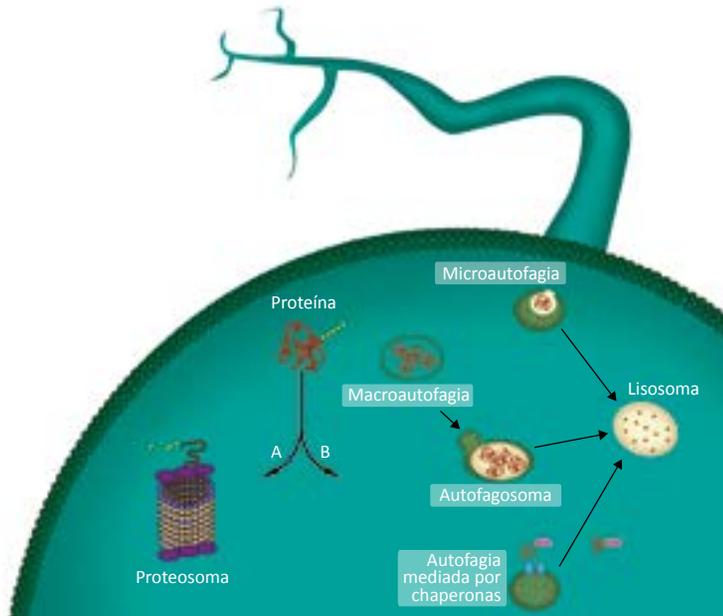


Figura 6. Vías de degradación proteicas. **A.** Sistema ubiquitina-proteasoma. Las proteínas agregadas ingresan a una estructura en forma de cilindro, denominada proteosoma, donde son degradadas en su interior por proteasas específicas. **B.** Vía lisosomal. Las proteínas agregadas ingresan a los endosomas por diferentes vías, macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas, y son llevadas a los lisosomas para su degradación.

La autofagia se produce a niveles basales en todas las células para ayudar a mantener la homeostasis celular mediante el recambio de proteínas y organelas. La autofagia se aumenta cuando hay carencia de los nutrientes, disminución de los factores de crecimiento o altas demandas bioenergéticas, condiciones en las cuales la célula requiere generar nutrientes y energía intracelular [86]. Además, se produce un aumento de este proceso cuando las células se preparan para realizar transiciones durante el desarrollo o cuando deben deshacerse de componentes citoplasmáticos dañados por el estrés oxidativo, una infección o por la acumulación de proteínas agregadas [69]. Se considera que unos niveles basales de autofagia son fundamentales en las células posmitóticas como las neuronas, debido a su incapacidad para diluir proteínas agregadas o componentes aberrantes a través de las divisiones celulares [85,87].

La degradación de proteínas endógenas y organelas celulares mediada por autofagia se divide en tres mecanismos: macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas, los cuales requieren de la capacidad digestiva del lisosoma. En la macroautofagia, abundante material citosólico y de organelas es rodeado por estructuras de doble membrana, denominadas autofagosomas, que se fusionan con los lisosomas para degradar su contenido. En la microautofagia, poca cantidad del citoplasma es internalizado por invagi-

naciones del lisosoma y degradado por las enzimas lisosomales. En la autofagia mediada por chaperonas las proteínas son desplegadas por la chaperona cognado de choque térmico 70 (hsc70) y transportadas al lisosoma por intermedio de la proteína de membrana asociada al lisosoma 2 [88,89]. Las alteraciones en cualquiera de las vías expuestas pueden llevar a un proceso neurodegenerativo crónico.

La proteína tau hiperfosforilada y los péptidos β -amiloides están estrechamente vinculadas con el proceso autofágico, cuya modulación afecta el resultado de la enfermedad; por esta razón es determinante estudiar tanto su efecto patogénico como las estrategias terapéuticas asociadas a la degradación de las proteínas.

La importancia de las vías de degradación en la enfermedad de Alzheimer

El proceso de neurodegeneración de la enfermedad de Alzheimer está relacionado con la participación conjunta o aislada de la proteína tau y del β -amiloide en la inhibición de la degradación de proteínas vía proteasoma o vía lisosomal, lo que permite evidenciar la complejidad en los mecanismos de degradación y acumulación de proteínas en la vejez y, especialmente, en los procesos patológicos. El estudio de la fisiopatología desencadenada por la agregación y acumulación de los péptidos β -amiloides y de la proteína tau hiperfosforilada en la enfermedad de Alzheimer es actualmente uno de los campos más estudiados en neurobiología.

Una de las principales vías de degradación de la proteína tau hiperfosforilada es la autofagia; éste es un proceso celular catabólico selectivo mediante el cual material citoplasmático es transportado a los lisosomas para su degradación [90]. Este mecanismo se produce en niveles basales en todas las células, es requerido para mantener la homeostasis; además, es particularmente importante en las neuronas, debido a que son células con una baja tasa de división y por lo tanto deben subsistir durante el tiempo de vida del organismo, por medio del recambio de proteínas y organelas. La actividad de degradación de proteínas por la vía de la autofagia se aumenta cuando hay carencia de nutrientes, disminución de los factores de crecimiento o altas demandas bioenergéticas, situaciones en las que la célula requiere disponibilidad de nutrientes y energía intracelular [91].

En los últimos años se ha establecido la relación entre la falla de los mecanismos de autofagia y el aumento de agregaciones proteicas intracelulares en diferentes alteraciones patológicas [85], siendo las causas de este fracaso diversas y en algunos casos desconocidas [92]. Por ende, el estudio de la autofagia ha despertado gran interés para dilucidar los puntos claves de estos procesos, que permitan proponer estrategias terapéuticas a través de la regulación de estas vías, buscando prevenir o eliminar agregados proteicos causantes de neurodegeneración [93].

Estudios recientes han demostrado que los autofagosomas se acumulan en los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer [71,94]. La acumulación de los autofagosomas representa la activación de la autofagia como respuesta fisiológica, pero a su vez evidencia una alteración en los mecanismos de degradación que genera una acumulación de inclusiones de proteínas que pueden llevar a la muerte neuronal [73,74]. Una característica reconocida en los cerebros de personas con enfermedad de Alzheimer es la presencia de estructuras gránulo-

lo-vacuolares en neuritas distróficas [71], las cuales han sido asociadas con un aumento de estructuras que tienden a ser electrodensas, como los lisosomas, y positivas para proteasas lisosomales, como la fosfatasa ácida y las catepsinas.

Algunos estudios han demostrado que la vía endosomal-lisosomal es importante para la regulación del procesamiento de la proteína precursora amiloide [71,94,95]. En los endosomas tempranos de las neuronas se producen los péptidos β -amiloides, y a su vez, participan en el ingreso del β -amiloide y de la proteína precursora amiloide soluble al espacio intracelular. En la enfermedad de Alzheimer se han encontrado manifestaciones intracelulares como el incremento del tamaño y el volumen de los endosomas; además, es de particular interés que las vacuolas autofágicas contengan los componentes necesarios para generar los péptidos β -amiloides, como la proteína precursora amiloide y las secretasas (α , β y γ) que la procesan, especialmente la β -secretasa y la γ -secretasa que generan los péptidos β -amiloides [96,97].

Una de las hipótesis que relacionan la autofagia con la enfermedad de Alzheimer es la estimulación irregular de la autofagia, que resulta en un incremento en la producción de los péptidos β -amiloides, debida a la acumulación de vacuolas autofágicas que contienen la maquinaria necesaria para el corte de la proteína precursora amiloide [96,98]. En un ratón doble transgénico que genera β -amiloidosis, se encontró una acumulación de vesículas autofágicas que contenían la proteína precursora amiloide, la presenilina 1 y otras proteínas [95]. De forma similar, en cultivos de neuronas, a las que se les suprimió la presenilina 1, se encontró una acumulación de vacuolas degradativas acompañadas de la presencia anormal de α y β -sinucleínas [99].

Por otra parte, la proteína tau también se ha relacionado con la vía de la autofagia, teniendo en cuenta que los ratones transgénicos, que tienen una mutación para esta proteína, presentan alteraciones en la vía autofágica/lisosomal, bajo análisis ultraestructural [100]. Así mismo, se ha encontrado un incremento en los complejos neuronales lisosomales y un aumento de las fosfatasa ácidas en las regiones donde se acumulan los filamentos de la proteína tau [100]. También se han descrito filamentos de la proteína tau y autofagosomas en esferoides axonales similares a las neuritas distróficas, características de la enfermedad de Alzheimer. El tratamiento con cloroquina, un inhibidor de la acidificación de los lisosomas, y con 3 metiladenina, un inhibidor de la autofagia, conduce a la acumulación de la proteína tau con la formación de agregados [101].

Los dos marcadores patogénicos de la enfermedad de Alzheimer: la acumulación de agregados insolubles de la proteína tau hiperfosforilada y las placas de los péptidos β -amiloides, se han encontrado altamente ubicuitiladas en modelos animales y en cerebros de pacientes con Alzheimer [68,70,72]. Igualmente, la alteración en la degradación de estos agregados sugiere una falla en la maquinaria de degradación del sistema ubicuitina-proteasoma. Se han descrito diferentes factores asociados con la falla en el sistema ubicuitina-proteasoma como la forma mutante de ubicuitina+1 [102,103], la cual tiene una extensión de 19 aminoácidos en su carboxilo terminal y no posee la glicina 76, correspondiente a un sitio de unión con la enzima 1 y 2; forma que se ha visto relacionada con el bloqueo de la degradación de proteínas mediada por ubicuitina. También se ha asociado a una enzima deubicuitilante, que es modificada por oxidación y disminuida en la enfermedad de Alzheimer [104].

Por su parte, el péptido β -amiloide puede inhibir la degradación de las proteínas vía proteasoma, específicamente, las secuencias β -amiloide 1-11, 1-16 y 25-35 del amino terminal pueden inhibir el proteasoma. El péptido β -amiloide 40 es mucho más efectivo bloqueando la actividad del proteasoma y el β -amiloide 42, aunque en menor proporción, también se ha descrito que puede inhibirlo. Este efecto se ha determinado por microscopía electrónica por la observación de la unión del β -amiloide al proteasoma. A su vez, se ha demostrado el efecto de los oligómeros del β -amiloide en la inhibición de la actividad proteolítica del proteasoma [105,106].

La proteína tau hiperfosforilada, al igual que el β -amiloide, puede unir y bloquear el proteasoma en regiones del cerebro como el hipocampo, el giro parahipocampal, el giro temporal medio y superior y el lóbulo parietal inferior [107]. La inhibición del proteasoma es suficiente para inducir alteraciones neuronales y neurodegeneración, lo que indica un papel importante del proteasoma en la enfermedad de Alzheimer [102]. Actualmente se conocen las enzimas encargadas de la poliubiquitilación de la proteína tau, la más descrita es la proteína de interacción al carboxilo terminal de la proteína de choque térmico 70, la cual es una enzima 3 encargada de la poliubiquitilación de diferentes sustratos que, en conjunto con otras chaperonas, se une de forma específica a la proteína tau, la poliubiquitina y la lleva a ser degradada por el proteasoma [82,108].

La enfermedad de Alzheimer es un proceso crónico en el que subyacen mecanismos complejos en los que se interrelacionan moléculas (quinasa dependiente de ciclina 5, la proteína tau y el β -amiloide), vías de señalización (autofagia y sistema ubiquitina-proteasoma), células y tejidos, hasta alcanzar alteraciones comportamentales asociadas a las características clínicas de la enfermedad. El estudio holístico de las características moleculares, celulares, tisulares y clínicas de la enfermedad va a permitir encontrar nodos de acción para generar estrategias dirigidas a la prevención y al diagnóstico oportuno de la enfermedad. Las vías de degradación son actores claves en la dinámica de la neurona, por lo que alteraciones crónicas en su funcionamiento pueden desencadenar procesos patológicos como la enfermedad de Alzheimer.

Conclusiones

Actualmente, la búsqueda de enfoques terapéuticos para prevenir o retardar la progresión de la enfermedad de Alzheimer es una prioridad. La taupatía ha sido un problema particularmente difícil de resolver, con pocos resultados y pocas opciones farmacéuticas. Un obstáculo para la corrección de esta proteinopatía es la escasez de blancos críticos que puedan servir como la base para el futuro descubrimiento de fármacos. Una terapia dirigida contra la quinasa dependiente de ciclina 5, para la prevención y el tratamiento, no sólo de la taupatía sino también de la β -amiloidosis, parece ser esperanzadora teniendo en cuenta los hallazgos inmunohistoquímicos, bioquímicos y del comportamiento, en un modelo animal de la enfermedad de Alzheimer [65-67]. Estos resultados pueden fomentar la búsqueda de una mejor comprensión de los mecanismos de control homeostático de la quinasa dependiente de ciclina 5 en el cerebro, el mejoramiento de los enfoques de liberación de vectores terapéuticos seguros y de larga duración y, en última instancia, la administración sistémica de moléculas que específicamente y con seguridad, reduzcan la actividad de la quinasa dependiente de ciclina 5.

Bibliografía

1. **Lopera F.** La peste de la memoria en Antioquia. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia; 2002.
2. **Querfurth HW, LaFerla FM.** Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010; 362: 329-344.
3. **Jellinger KA.** Alzheimer 100 - highlights in the history of Alzheimer research. *J Neural Transm* 2006; 113: 1603-1623.
4. **Ingelsson M.** Early Aβ accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology* 2004; 62: 925-931.
5. **Perez-Tur J.** [Genetics and Alzheimer's disease]. *Rev Neurol* 2000; 30: 161-169.
6. **Bird TD.** Alzheimer Disease Overview. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, et al., eds. *GeneReviews®*. Seattle, Estados Unidos: Universidad de Washington; 1993.
7. **Li Q, Sudhof TC.** Cleavage of amyloid-beta precursor protein and amyloid-beta precursor-like protein by BACE 1. *J Biol Chem* 2004; 279: 10542-10550.
8. **Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F.** Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 2004; 84: 361-384.
9. **Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI.** Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 4913-4917.
10. **Ferrari A, Hoernkli F, Baechli T, Nitsch RM, Gotz J.** beta-Amyloid induces paired helical filament-like tau filaments in tissue culture. *J Biol Chem* 2003; 278: 40162-40168.
11. **Gotz J, Schild A, Hoernkli F, Pennanen L.** Amyloid-induced neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease: insight from transgenic mouse and tissue-culture models. *Int J Dev Neurosci* 2004; 22: 453-465.
12. **Iqbal K, Alonso Adel C, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX, et al.** Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739: 198-210.
13. **Iqbal K, Grundke-Iqbal I.** Metabolic/signaling transduction hypothesis of Alzheimer's disease and other tauopathies. *Acta Neuropathol (Berl)* 2005; 109: 25-31.
14. **Citron M.** Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 387-398.
15. **Neugroschl J, Sano M.** An update on treatment and prevention strategies for Alzheimer's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009; 9: 368-376.
16. **Pillai JA, Cummings JL.** Clinical trials in pre-dementia stages of Alzheimer disease. *Med Clin North Am* 2013; 97: 439-457.
17. **Murphy DB, Borisy GG.** Association of high-molecular-weight proteins with microtubules and their role in microtubule assembly in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 2696-2700.
18. **Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW.** A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 1858-1862.
19. **Hernandez F, Perez M, de Barreda EG, Goni-Oliver P, Avila J.** Tau as a molecular marker of development, aging and neurodegenerative disorders. *Curr Aging Sci* 2008; 1: 56-61.
20. **Mandell JW, Banker GA.** A spatial gradient of tau protein phosphorylation in nascent axons. *J Neurosci* 1996; 16: 5727-5740.
21. **Tashiro K, Hasegawa M, Ihara Y, Iwatsubo T.** Somatodendritic localization of phosphorylated tau in neonatal and adult rat cerebral cortex. *Neuroreport* 1997; 8: 2797-2801.
22. **Reynolds CH, Betts JC, Blackstock WP, Nebreda AR, Anderton BH.** Phosphorylation sites on tau identified by nanoelectrospray mass spectrometry: differences in vitro between the mitogen-activated protein kinases ERK2, c-Jun N-terminal kinase and P38, and glycogen synthase kinase-3β. *J Neurochem* 2000; 74: 1587-1595.
23. **Trinczek B, Biernat J, Baumann K, Man-**

- delkow EM, Mandelkow E.** Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. *Mol Biol Cell* 1995; 6: 1887-1902.
24. **Wang JZ, Grundke-Iqbal I, Iqbal K.** Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *Eur J Neurosci* 2007; 25: 59-68.
25. **Yu Y, Run X, Liang Z, Li Y, Liu F, Liu Y, et al.** Developmental regulation of tau phosphorylation, tau kinases, and tau phosphatases. *J Neurochem* 2009; 108: 1480-1494.
26. **Witman GB, Cleveland DW, Weingarten MD, Kirschner MW.** Tubulin requires tau for growth onto microtubule initiating sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976; 73: 4070-4074.
27. **Dawson HN, Ferreira A, Eyster MV, Ghoshal N, Binder LI, Vitek MP.** Inhibition of neuronal maturation in primary hippocampal neurons from tau deficient mice. *J Cell Sci* 2001; 114: 1179-1187.
28. **Johnson GV, Stoothoff WH.** Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J Cell Sci* 2004; 117: 5721-5729.
29. **Kosik KS, Finch EA.** MAP2 and tau segregate into dendritic and axonal domains after the elaboration of morphologically distinct neurites: an immunocytochemical study of cultured rat cerebrum. *J Neurosci* 1987; 7: 3142-3153.
30. **Lesort M, Blanchard C, Yardin C, Esclaire F, Hugon J.** Cultured neurons expressing phosphorylated tau are more resistant to apoptosis induced by NMDA or serum deprivation. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; 45: 127-132.
31. **Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso Adel C, Grundke-Iqbal I.** Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathol* 2009; 118: 53-69.
32. **Anderton BH, Brion JP, Couck AM, Davis DR, Gallo JM, Hanger DP, et al.** Modulation of PHF-like tau phosphorylation in cultured neurones and transfected cells. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 389-397; discussion 398-402.
33. **Mandelkow E, von Bergen M, Biernat J, Mandelkow EM.** Structural principles of tau and the paired helical filaments of Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2007; 17: 83-90.
34. **Dhavan R, Tsai LH.** A decade of CDK5. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 749-759.
35. **Ip N, Tsai L.** Cyclin Dependent Kinase 5 (Cdk5). New York: Springer; 2008.
36. **Fu AK, Ip FC, Fu WY, Cheung J, Wang JH, Yung WH, et al.** Aberrant motor axon projection, acetylcholine receptor clustering, and neurotransmission in cyclin-dependent kinase 5 null mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 15224-15229.
37. **Ohshima T, Ward JM, Huh CG, Longenecker G, Veeranna, Pant HC, et al.** Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 11173-11178.
38. **Rosales JL, Lee KY.** Extraneuronal roles of cyclin-dependent kinase 5. *Bioessays* 2006; 28: 1023-1034.
39. **Zheng M, Leung CL, Liem RK.** Region-specific expression of cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) and its activators, p35 and p39, in the developing and adult rat central nervous system. *J Neurobiol* 1998; 35: 141-159.
40. **Kesavapany S, Lau KF, Ackerley S, Banner SJ, Shemilt SJ, Cooper JD, et al.** Identification of a novel, membrane-associated neuronal kinase, cyclin-dependent kinase 5/p35-regulated kinase. *J Neurosci* 2003; 23: 4975-4983.
41. **Ko J, Humbert S, Bronson RT, Takahashi S, Kulkarni AB, Li E, et al.** p35 and p39 are essential for cyclin-dependent kinase 5 function during neurodevelopment. *J Neurosci* 2001; 21: 6758-6771.
42. **Patrick GN, Zhou P, Kwon YT, Howley PM, Tsai LH.** p35, the neuronal-specific activator of cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) is degraded by the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem* 1998; 273: 24057-24064.
43. **Cheung ZH, Ip NY.** The roles of cyclin-dependent kinase 5 in dendrite and synapse development. *Biotechnol J* 2007; 2: 949-957.
44. **Kawauchi T, Chihama K, Nabeshima Y, Hoshino M.** Cdk5 phosphorylates and stabilizes p27kip1 contributing to actin organization and cortical neuronal migration. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 17-26.

45. **Nikolic M, Dudek H, Kwon YT, Ramos YF, Tsai LH.** The cdk5/p35 kinase is essential for neurite outgrowth during neuronal differentiation. *Genes Dev* 1996; 10: 816-825.
46. **Angelo M, Plattner F, Giese KP.** Cyclin-dependent kinase 5 in synaptic plasticity, learning and memory. *J Neurochem* 2006; 99: 353-370.
47. **Rashid T, Banerjee M, Nikolic M.** Phosphorylation of Pak1 by the p35/Cdk5 kinase affects neuronal morphology. *J Biol Chem* 2001; 276: 49043-49052.
48. **Zheng YL, Li BS, Kanungo J, Kesavapany S, Amin N, Grant P, et al.** Cdk5 Modulation of mitogen-activated protein kinase signaling regulates neuronal survival. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 404-413.
49. **Cicero S, Herrup K.** Cyclin-dependent kinase 5 is essential for neuronal cell cycle arrest and differentiation. *J Neurosci* 2005; 25: 9658-9668.
50. **Niethammer M, Smith DS, Ayala R, Peng J, Ko J, Lee MS, et al.** NUDEL is a novel Cdk5 substrate that associates with LIS1 and cytoplasmic dynein. *Neuron* 2000; 28: 697-711.
51. **O'Hare MJ, Kushwaha N, Zhang Y, Aleyasin H, Callaghan SM, Slack RS, et al.** Differential roles of nuclear and cytoplasmic cyclin-dependent kinase 5 in apoptotic and excitotoxic neuronal death. *J Neurosci* 2005; 25: 8954-8966.
52. **Plattner F, Angelo M, Giese KP.** The roles of cyclin-dependent kinase 5 and glycogen synthase kinase 3 in tau hyperphosphorylation. *J Biol Chem* 2006; 281: 25457-25465.
53. **Wen Y, Yang SH, Liu R, Perez EJ, Brun-Zinkernagel AM, Koulen P, et al.** Cdk5 is involved in NFT-like tauopathy induced by transient cerebral ischemia in female rats. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 473-483.
54. **Hamdane M, Sambo AV, Delobel P, Begard S, Violleau A, Delacourte A, et al.** Mitotic-like tau phosphorylation by p25-Cdk5 kinase complex. *J Biol Chem* 2003; 278: 34026-34034.
55. **Peterson DW, Ando DM, Taketa DA, Zhou H, Dahlquist FW, Lew J.** No difference in kinetics of tau or histone phosphorylation by CDK5/p25 versus CDK5/p35 in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 2884-2889.
56. **Kerokoski P, Suuronen T, Salminen A, Soininen H, Pirttila T.** Both N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptors mediate glutamate-induced cleavage of the cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) activator p35 in cultured rat hippocampal neurons. *Neurosci Lett* 2004; 368: 181-185.
57. **Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes P, Tsai LH.** Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 1999; 402: 615-622.
58. **Ahlijanian MK, Barrezueta NX, Williams RD, Jakowski A, Kowsz KP, McCarthy S, et al.** Hyperphosphorylated tau and neurofilament and cytoskeletal disruptions in mice overexpressing human p25, an activator of cdk5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 2910-2915.
59. **Gong CX, Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K.** Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2005; 112: 813-838.
60. **Gotz J, Nitsch RM.** Compartmentalized tau hyperphosphorylation and increased levels of kinases in transgenic mice. *Neuroreport* 2001; 12: 2007-2016.
61. **Sengupta A, Novak M, Grundke-Iqbal I, Iqbal K.** Regulation of phosphorylation of tau by cyclin-dependent kinase 5 and glycogen synthase kinase-3 at substrate level. *FEBS Lett* 2006; 580: 5925-5933.
62. **Zheng YL, Kesavapany S, Gravell M, Hamilton RS, Schubert M, Amin N, et al.** A Cdk5 inhibitory peptide reduces tau hyperphosphorylation and apoptosis in neurons. *Embo J* 2005; 24: 209-220.
63. **Zheng YL, Li BS, Amin ND, Albers W, Pant HC.** A peptide derived from cyclin-dependent kinase activator (p35) specifically inhibits Cdk5 activity and phosphorylation of tau protein in transfected cells. *Eur J Biochem* 2002; 269: 4427-4434.
64. **Kerokoski P, Suuronen T, Salminen A, Soininen H, Pirttila T.** Cleavage of the cyclin-dependent kinase 5 activator p35 to p25 does not induce tau hyperphosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 298: 693-698.

65. **Piedrahita D, Hernandez I, Lopez-Tobon A, Fedorov D, Obara B, Manjunath BS, et al.** Silencing of CDK5 reduces neurofibrillary tangles in transgenic Alzheimer's mice. *J Neurosci* 2010; 30: 13966-13976.
66. **Castro-Alvarez JF, Uribe-Arias SA, Mejia-Raigosa D, Cardona-Gomez GP.** Cyclin-dependent kinase 5, a node protein in diminished tauopathy: a systems biology approach. *Front Aging Neurosci* 2014; 6: 232.
67. **Castro-Alvarez JF, Uribe-Arias SA, Kosik KS, Cardona-Gomez GP.** Long- and short-term CDK5 knockdown prevents spatial memory dysfunction and tau pathology of triple transgenic Alzheimer's mice. *Front Aging Neurosci* 2014; 6: 243.
68. **Ross CA, Poirier MA.** Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 2004; 10 Suppl: S10-17.
69. **Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ.** Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451: 1069-1075.
70. **Lehman NL.** The ubiquitin proteasome system in neuropathology. *Acta Neuropathol* 2009; 118: 329-347.
71. **Nixon RA.** Autophagy, amyloidogenesis and Alzheimer disease. *J Cell Sci* 2007; 120: 4081-4091.
72. **de Vrij FM, Fischer DF, van Leeuwen FW, Hol EM.** Protein quality control in Alzheimer's disease by the ubiquitin proteasome system. *Prog Neurobiol* 2004; 74: 249-270.
73. **Boland B, Kumar A, Lee S, Platt FM, Wegiel J, Yu WH, et al.** Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2008; 28: 6926-6937.
74. **Lee JH, Yu WH, Kumar A, Lee S, Mohan PS, Peterhoff CM, et al.** Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell* 2010; 141: 1146-1158.
75. **Ikeda F, Dikic I.** Atypical ubiquitin chains: new molecular signals. 'Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects' review series. *EMBO Rep* 2008; 9: 536-542.
76. **Kim HT, Kim KP, Lledias F, Kisselev AF, Scaglione KM, Skowyra D, et al.** Certain pairs of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s) and ubiquitin-protein ligases (E3s) synthesize nondegradable forked ubiquitin chains containing all possible isopeptide linkages. *J Biol Chem* 2007; 282: 17375-17386.
77. **Hershko A, Heller H, Elias S, Ciechanover A.** Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *J Biol Chem* 1983; 258: 8206-8214.
78. **Ciechanover A, Elias S, Heller H, Hershko A.** "Covalent affinity" purification of ubiquitin-activating enzyme. *J Biol Chem* 1982; 257: 2537-2542.
79. **Hatakeyama S, Nakayama KI.** Ubiquitylation as a quality control system for intracellular proteins. *J Biochem* 2003; 134: 1-8.
80. **Bukau B, Weissman J, Horwich A.** Molecular chaperones and protein quality control. *Cell* 2006; 125: 443-451.
81. **Luo W, Rodina A, Chiosis G.** Heat shock protein 90: translation from cancer to Alzheimer's disease treatment? *BMC Neurosci* 2008; 9 Suppl 2: S7.
82. **Dickey CA, Kamal A, Lundgren K, Klosak N, Bailey RM, Dunmore J, et al.** The high-affinity HSP90-CHIP complex recognizes and selectively degrades phosphorylated tau client proteins. *J Clin Invest* 2007; 117: 648-658.
83. **Luzio JP, Pryor PR, Bright NA.** Lysosomes: fusion and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 622-632.
84. **Pivtoraiko VN, Stone SL, Roth KA, Shacka JJ.** Oxidative stress and autophagy in the regulation of lysosome-dependent neuron death. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11: 481-496.
85. **Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, et al.** Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006; 441: 880-884.
86. **Mizushima N.** Autophagy: process and function. *Genes Dev* 2007; 21: 2861-2873.
87. **Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, et al.** Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in

- mice. *Nature* 2006; 441: 885-889.
88. **Todde V, Veenhuis M, van der Klei IJ.** Autophagy: principles and significance in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 3-13.
 89. **Kundu M, Thompson CB.** Autophagy: basic principles and relevance to disease. *Annu Rev Pathol* 2008; 3: 427-455.
 90. **Nixon RA.** The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med* 2013; 19: 983-997.
 91. **Lee JA.** Autophagy in neurodegeneration: two sides of the same coin. *BMB Rep* 2009; 42: 324-330.
 92. **Komatsu M, Wang QJ, Holstein GR, Friedrich VL, Jr, Iwata J, Kominami E, et al.** Essential role for autophagy protein Atg7 in the maintenance of axonal homeostasis and the prevention of axonal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 14489-14494.
 93. **Munz C.** Enhancing immunity through autophagy. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 423-449.
 94. **Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, Yu WH, Peterhoff C, Cataldo A, et al.** Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immuno-electron microscopy study. *J Neuro-pathol Exp Neurol* 2005; 64: 113-122.
 95. **Yang DS, Kumar A, Stavrides P, Peterson J, Peterhoff CM, Pawlik M, et al.** Neuronal apoptosis and autophagy cross talk in aging PS/APP mice, a model of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2008; 173: 665-681.
 96. **Ohta K, Mizuno A, Ueda M, Li S, Suzuki Y, Hida Y, et al.** Autophagy impairment stimulates PS1 expression and gamma-secretase activity. *Autophagy* 2010; 6: 345-352.
 97. **Yu WH, Kumar A, Peterhoff C, Shapiro Kulnane L, Uchiyama Y, Lamb BT, et al.** Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities: implications for beta-amyloid peptide overproduction and localization in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 2531-2540.
 98. **Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, Peterhoff CM, Schmidt SD, Lee JH, et al.** Macroautophagy--a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 2005; 171: 87-98.
 99. **Wilson CA, Murphy DD, Giasson BI, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VM.** Degradative organelles containing mislocalized alpha-and beta-synuclein proliferate in presenilin-1 null neurons. *J Cell Biol* 2004; 165: 335-346.
 100. **Lin WL, Lewis J, Yen SH, Hutton M, Dickson DW.** Ultrastructural neuronal pathology in transgenic mice expressing mutant (P301L) human tau. *J Neurocytol* 2003; 32: 1091-1105.
 101. **Hamano T, Gendron TF, Causevic E, Yen SH, Lin WL, Isidoro C, et al.** Autophagic-lysosomal perturbation enhances tau aggregation in transfectants with induced wild-type tau expression. *Eur J Neurosci* 2008; 27: 1119-1130.
 102. **Lam YA, Pickart CM, Alban A, Landon M, Jamieson C, Ramage R, et al.** Inhibition of the ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 9902-9906.
 103. **Tank EM, True HL.** Disease-associated mutant ubiquitin causes proteasomal impairment and enhances the toxicity of protein aggregates. *PLoS Genet* 2009; 5: e1000382.
 104. **Choi J, Levey AI, Weintraub ST, Rees HD, Gearing M, Chin LS, et al.** Oxidative modifications and down-regulation of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 associated with idiopathic Parkinson's and Alzheimer's diseases. *J Biol Chem* 2004; 279: 13256-13264.
 105. **Cecarini V, Bonfili L, Amici M, Angeletti M, Keller JN, Eleuteri AM.** Amyloid peptides in different assembly states and related effects on isolated and cellular proteasomes. *Brain Res* 2008; 1209: 8-18.
 106. **Tseng BP, Green KN, Chan JL, Blurton-Jones M, LaFerla FM.** Abeta inhibits the proteasome and enhances amyloid and tau accumulation. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 1607-1618.
 107. **Avila J.** Tau phosphorylation and aggregation in Alzheimer's disease pathology. *FEBS Lett* 2006; 580: 2922-2927.
 108. **Petrucelli L, Dickson D, Kehoe K, Taylor J, Snyder H, Grover A, et al.** CHIP and Hsp70 regulate tau ubiquitination, degradation and aggregation. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 703-714.

