



# UNA CHAPERONA FARMACOLÓGICA MEJORA LA MEMORIA REDUCIENDO A $\beta$ Y TAU EN MODELOS DE RATÓN CON PLACAS Y OVILLOS

PRESENTADO POR: S. Garcés Fernández <sup>1</sup>, A. Quivira Lopesino <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grado en Biotecnología y Farmacia, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid

<sup>2</sup> Grado en Biotecnología, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid

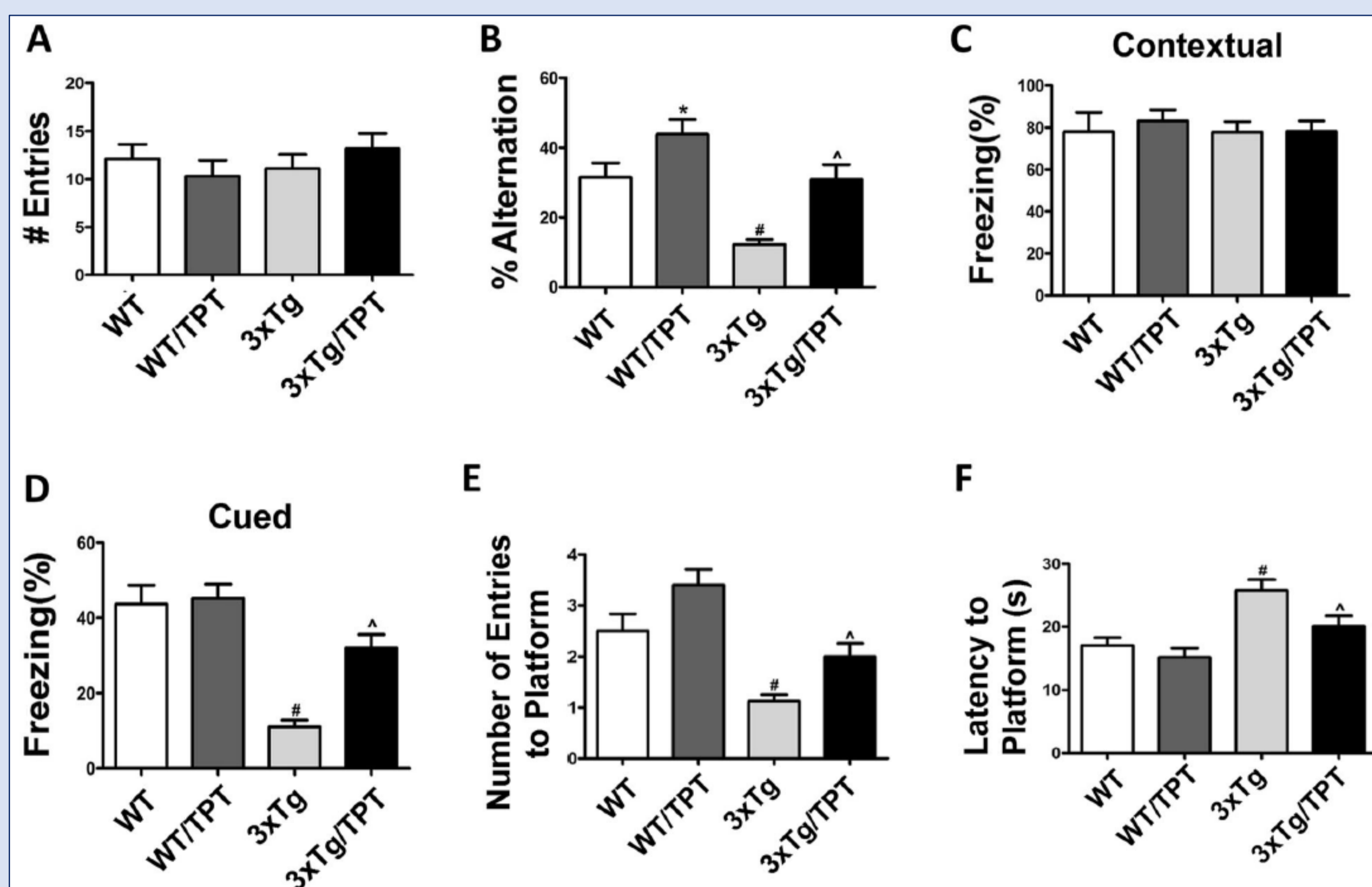
## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Se han descubierto genes cuya regulación puede aumentar el riesgo de sufrir la enfermedad del **Alzheimer** (AD). Un ejemplo es **VPS35**, cuya función principal es el transporte de proteínas de carga desde los endosomas hasta el aparato de Golgi. Se han observado en cerebros post-mortem patológicos de AD una disminución de los niveles de VPS35. Además, se comprobó previamente, que el aumento de expresión de genes de la familia VPS por transgénesis en ratones, dificultaba el desarrollo de placas amiloides y de ovillos tau. En este trabajo se estudió el efecto de un fármaco en forma de chaperona, **TPT-172**, que se pensaba que estabilizaba a VPS35 contra la desnaturalización térmica, regulando así la acumulación de placas y ovillos.

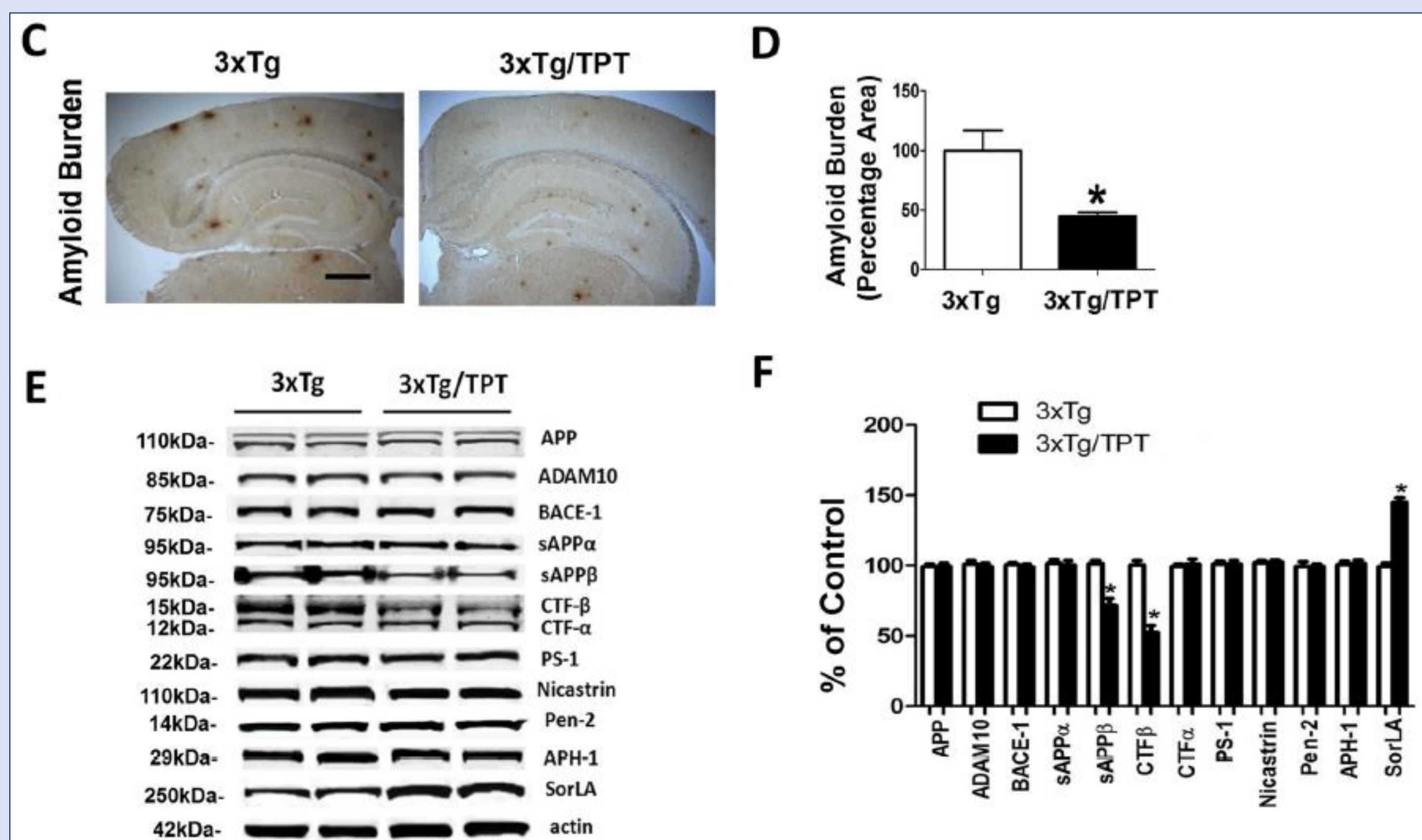
El **objetivo** fundamental del trabajo es estudiar la acción de una chaperona farmacológica involucrada en la regulación de una proteína implicada en el Alzheimer.

## RESULTADOS

**1. La administración de TPT-172 mejora el comportamiento.** A la hora de evaluar los resultados de la prueba del laberinto en Y, no se observaron diferencias en cuanto a las entradas en el laberinto de los ratones de estudio respecto a los controles. Sin embargo, observaron que los ratones 3xTg disminuían el porcentaje de alternancias en el laberinto. Este resultado mejoró cuando fueron tratados con TPT-172. Además, ratones wild-type tratados con la chaperona también aumentaban las alternancias respecto a los wild-type no tratados. En la prueba de condicionamiento del medio se comprobó que los ratones 3xTg presentaban disminuciones en el tiempo de congelación, fenómeno no encontrado en aquellos tratados con TPT-132. Finalmente, en la prueba de agua de Morris, se observaron que los ratones AD reducían el número de entradas a la plataforma y aumentaban la latencia de la primera entrada en la zona de baño. Además, cuando fueron tratados con TPT, mejoraron los resultados de manera significativa.



**3. TPT reduce los niveles de A $\beta$  y afecta a la fosforilación de tau.** Los ratones 3xTg tratados con TPT redujeron la cantidad de amiloide en el tejido cerebral. A la hora de estudiar el metabolismo de la proteína precursora APP, observaron que no había disminución de la expresión de BACE-1 y  $\gamma$ -secretasa pero si de sAPP $\beta$  y CTF $\beta$ , enzimas propias de la ruta amiloidogénica, entre los grupos de ratones. De manera análoga se observó que los niveles de tau fosforilado disminuyeron en ratones 3xTg tratados respecto a los no tratados.



Jian-Guo Li <sup>3</sup>, Jin Chiu <sup>3</sup>, Mercy Ramanjulu <sup>4</sup>, Benjamin E. Blass <sup>4</sup> and Domenico Praticò <sup>5</sup>

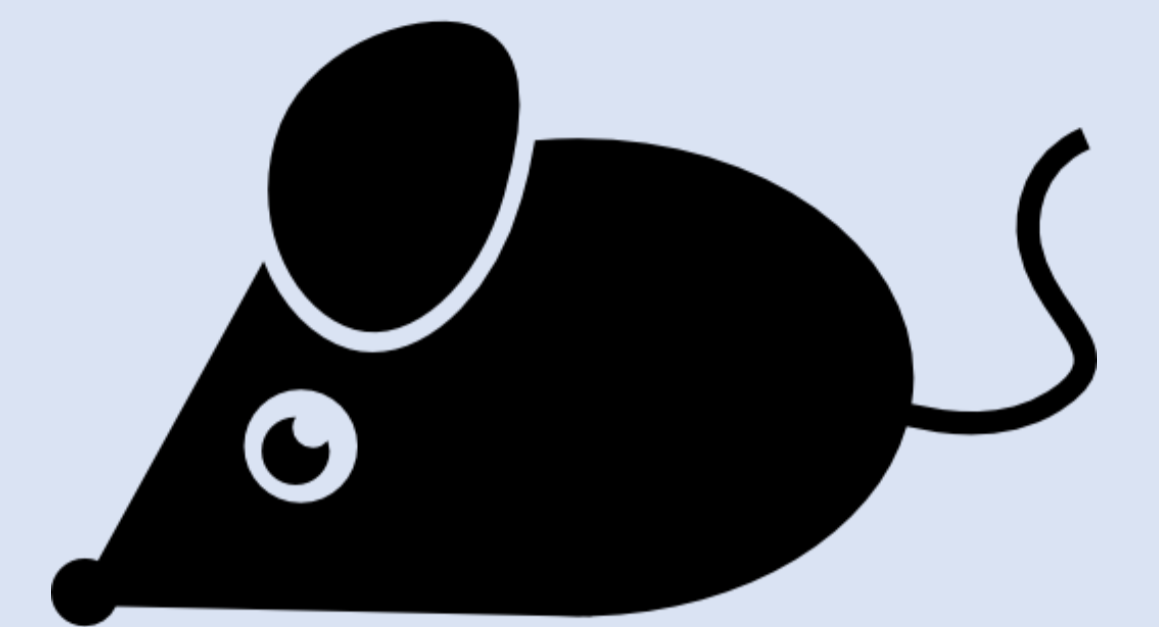
<sup>3</sup> Alzheimer's Center at Temple, Lewis Katz School of Medicine, Temple University, 3500 North Broad Street, MERB, suite1160, Philadelphia, PA, 19140, USA.

<sup>4</sup> Moulder Center for Drug Discovery Research, School of Pharmacy, Temple University, Philadelphia, PA, 19140, USA.

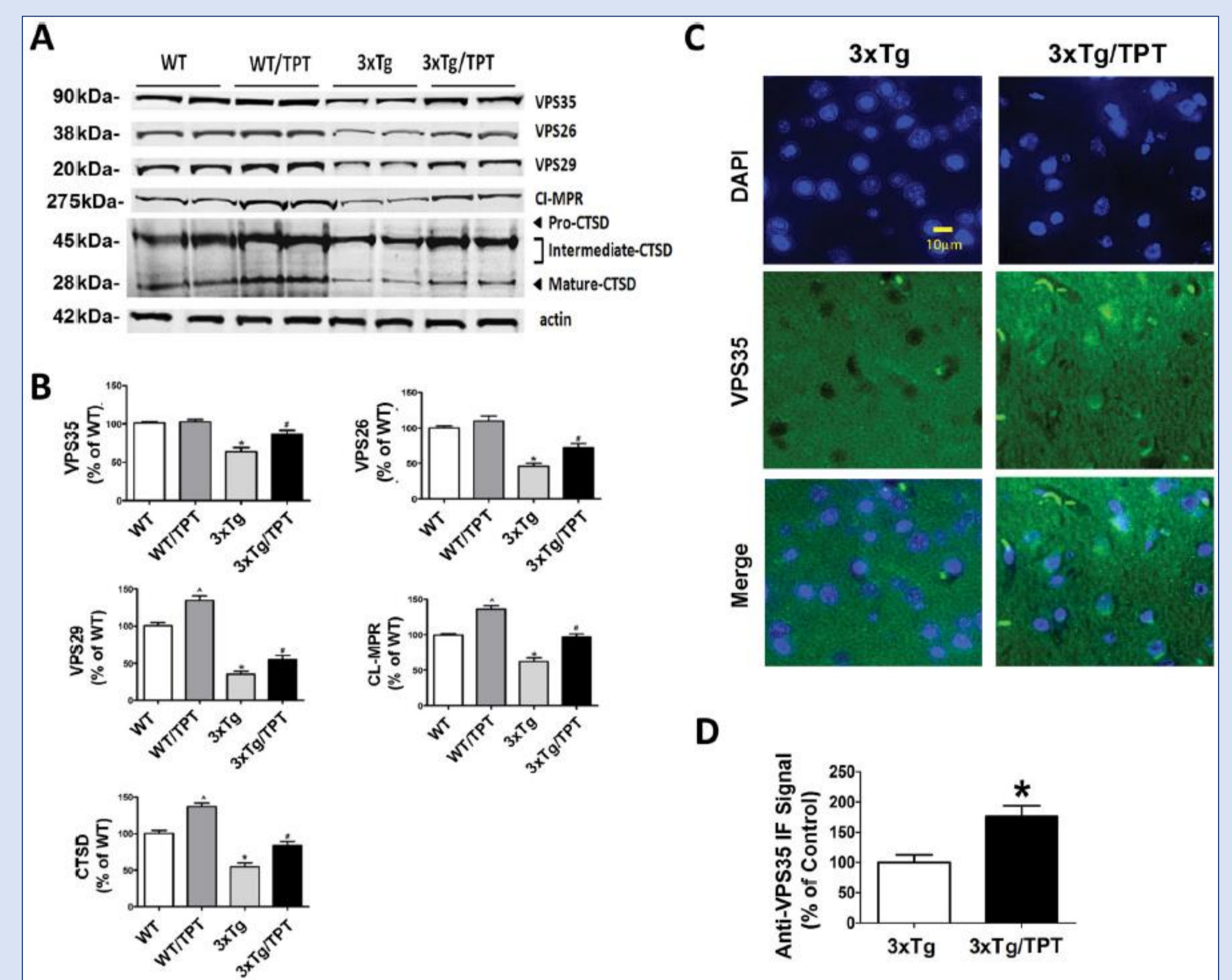
<sup>5</sup> Alzheimer's Center at Temple, Lewis Katz School of Medicine, Temple University, 3500 North Broad Street, MERB, suite 1160, Philadelphia, PA, 19140, USA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

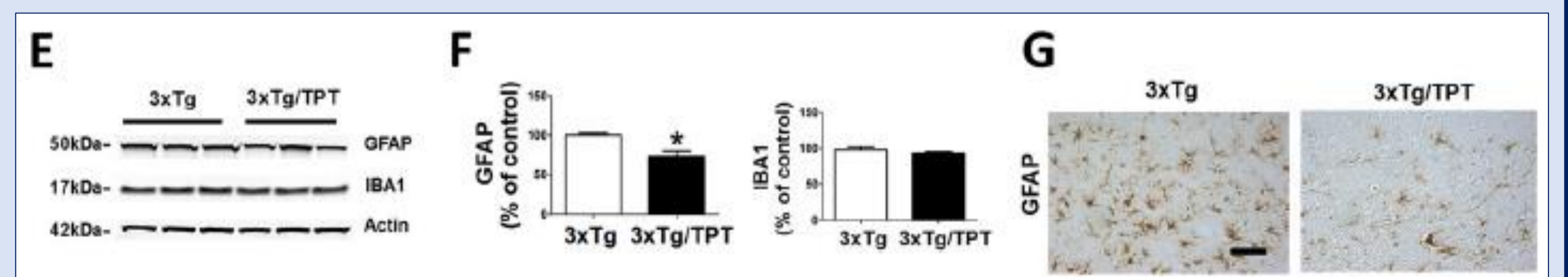
- **Ratones de laboratorio:** Ratones Wild-Type y 3xTg (knock-in precursor de amiloide).
- **Pruebas analíticas de comportamiento:** Laberinto en Y, laberinto de agua de Morris y prueba de condicionamiento del miedo.
- **Ensayos analíticos experimentales:** Inmunoblot, análisis bioquímicos, Western-Blot y pruebas de inmunohistoquímica.



**2. La chaperona farmacológica aumenta los niveles de VPS.** Tras la eutanasia de los ratones, se midieron los niveles del complejo proteico VPS. Se observó que los ratones 3xTg tenían una disminución de VPS35, VPS26 y VPS29. Tras la administración del fármaco volvían a aumentar significativamente los niveles de estas proteínas.



**4. La chaperona farmacológica influye en la integridad sináptica y en la neuroinflamación.** Para llegar a esta conclusión estudiaron marcadores sinápticos. Observaron que en los ratones 3xTg tratados aumentó el nivel de SYP (sinaptofisina). Para evaluar la neuroinflamación estudiaron la microgía y los astrocitos. Al evaluar los niveles de GFAP (marcador de astrocitos) observaron que en ratones tratados, los niveles descendían notablemente. Sin embargo, al estudiar IBA1, marcador de la microgía, los niveles permanecían estables.



## CONCLUSIONES

1. Gracias a las pruebas analíticas de comportamiento, pudieron determinar que el efecto farmacológico es muy eficaz, ya que los ratones 3xTg tratados con TPT mejoraban en sus resultados y que, además, este efecto no dependía del transgén, ya que ratones wild-type tratados también tenían mejoras significativas.
2. Ratones tratados con TPT tuvieron un incremento significativo en los niveles de VPS35, que se traduce en una restauración de la función del sistema complejo del retrómero, consiguiendo así una importante reducción de A $\beta$ . Los ratones tratados con TPT tuvieron una reducción significativa en los productos derivados de BACE-1 (sAPP $\beta$  y CTF $\beta$ ), sugiriendo que el resultado en los niveles de A $\beta$  se debió a una reducida acción proteolítica de BACE-1 en APP. También observaron que ratones tratados con TPT tuvieron un incremento de SorLA, una proteína implicada en el transporte de APP desde los endosomas a Golgi.
3. Comparado con el grupo sin tratar, los ratones que recibieron el fármaco tuvieron una importante reducción en los niveles de tau fosforilado y dedujeron que podía deberse a la alta disponibilidad de la proteasa CTSD involucrada en la degradación de tau.
4. Comparado con los ratones no tratados, encontraron que los tratados tuvieron un incremento en los niveles de sinaptofisina. También demostraron que los ratones 3xTg tratados tenían menor activación de los astrocitos por una menor detección de GFAP.