

Acción protectora de la proteína *tau* en la enfermedad de Alzheimer

Luna-Muñoz José,*** Zamudio Sergio, ** De la Cruz Fidel,*** Minjarez-Vega Benito,**** Mena Raúl*

* Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México, D.F. ** Instituto de Ecología en Pátzcuaro. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), Pátzcuaro, Mich. *** Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México, D.F. **** Departamento de Biología Celular. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México, D.F.

Revista Mexicana de Neurociencia

Mayo-Junio, 2012; 13(3): 160-167

INTRODUCCIÓN

Los ovillos o marañas neurofibrilares (MNFs, *Figura 1A*) han sido asociados directamente con la demencia en la enfermedad de Alzheimer (EA), debido a su efecto y formación en el citoplasma mata a las células neuronales de áreas específicas del cerebro incluyendo la formación del hipocampo, la amígdala y la neocorteza. En la EA, la aparición y distribución de las MNFs sigue un perfil estereotipado desde la capa II de la corteza entorrinal, la región CA1/subicular del hipocampo y la capa IV de la corteza

entorrinal/neocorteza, principalmente en las áreas temporal y fronto-parietal (*Figura 2*). Esta distribución específica fue descrita por los médicos Braak y Braak en 1991¹ y actualmente es uno de los criterios neuropatológicos más importantes en el diagnóstico definitivo de la EA.² Cabe asentar que, aunque el criterio de los estadios de Braak, se cumple en todos los casos de la EA, puede o no correlacionar con el deterioro cognoscitivo o la demencia. Esta condición ha sido explicada, en parte, por la variación que, de sujeto a sujeto, se presenta en los síntomas demenciales.

RESUMEN

Las marañas neurofibrilares (MNF) están constituidas por la proteína tau, la cual se encuentra anormalmente ensamblada en la enfermedad de Alzheimer (EA). Las MNF representan una acumulación masiva de filamentos helicoidales apareados (FHA). La hiperfosforilación y la proteólisis endógena o truncación son los eventos postraduccionales más importantes en los FHA. A pesar de que la mayoría de estudios han considerado la hiperfosforilación como un evento clave en la patogénesis de la EA, algunos estudios han evidenciado contradicciones en cuanto a la toxicidad de las MNF hiperfosforiladas. Más aún, estos mismos estudios sugirieron que la proteína tau hiperfosforilada tiene de hecho una función protectora como respuesta a la acumulación de un fragmento truncado de la proteína tau en el Glu391. Este fragmento de 90-92 aminoácidos es denominado como «núcleo» mínimo del FHA. Se ha demostrado que este núcleo es altamente tóxico y, al parecer, responsable de la muerte de las neuronas en la EA. En esta revisión abordamos ambos eventos postraduccionales: la hiperfosforilación y truncación, enfocados principalmente a su efecto protector y tóxico de las diversas especies de la proteína tau en la EA.

Palabras clave: Alzheimer, biomarcadores, proteína, tau.

Protective action of the tau protein in Alzheimer

ABSTRACT

Neurofibrillary tangles (NFT) composed of tau protein abnormally assembled are the hallmarks of Alzheimer diseased brains. NFTs represent dense accumulation of paired helical filaments (PHF). Hyperphosphorylation and endogenous proteolysis (truncation) are the two major pathological changes found in tau-PHF. Despite the fact that the majority of studies focus on the hyperphosphorylation as a key event in Alzheimer's disease (AD) pathogenesis, some reports are contradictory in the sense that they have not found any evidence of toxicity of the hyperphosphorylated NFT. Moreover, these same studies suggest that hyperphosphorylated tau has, in fact, a protective role in AD against to the progressive cytoplasmic accumulation of a truncated tau fragment at Glu391. This fragment of 90-92 aminoacid length is so-called the PHF «core». This fragment is highly toxic and the cause of neuronal death in AD. In this review, we analyzed the role the hyperphosphorylated and truncated tau species focusing in toxicity and protection in AD pathogenesis.

Key words: Alzheimer, biomarkers, protein, tau.

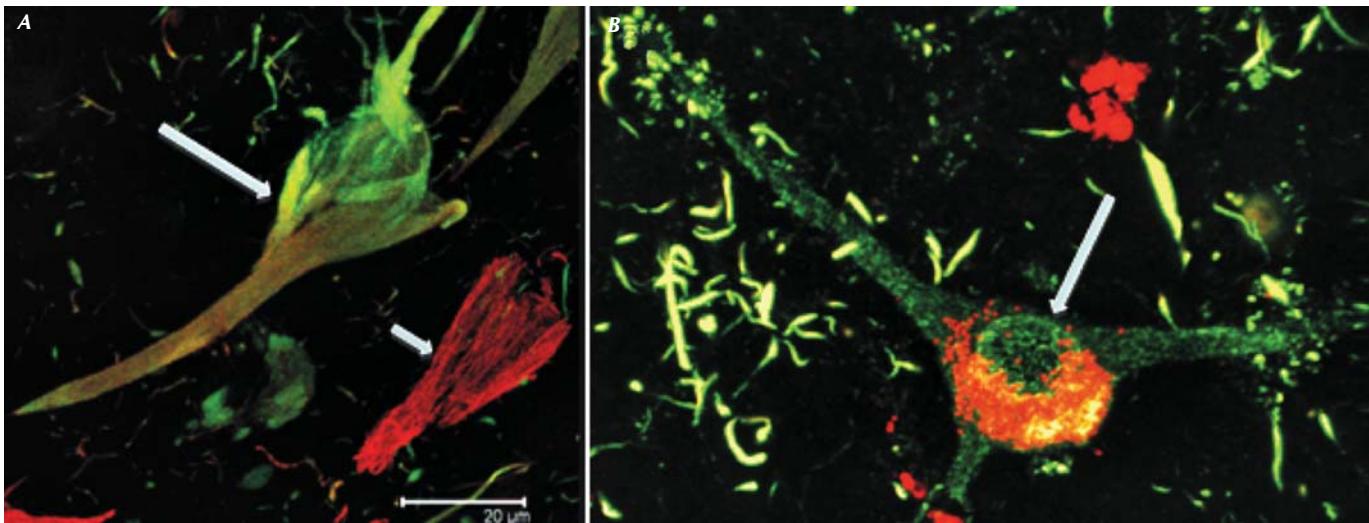


Figura 1. Maraña neurofibrilar característica de los cerebros de casos de pacientes con enfermedad de Alzheimer. **A)** Una maraña neurofibrilar intracelular (flecha grande) muestra la típica forma de flama siguiendo el perfil piramidal de la célula neuronal afectada. Una MNF extracelular (flecha chica) es detectada en el canal rojo. Algunos hilillos del neuropilo se encuentran en su vecindad. **B)** Pre maraña neurofibrilar. Tiene una apariencia granulosa difusa en todo el citoplasma y no muestra evidencia de acumulación de tau ensamblada. Microscopía confocal.

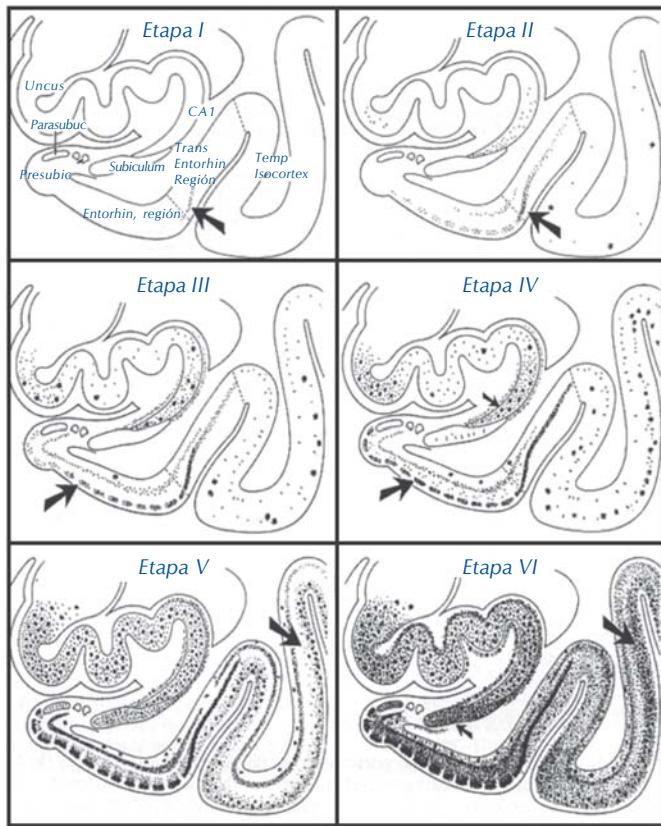
A nivel ultraestructural las MNFs son densas acumulaciones de polímeros conocidos como filamentos helicoidales apareados (FHAs),^{3,4} los cuales se distribuyen principalmente en la zona perinuclear de la neurona y sus procesos proximales (*Figura 1A*). Desde 1988⁵ se descubrió que la proteína tau es el principal constituyente estructural de los FHAs y se sabe ahora que representa la subunidad misma del filamento.^{3,6,7} En condiciones normales la proteína tau (MAP, por sus siglas en inglés, microtubule-associated protein) se encuentra en los axones y a través de sus dominios repetidos localizados hacia el extremo carboxilo de la molécula, confiere estabilidad al microtúbulo (MT) mediante ciclos de fosforilación y defosforilación.⁸ En la EA, la proteína tau se encuentra disociada de la β -tubulina con la consecuente desestabilización de los MT del axón (a nivel de microscopía electrónica de transmisión, el axón de la neurona afectada por la MNF no muestra MTs). Otro cambio de la proteína tau en la EA es que se encuentra ensamblada en FHAs. En éstos, la proteína tau, que es su subunidad constitutiva, se encuentra modificada postraduccionalmente. Dentro de estas modificaciones se ha descrito la ubiquitinación,^{9,10} glicación,^{11,12} glicosilación,¹³ nitración,¹⁴ poliaminación.¹⁵ No obstante la hiperosforilación¹⁶⁻²¹ y la proteólisis endógena^{3,5,22-25} han sido los procesos más estudiados y aceptados en los mecanismos moleculares que llevan a la polimerización estable de la proteína tau en FHAs. A

nivel molecular ambos eventos ocurren a lo largo de la molécula.²⁷⁻²⁹

Desde la década pasada se había confirmado la presencia característica de múltiples formas hiperosforiladas de la proteína tau en los FHAs. Sobre esto, únicamente un grupo de científicos han mostrado evidencias de que la fosforilación de tau favorece el ensamblaje de los FHAs.^{16,17,29,30} La determinación de la participación de la hiperosforilación de la proteína tau en la génesis de los FHAs ha sido limitada al estudio de MNF "maduras" (intracelulares, MNF-I). *Figura 1A* flecha grande), lo cual ofrece una dificultad de interpretación, ya que en una MNF dada, un sinnúmero de procesos patológicos deben estar ocurriendo en forma simultánea y muchos de ellos asociados al proceso de hiperosforilación.^{18,27,29,31}

Otra modificación postraduccional encontrada comúnmente en la proteína tau asociada a los FHAs es una proteólisis endógena (truncación) del extremo carboxilo de la proteína tau en la EA.^{3,22-25,27,32-34} Los investigadores de esta forma patológica de la proteína tau, sostienen que la ruptura de la molécula favorece su polimerización a diferencia de la hiperosforilación.^{34,35}

En los últimos años en estudios principalmente *in vitro* y en animales de experimentación,^{36,37} han sido encontradas evidencias de que la proteína tau tiene un efecto protector. Esta función de la proteína ha sido también sugerida en la EA. Debido a la actual



Braak y Braak (1991); Acta Neuropatol 82:239-259.

Figura 2. Etapas de Braak y Braak. En las etapas transentorrinales (I y II) las áreas inicialmente afectadas son las cortezas transentorrinal y entorrinal adyacente (flecha). En las etapas límbicas (III y IV), además de progresar las lesiones en las citadas áreas, especialmente en la capa II de la corteza entorrinal (flecha), aparece cierto número de MNFs en el hipocampo. En las etapas neocorticales (V y VI) las lesiones se encuentran diseminadas por toda la formación del hipocampo y cortezas transentorrinal y entorrinal, alcanzando áreas isocorticales (flechas). Tomado de Braak y Braak. 1991.

polémica que ha surgido de estos hallazgos, en esta revisión nos enfocamos a analizar tanto los efectos protectores de las especies hiperfosforiladas de la proteína tau así como su relación con las especies tóxicas en la formación de los FHAs.

TRUNCACIONES DEL C-TERMINAL DE LA PROTEÍNA TAU EN LA EA

Truncación del Glu-391. Concepto del núcleo mínimo del FHA

En 1988, Wischik, *et al.*^{3,5} descubrieron que la proteína tau asociada a los FHAs insolubles resistentes a pronasa se caracterizaban por una ruptura en la po-

sición Glu391 del extremo carboxilo. Esta truncación es identificada específicamente por el anticuerpo monoclonal 423.^{22,32} Estudios subsecuentes de solubilización con esa fracción de filamentos resistentes a proteasas, lograron identificar una subunidad de dichos filamentos.^{23,24} Esta subunidad correspondió a un fragmento de tau de 90-92 aa de longitud con un peso molecular de 12.5 KDa. Característicamente este fragmento es altamente estable e insoluble. La sobre-expresión de este fragmento de la proteína tau en cultivos celulares produjo la muerte de las células por apoptosis, lo cual evidenció su alta toxicidad.³⁸ Estudios de microscopía confocal demostraron que este fragmento está oculto en el FHA y se expone después de tratamiento con ácido fórmico.³⁹ Estas evidencias llevó a esos investigadores a denominarlo núcleo (core) del FHA.³ De acuerdo con la hipótesis acerca de la truncación de tau, en la EA, la presencia del núcleo mínimo del FHA (nmF) en el citoplasma de las neuronas susceptibles, desencadena un proceso autocatalítico mediante el cual el fragmento tiene una alta afinidad por la misma secuencia en la tau intacta entonces se unen, así, mediante ciclos de unión-ruptura unión, se va formando el proto-filamento. En esta hipótesis, el núcleo que dio origen al filamento queda oculto dentro de la gran cantidad de moléculas de tau que lo cubren, entre las cuales, las formas hiperfosforiladas de tau son las más importantes. Esto tendría como consecuencia que en la MNF-I (Figura 1A. Flecha grande) solamente las formas hiperfosforiladas de tau sean evidentes. El nmF ya ensamblado sería expuesto por la muerte de la neurona y la actividad proteolítica extracelular. La estructura que refleja esto es la MNF extracelular o "fantasma" (Figura 1A. Flecha chica) que comparte propiedades con el nmF como la estabilidad, insolubilidad y su inmunorreactividad al anticuerpo 423.^{39,40} Cabe enfatizar que hasta el momento se desconoce la naturaleza de la proteasa responsable de la truncación en el Glu-391 que da origen al epítopo del AcM. 423.

Truncación de la proteína tau en el Asp421

En 2003, Binder, *et al.* de la Universidad de Northwestern en Chicago, descubrieron una segunda truncación de la proteína tau asociada a los FHAs.^{41,42} Esta truncación se encontró en la posición Asp421 del extremo carboxilo de la molécula. Este sitio de corte de la proteína tau es detectada específicamente por el AcM TauC-3.^{29,42} A diferencia con la truncación en el Glu391 en la que se descono-

ce la proteasa responsable. Estudios *in vitro* permitieron demostrar que la caspasa 3, una enzima implicada en la vía apoptótica, es la responsable de la truncación en el Asp421.⁴² Este dato, *per se*, sugirió que este corte del extremo carboxilo de la proteína tau pudiera deberse a una respuesta de la neurona para prevenir o controlar la polimerización de tau en FHAs.⁴³ En el 2005, el mismo grupo de la Universidad de Northwestern descubrió una truncación en el lado amino de la proteína tau asociada al FHAs. Este corte correspondió al Asp13, el cual es producido por la caspasa-6, enzima implicada en la vía apoptótica.⁴⁴ Hasta el momento, no se ha logrado producir un anticuerpo que detecte este sitio de corte del extremo amino de la proteína tau.

HIPERFOSFORILACIONES DE LA PROTEÍNA TAU EN LA EA

La proteína tau normalmente presenta de 1-3 molles de fosfato por mol de proteína tau (*Figura 3*). En cerebros de autopsia de casos con la EA, se encuentra de tres a cuatro veces más elevada la fosforilación, que en sujetos controles de la misma edad.^{45,46} No obstante las evidencias experimentales de que la hiperfosforilación de la proteína tau, en la EA, tiene

un efecto neurotóxico, recientemente ha sido sugerido que las especies hiperfosforiladas de la proteína tau participan en un complejo proceso protector, tanto en la agregación inicial de la molécula como en su subsecuente polimerización en FHAs.⁴⁷⁻⁴⁹

NEUROPROTECCIÓN DE LA FOSFORILACIÓN DE LA PROTEÍNA TAU EN LA EA

Durante la neurodegeneración en la EA, la proteína tau está anormalmente fosforilada en la región rica de prolinas en los aminoácidos Ser y Thr,⁵⁰ estos sitios de fosforilación pueden ser identificados con anticuerpos altamente específicos como son: AT8 (Ser202/Thr205), AT100 (Ser212 y Ser214), TG3 (Thr231/Ser235) y PHF-1 (Ser396/Ser404) (*Figura 3*), entre otros. El incremento de la fosforilación de la proteína tau en la EA ha sido asociado a un mecanismo de protección contra el estrés oxidativo.⁵¹ Como se ha referido ya, en la EA, en las neuronas con degeneración fibrilar los MTs se encuentran despolimerizados, sin embargo, en un estudio en MNFs se encontró evidencias de MT intactos.⁵² Este hallazgo hizo sugerir que una fracción de la proteína tau fosforilada sigue asociada a los MTs.⁵¹ En modelos animales fue confir-

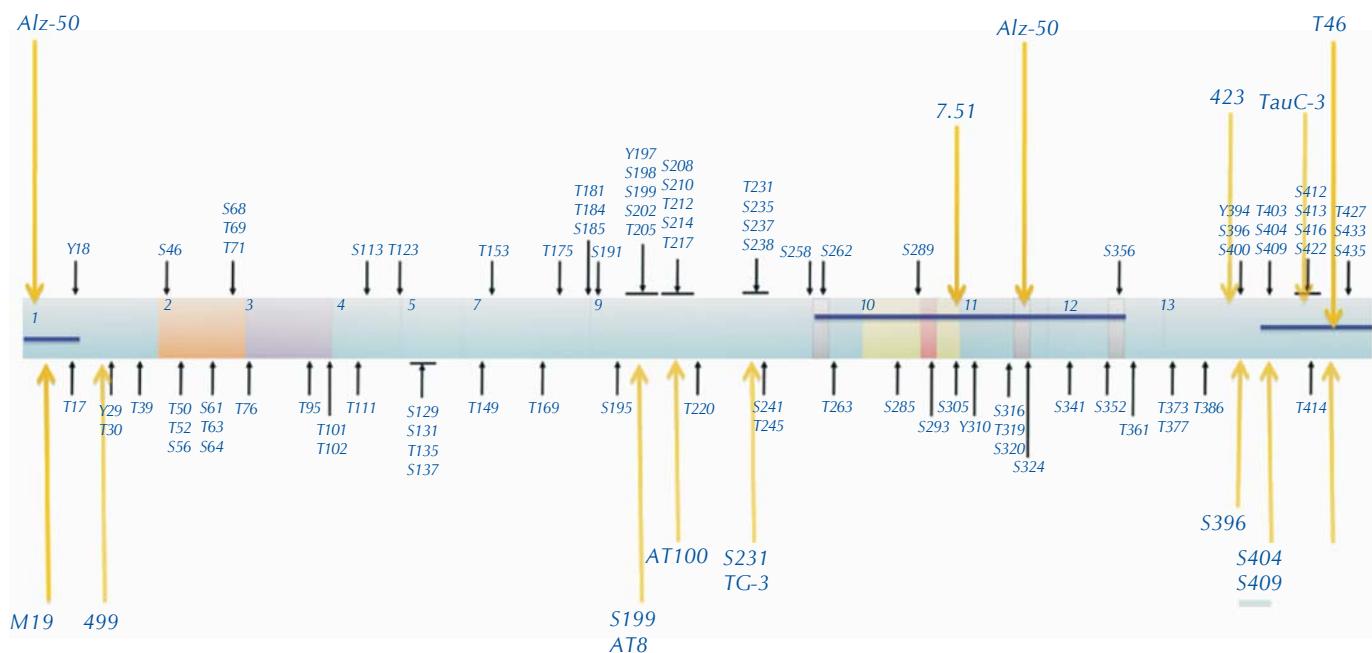


Figura 3. Sitios de fosforilación de la proteína tau. La proteína tau tiene 85 posibles de fosforilación (negro): 45 serinas, 35 treoninas y cinco tirosinas. En la EA se han encontrado 30 sitios donde la proteína tau se encuentra anormalmente fosforilada (rojo). En verde se señalan las formas fosforiladas encontradas cerebros normales y en azul las fosforilaciones de tau encontradas en casos normales y de la EA. También se muestran algunos sitios de reconocimiento de anticuerpos dirigidos contra la proteína tau (flechas amarillas).

mado que el transporte axonal no se afecta con la sobre expresión o disminución de la proteína tau *in vivo*.^{53,54} Otro estudio encontró evidencias de que la axonopatía precede a la formación de las MNFs en un ratón transgénico.⁵⁵ Las MNFs encontradas estaban asociadas a las especies fosforiladas de la proteína tau, sin embargo, estos experimentos demostraron que las neuronas con neurodegeneración parecían ser aún funcionales.⁵⁵ Estas observaciones, en su conjunto, sugieren que la acumulación en el citoplasma de la proteína tau hiperfosforilada se encuentra en un estado no tóxico, similar a la lipofucsina que se acumula para no alterar el metabolismo celular.⁵⁰ En general, se asume que la desintegración del MT se asocia a un desbalance entre las cinasas y fosfatasas, lo que genera una alteración en la estabilidad del MT, lo que altera la función celular y finalmente culminar con la muerte neuronal. Esta información sugiere que, en realidad, por lo menos una subpoblación de MNFs hiperfosforiladas podrían no ser tóxicas. Esto es un tema muy controversial dado el hecho de que la hiperfosforilación de tau y las MNFs se han considerado altamente tóxicas. Sin embargo, existen estudios como el que demuestra que fracciones de la proteína tau, que han sido purificadas de cerebros con la EA, alteran el ensamblaje de los MT *in vitro* de una forma directa que se ha atribuido al secuestro de moléculas de tau normal.¹⁶ Alonso A, et al.⁵⁶ demostraron que la recombinante de tau hiperfosforilada *in vitro* disminuye la ruptura de los MT cuando la recombinante se ensambla en pequeños agregados.^{17,56} Con estos resultados los autores sugirieron que la proteína tau hiperfosforilada juega un papel protector contra la desintegración de los MT.

Tau hiperfosforilada con la cinasa GSK3-β tiene una afinidad a los Ac. AT8, TG-3 y PHF1, mismos cuyos epítopos son característicos de la EA.^{57,58} El hecho de que la GSK3-β sea capaz de formar epítopos considerados patológicos en la EA sugiere que éstos no lo son del todo. Estos datos hicieron sugerir la posible existencia de una especie tóxica de la proteína tau (no fosforilada), que sería la responsable del secuestro de otras moléculas de tau en el FHA y que no estaría expuesta en el filamento.^{3,39,40} En general, de este estudio podría sugerir que esta población de FHA, al tener oculta a la forma tóxica, *per se*, serían, en realidad, estructuras que protegerían la sobrevida de la neurona. En particular, estas observaciones relacionan la presencia de la proteína tau hiperfosforilada como respuesta ante la presencia de un fragmento o fragmentos altamente tóxicos de la molécula de tau. Es importante notar que los presumibles "inter-

mediarios" se presentan en el citoplasma de la neurona cuando aún es viable. En otro estudio se demostró que las MNFs (y presumiblemente los oligómeros de tau) pueden mantenerse en el citoplasma de la neurona por décadas,⁵⁹ lo cual argumenta también contra una toxicidad primaria de la proteína tau fosforilada en la EA.

LA HIPERFOSFORILACIÓN DE LA PROTEÍNA TAU PROTEGE A LAS NEURONAS DE LA APOPTOSIS

Se ha propuesto también que la apoptosis juega un papel importante en el daño neuronal en la EA. Esta propuesta se basa en la detección de ADN fragmentado y así como la expresión de proteínas de señalización de apoptosis tales como las caspasas 3, 6, 8 y 9, Bax, Fas y Fas-L en corteza e hipocampo en tejido cerebral postmortem^{60,61} y el amiloide-β puede inducir la apoptosis neuronal. Sin embargo, la apoptosis es un proceso que usualmente ocurre en horas, mientras que la acumulación de las marañas que se encuentran en los cerebros con la EA se desarrollan por años.⁵⁹ Se ha propuesto que la hiperfosforilación de la proteína tau es un mecanismo que utiliza la célula para evadir su muerte por apoptosis. Esto se basa en estudios donde la sobreexpresión de la proteína tau en cultivos celulares (fosforilada o no). Los resultados indicaron que aquellas células que sobreexpresaron tau hiperfosforilada evadieron la apoptosis.⁶²

PARTICIPACIÓN DE LAS ESPECIES HIPERFOSFORILADAS Y TRUNCADAS EN LA FORMACIÓN INICIAL DE LOS FHAs. MODELO DEL MECANISMO DE ENSAMBLE

No obstante el aumento notable de las publicaciones acerca de la función protectora que la proteína tau pudiera tener en la EA, ningún trabajo serio se ha presentado relacionando las especies fosforiladas (presuntamente protectoras) y las truncadas (tóxicas, en particular la del nmF) en el complejo mecanismo del ensamblaje estable e insoluble de la proteína tau en FHAs. En los últimos años nos hemos dedicado a la caracterización de los estados iniciales del procesamiento de la proteína tau en neuronas en estado de premaraña (*Figura 1B*. Flecha), entidad estructural representada por neuronas susceptibles que mostrando la presencia de las especies patológicas presentes en las MNF, no muestran la presencia de estructuras ensambladas en FHA. Las

premarañas son el resultado de los primeros pasos de agregación no fibrilar de la proteína tau en la EA. Con nuestros estudios pudimos evidenciar que en procesamiento de tau ocurren, al parecer, simultáneamente, por lo menos cinco diferentes eventos posiblemente relacionados entre sí (*Figura 4*). Estos eventos incluyen:

- 1) La presencia de una especie truncada (Glu391) altamente tóxica, el nmF.
- 2) Una cascada específica de fosforilaciones del lado amino de la proteína tau.

- 3) Una truncación del extremo carboxilo por acción de caspasa 3.
- 4) Agregación y oligomerización de las especies de tau.
- 5) Ensamble de FHAs.

De acuerdo con este modelo, el primer evento que ocurre en la formación de los FHAs y con ello a las MNF estaría representado por la aparición (origen desconocido) de la subunidad correspondiente al nmf (*Figura 4A*): La alta toxicidad explicada por su notable afinidad de unión a moléculas de tau intac-

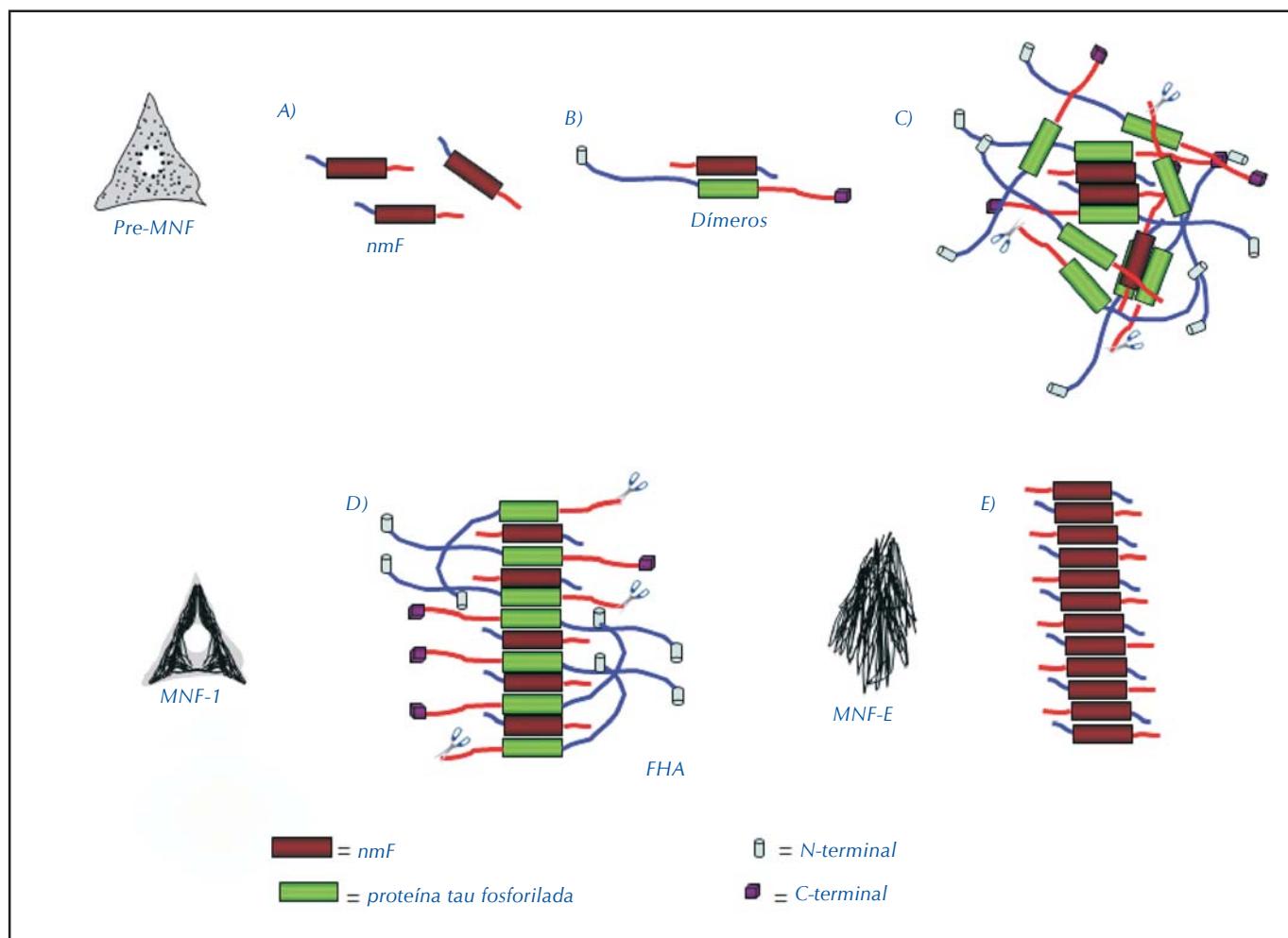


Figura 4. Esquema que ilustra los pasos tempranos de agregación y polimerización de la proteína tau en la enfermedad de Alzheimer. El modelo comienza con la aparición (origen desconocido) del nmF en el citoplasma de las neuronas susceptibles (**A**). La alta capacidad de unión de este fragmento produce la formación de dímeros (nmF/Tau intacta) en el citoplasma (**B**). La fosforilación de la tau intacta sería un evento inmediato y masivo para ocultar al nmF que es altamente tóxico lo que lleva a la formación de agregados soluble de moléculas fosforiladas en varios sitios en su porción amino (**C**). La alta afinidad y estabilidad de los proto-filamentos que integran al nmF permite que las moléculas de tau procesadas se vayan alienando para formar los FHAs en las MNF-I (**D**). Con la muerte de la neurona, la subunidad del nmF se expone nuevamente en las MNF-E. Ver detalles del modelo en el texto.

tas desencadenaría un mecanismo inmediato de protección de la célula que estaría reflejado por la masiva hiperfosforilación de la molécula en un intento fallido para ocultar al nmF y evitar el secuestro de moléculas intactas de tau (*Figura 4 B y C*). En la EA esta función protectora de las especies fosforiladas sólo favorecerían que haya más moléculas disponibles para su secuestro y formación de FHAs, los cuales representan, finalmente un polímero constituido por fragmentos de tau, lo cuales en la MNF intracelular (*Figura 4 D*), muchos de ellos están fosforilados, pero que pierden esta característica en las MNF-E (*Figura 4E*), en las cuales, por efecto de la proteólisis exógena exponen al nmF. Este modelo está esquematizado en la *figura 4*.

Cabe mencionar que en este mecanismo de protección de las especies fosforiladas de la proteína tau está muy simplificado por razones de explicación; sin embargo, a estos pasos hay que añadir otros consecuencias moleculares catastróficas como la fragmentación de los MT, disfunciones sinápticas, estrés oxidativo y otras alteraciones de las especies de tau. Finalmente, de acuerdo con nuestros resultados y el modelo presentado, el la formación de los FHAs, las especies fosforiladas de la proteína tau juegan un papel muy importante en la protección inicial de la neurona para prevenir el ensamblaje de la molécula lo cual, a ultranza mataría a la neurona y produciría la demencia progresiva en la EA. En este entendido, es posible sugerir que las MNFs las cuales característicamente están densamente hiperfosforiladas podrían representar otro mecanismo para mantener y de cierta forma proteger la funcionalidad de la neurona que padecer la degeneración fibrilar. Se requieren más estudios para confirmar esta hipótesis que parece, hasta ahora, una de las que mejor explican la catástrofe molecular que lleva a la formación de las MNFs.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a las familias mexicanas quienes a través de la donación del cerebro de sus seres queridos afectados con la EA, han hecho posible nuestras investigaciones. A la Sra. Maricarmen De Lorenz por su notable apoyo secretarial y a la Sra. Amparo Viramontes por su apoyo en el mantenimiento del tejido cerebral. Financiado por CONACYT, No. 102278.

REFERENCIAS

- Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 239-59.
- Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretzschmar H, Del Tredici K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol* 2006; 112: 389-404.
- Wischik CM, Novak M, Edwards PC, Klug A, Tichelaar W, Crowther RA. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4884-8.
- Kidd M. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 1963; 197: 192-3.
- Wischik CM, Novak M, Thogersen HC, et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4506-10.
- Crowther RA, Wischik CM. Image reconstruction of the Alzheimer paired helical filament. *Embo J* 1985; 4: 3661-5.
- Kondo J, Honda T, Mori H, et al. The carboxyl third of tau is tightly bound to paired helical filaments. *Neuron* 1988; 1: 827-34.
- Lee G, Neve RL, Kosik KS. The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron* 1989; 2: 1615-24.
- Perry G, Friedman R, Shaw G, Chau V. Ubiquitin is detected in neurofibrillary tangles and senile plaque neurites of Alzheimer disease brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 3033-6.
- Mori H, Kondo J, Ihara Y. Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235: 1641-4.
- Ledesma MD, Bonay P, Avila J. Tau protein from Alzheimer's disease patients is glycated at its tubulin-binding domain. *J Neurochem* 1995; 65: 1658-64.
- Ledesma MD, Bonay P, Colaco C, Avila J. Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments. *J Biol Chem* 1994; 269: 21614-19.
- Wang JZ, Grundke-Iqbali I, Iqbal K. Glycosylation of microtubule-associated protein tau: an abnormal posttranslational modification in Alzheimer's disease. *Nat Med* 1996; 2: 871-5.
- Horiguchi T, Uryu K, Giasson BI, et al. Nitration of tau protein is linked to neurodegeneration in tauopathies. *Am J Pathol* 2003; 163: 1021-31.
- Tucholski J, Kuret J, Johnson GV. Tau is modified by tissue transglutaminase in situ: possible functional and metabolic effects of polyamination. *J Neurochem* 1999; 73: 1871-80.
- Alonso AC, Grundke-Iqbali I, Iqbal K. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med* 1996; 2: 783-7.
- Alonso A del C, Li B, Grundke-Iqbali I, Iqbal K. Polymerization of hyperphosphorylated tau into filaments eliminates its inhibitory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8864-9.
- Augustinack JC, Schneider A, Mandelkow EM, Hyman BT. Specific tau phosphorylation sites correlate with severity of neuronal cytopathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2002; 103: 26-35.
- Bancher C, Brunner C, Lassmann H, et al. Accumulation of abnormally phosphorylated tau precedes the formation of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1989; 477: 90-9.
- Goedert M, Jakes R, Crowther RA, et al. The abnormal phosphorylation of tau protein at Ser-202 in Alzheimer disease recapitulates phosphorylation during development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5066-70.
- Goedert M, Klug A, Crowther RA. Tau protein, the paired helical filament and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006; 9: 195-207.
- Novak M. Truncated tau protein as a new marker for Alzheimer's disease. *Acta Virol* 1994; 38: 173-89.
- Novak M, Jakes R, Edwards PC, Milstein C, Wischik CM. Difference between the tau protein of Alzheimer paired helical filament core and normal tau revealed by epitope analysis of monoclonal antibodies 423 and 7.51. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5837-41.
- Novak M, Kabat J, Wischik CM. Molecular characterization of the minimal protease resistant tau unit of the Alzheimer's disease paired helical filament. *Embo J* 1993; 12: 365-70.
- Wischik CM, Edwards PC, Lai RY, et al. Quantitative analysis of tau protein in paired helical filament preparations: implications for the role of tau protein phosphorylation in PHF assembly in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 409-417; discussion 418-431.
- Kuret J, Chirita CN, Congdon EE, et al. Pathways of tau fibrillization. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739: 167-78.

27. Garcia-Sierra F, Ghoshal N, Quinn B, Berry RW, Binder LI. Conformational changes and truncation of tau protein during tangle evolution in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2003; 5: 65-77.
28. Garcia-Sierra F, Mondragon-Rodriguez S, Basurto-Islands G. Truncation of tau protein and its pathological significance in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2008; 14: 401-9.
29. Guillozet-Bongaarts AL, Garcia-Sierra F, Reynolds MR, et al. Tau truncation during neurofibrillary tangle evolution in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2005; 26: 1015-22.
30. Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Discoveries of tau, abnormally hyperphosphorylated tau and others of neurofibrillary degeneration: a personal historical perspective. *J Alzheimers Dis* 2006; 9: 219-42.
31. Ghoshal N, Garcia-Sierra F, Fu Y, et al. Tau-66: evidence for a novel tau conformation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2001; 77: 1372-85.
32. Novak M, Wischik CM, Edwards P, Pannell R, Milstein C. Characterisation of the first monoclonal antibody against the pronase resistant core of the Alzheimer PHF. *Prog Clin Biol Res* 1989; 317: 755-61.
33. Garcia-Sierra F, Hauw JJ, Duyckaerts C, Wischik CM, Luna-Munoz J, Mena R. The extent of neurofibrillary pathology in perforant pathway neurons is the key determinant of dementia in the very old. *Acta Neuropathol* 2000; 100: 29-35.
34. Garcia-Sierra F, Wischik CM, Harrington CR, Luna-Munoz J, Mena R. Accumulation of C-terminally truncated tau protein associated with vulnerability of the perforant pathway in early stages of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *J Chem Neuroanat* 2001; 22: 65-77.
35. Guillozet-Bongaarts AL, Cahill ME, Cryns VL, Reynolds MR, Berry RW, Binder LI. Pseudophosphorylation of tau at serine 422 inhibits caspase cleavage: in vitro evidence and implications for tangle formation in vivo. *J Neurochem* 2006; 97: 1005-14.
36. Su B, Wang X, Drew KL, Perry G, Smith MA, Zhu X. Physiological regulation of tau phosphorylation during hibernation. *J Neurochem* 2008; 105: 2098-108.
37. Arendt T, Stieler J, Strijkstra AM, et al. Reversible paired helical filament-like phosphorylation of tau is an adaptive process associated with neuronal plasticity in hibernating animals. *J Neurosci* 2003; 23: 6972-81.
38. Fasulo L, Visintin M, Novak M, Cattaneo A. Tau truncation in Alzheimer's disease: encompassing PHF core tau induces apoptosis in a COS cells. *Alzheimers's reports* 1998; 1: 25-32.
39. Mena R, Edwards PC, Harrington CR, Mukatova-Ladinska EB, Wischik CM. Staging the pathological assembly of truncated tau protein into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1996; 91: 633-41.
40. Mena R, Edwards P, Perez-Olvera O, Wischik CM. Monitoring pathological assembly of tau and beta-amyloid proteins in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1995; 89: 50-6.
41. Gamblin TC, Berry RW, Binder LI. Tau polymerization: role of the amino terminus. *Biochemistry* 2003; 42: 2252-7.
42. Gamblin TC, Chen F, Zambrano A, et al. Caspase cleavage of tau: linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10032-7.
43. Mena R-Al-MJ. Stages of pathological tau-protein processing in Alzheimer's disease: from soluble aggregations to polymerization into insoluble tau-PHF. In: Maccioni R. PG, ed. *currents hypotheses and research milestones in Alzheimer's disease*, Springer ed. New York, USA: 2009, p. 243.
44. Horowitz PM, LaPointe N, Guillozet-Bongaarts AL, Berry RW, Binder LI. N-terminal fragments of tau inhibit full-length tau polymerization in vitro. *Biochemistry* 2006; 45: 12859-66.
45. Khatoon S, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Brain levels of microtubule-associated protein tau are elevated in Alzheimer's disease: a radioimmuno-slot-blot assay for nanograms of the protein. *J Neurochem* 1992; 59: 750-53.
46. Khatoon S, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Levels of normal and abnormally phosphorylated tau in different cellular and regional compartments of Alzheimer disease and control brains. *FEBS Lett* 1994; 351: 80-4.
47. King ME. Can tau filaments be both physiologically beneficial and toxic? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739: 260-7.
48. Congdon EE, Duff KE. Is tau aggregation toxic or protective? *J Alzheimer's Dis* 2008; 14: 453-7.
49. Gotz J, Ittner LM, Fandrich M, Schonrock N. Is tau aggregation toxic or protective: a sensible question in the absence of sensitive methods? *J Alzheimers Dis* 2008; 14: 423-9.
50. Castellani RJ, Nunomura A, Lee HG, Perry G, Smith MA. Phosphorylated tau: toxic, protective, or none of the above. *J Alzheimers Dis* 2008; 14: 377-83.
51. Lee HG, Perry G, Moreira PI, et al. Tau phosphorylation in Alzheimer's disease: pathogen or protector? *Trends Mol Med* 2005; 11: 164-9.
52. Cash AD, Aliev G, Siedlak SL, et al. Microtubule reduction in Alzheimer's disease and aging is independent of tau filament formation. *Am J Pathol* 2003; 162: 1623-7.
53. Harada A, Oguchi K, Okabe S, et al. Altered microtubule organization in small-calibre axons of mice lacking tau protein. *Nature* 1994; 369: 488-91.
54. Yuan A, Kumar A, Peterhoff C, Duff K, Nixon RA. Axonal transport rates in vivo are unaffected by tau deletion or overexpression in mice. *J Neurosci* 2008; 28: 1682-7.
55. Leroy K, Bretteville A, Schindowski K, et al. Early axonopathy preceding neurofibrillary tangles in mutant tau transgenic mice. *Am J Pathol* 2007; 171: 976-92.
56. Alonso A, Zaidi T, Novak M, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Hyperphosphorylation induces self-assembly of tau into tangles of paired helical filaments/straight filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6923-8.
57. Jicha GA, Berenfeld B, Davies P. Sequence requirements for formation of conformational variants of tau similar to those found in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 1999; 55: 713-23.
58. Jicha GA, Bowser R, Kazam IG, Davies P. Alz-50 and MC-1, a new monoclonal antibody raised to paired helical filaments, recognize conformational epitopes on recombinant tau. *J Neurosci Res* 1997; 48: 128-32.
59. Morsch R, Simon W, Coleman PD. Neurons may live for decades with neurofibrillary tangles. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 188-97.
60. Guo H, Albrecht S, Bourdeau M, Petzke T, Bergeron C, LeBlanc AC. Active caspase-6 and caspase-6-cleaved tau in neuropil threads, neuritic plaques, and neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2004; 165: 523-31.
61. Lassmann H, Bancher C, Breitschopf H, et al. Cell death in Alzheimer's disease evaluated by DNA fragmentation in situ. *Acta Neuropathol* 1995; 89: 35-41.
62. Li HL, Wang HH, Liu SJ, et al. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing beta-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 3591-6.



Correspondencia: Dr. Raúl Mena.

Av. IPN 2506 Col. San Pedro Zacatenco. México, D.F. C.P. 07360.
Tel.: 5747-3362.

Correo electrónico: rmena@fisiocinvestav.mx,
jluna@fisiocinvestav.mx

Artículo recibido: Febrero 20, 2012.

Artículo aceptado: Junio 15, 2012.