



**FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**JUNIO 2017**

**PROTEOSTASIS Y REPARACIÓN DEL DNA: RELACIÓN CON  
LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS  
*PROTEOSTASIS AND DNA REPAIR: RELATIONSHIP WITH  
NEURODEGENERATIVE DISEASES***

***Autora:* Celia Díaz Merayo**

***Director:* Iñigo Casafont Parra**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
1.1. Neurodegeneración .....	2
1.2. Proteostasis.....	3
1.3. Reparación del DNA .....	5
1.4. Sistemas de degradación de proteínas: Ubiquitina y SUMO.....	7
1.5. El sistema Ubiquitina-proteasoma en las enfermedades neurodegenerativas .....	10
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>13</b>
4.1. Relación entre los daños y defectos de la reparación del DNA en las enfermedades neurodegenerativas .....	13
4.2. Reparación de los daños del genoma en el sistema nervioso central .....	15
4.3. Relación entre el daño en el genoma y la gravedad de la enfermedad neurodegenerativa.....	16
4.4. Defectos en la reparación del DNA y sus efectos en enfermedades neurodegenerativas .....	17
4.5. La respuesta patológica al daño persistente del genoma en las neuronas.....	20
4.6. La inhibición de la UPS se relaciona con la agregación de proteínas y con citotoxicidad.....	21
4.7. Deterioro del proteasoma y alfa-sinucleína .....	21
4.8. Deterioro del proteasoma y Amiloide-beta.....	25
4.9. Deterioro del proteasoma y la proteína Tau .....	26
4.10. Toxicidad oligómeros Tau en las enfermedades neurodegenerativas .....	27
4.11. Los efectos perjudiciales de oligómeros Tau sobre el UPS.....	28
4.12. La ubiquitinación y sumoilación de oligómeros Tau .....	28
<b>5. DISCUSION .....</b>	<b>31</b>
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>33</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>36</b>

## RESUMEN

Un gran número de enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la acumulación de agregados de proteínas amiloidogénicas como la Tau, Alfa-sinucleína y Beta-amiloide. Previa a la formación de agregados estables, aparecen especies intermedias de estas proteínas: los oligómeros. Los oligómeros pueden ser más tóxicos y patológicamente más significativos en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (EA) y el Parkinson (EP). Las neuronas son células que presentan una fuerte actividad metabólica asociada a una elevada actividad transcripcional. Tratándose de células de vida larga las hacen vulnerables al daño oxidativo del genoma, incluyendo roturas de la cadena de DNA y mutaciones de sus bases. Existe una creciente evidencia de una acumulación de lesiones en el DNA que no se reparan en el sistema nervioso central (SNC) durante el envejecimiento acelerado y la neurodegeneración progresiva. Los metales pro-oxidantes, las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las proteínas amiloidogénicas mal plegadas contribuyen a las alteraciones en el genoma del SNC durante el envejecimiento acelerado y la neurodegeneración progresiva. Múltiples daños en el SNC impiden la reparación del DNA, señalando una respuesta al daño en el DNA (DDR) que conduce a la acumulación de daños persistentes, una característica común en las enfermedades neurodegenerativas esporádicas. La ubiquitina y los pequeños modificadores similares a la ubiquitina como las proteínas SUMO son los marcadores comunes que señalan la degradación. Aunque la modificación de grandes agregados amiloides por ubiquitinación está bien establecida, se sabe muy poco sobre el papel que la ubiquitina puede jugar en el procesamiento de los oligómeros y la importancia de la sumoilación. Muchas proteínas implicadas en la neurodegeneración están sumoiladas, notablemente por ejemplo la proteína Tau en los cerebros con EA. Una mejor comprensión de las modificaciones covalentes de los oligómeros podría tener un enorme impacto en el desarrollo de agentes terapéuticos para las enfermedades neurodegenerativas. Hemos revisado los últimos avances de las implicaciones etiológicas del daño del DNA versus el desequilibrio en la reparación, con la anormal señalización DDR en el desencadenamiento de la neurodegeneración y el potencial del DDR como objetivo para la mejora de las enfermedades neurodegenerativas. También nos hemos centrado en la proteólisis de Tau y otras proteínas amiloidogénicas inducidas por modificaciones covalentes, así como la relación entre los oligómeros de Tau y la sumoilación.

Palabras clave: Alzheimer; Parkinson; Neurodegenerative diseases; SUMO; Proteasoma; Ubiquitina; Tau; HRR (Homologous Recombination Repair); NHEJ (Non Homologous End Joining); y DSBs (Double-Strand DNA Breaks).

## ABSTRACT

A large number of neurodegenerative diseases are characterized by the accumulation of aggregates of amyloidogenic proteins such as Tau, Alpha-synuclein and Beta-amyloid. Prior to the formation of stable aggregates, intermediate species of these proteins appear Oligomers. Oligomers may be more toxic and pathologically more significant in neurodegenerative diseases

such as Alzheimer's (EA) and Parkinson's (EP). Neurons are cells with a strong metabolic activity associated with a high transcriptional activity. When dealing with long-lived cells, they make them vulnerable to oxidative damage in the genome, including Double-strand DNA breaks and mutations of their bases. There are increased evidences of an accumulation of DNA damage that does not repair in the central nervous system (SNC) during accelerated aging and progressive neurodegeneration. Pro-oxidant metals, reactive oxygen species (ROS), and poorly folded amyloidogenic proteins contribute to alterations in the SNC genome during accelerated aging and progressive neurodegeneration. Multiple CNS damages prevent DNA repair by pointing to a DNA damage (DDR) response that leads to persistent damage accumulation, a common feature in sporadic neurodegenerative diseases. Ubiquitin and ubiquitin-like modifiers such as SUMO proteins are common markers to signal degradation. Although the modification of large amyloid aggregates by ubiquitination is well established, very little is known about the role that ubiquitin can play in the processing of oligomers and the importance of sumoylation. Many proteins involved in neurodegeneration are sumoylated, notably for example the Tau protein in brains with EA. A better understanding of the covalent modifications of the oligomers could have a huge impact on the development of therapeutic agents for neurodegenerative diseases. We have reviewed the latest advances in the etiological implications of DNA damage versus imbalance in repair, with abnormal DDR signaling in the onset of neurodegeneration and the potential for DDR as a target for the improvement of neurodegenerative diseases. We have also focused the work on the proteolysis of Tau and other amyloidogenic proteins induced by covalent modifications, as well as the relationship between Tau oligomers and sumoylation.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Neurodegeneración**

Con el envejecimiento de la población, las enfermedades neurodegenerativas son cada vez más frecuentes y suponen unos costes cada vez más importantes en el sistema sanitario (1,2,3) (Cacabelos, 2017; Kerner et al., 2014; Mu et al., 2008).

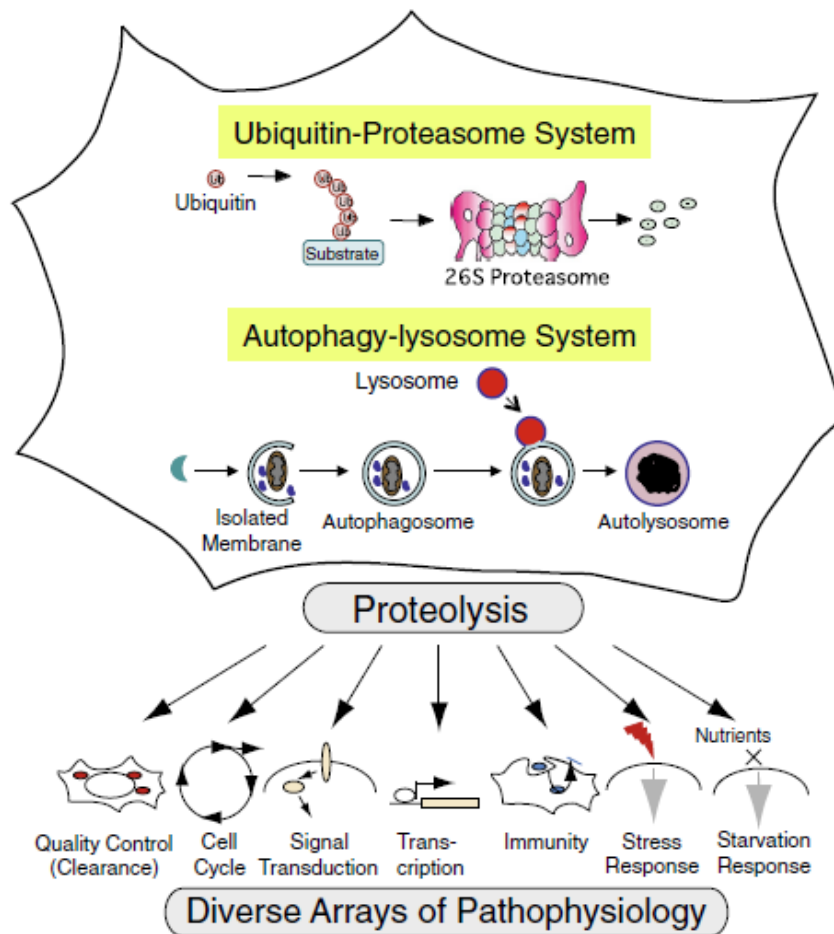
El término neurodegeneración describe un conjunto diverso de más de 600 enfermedades neurodegenerativas, caracterizadas por la pérdida de grupos específicos de neuronas tanto en el cerebro como en la médula espinal. Si bien la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas son esporádicas, se estima que alrededor del 10-20% de ellas se deben a mutaciones hereditarias específicas que aceleran su fenotipo en presencia de diversos factores ambientales. Las enfermedades neurodegenerativas más comunes son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), la enfermedad de Huntington (HD), la esclerosis múltiple (EM) y las enfermedades de priones. Todas ellas no sólo se asocian con el envejecimiento, sino que se relacionan también a distintas etiologías como mutaciones somáticas, cambios epigenéticos, factores ambientales (estrés, infección y nutrición) e inestabilidad genómica (1,2) (Cacabelos, 2017; Kerner et al., 2014).

### **1.2. Proteostasis**

El término proteostasis, combinación de las palabras proteína y homeostasis, se refiere al hecho de que las células presentan vías biológicas que controlan la génesis, el plegamiento, el tráfico y la degradación de proteínas presentes tanto en el interior como en el exterior de la célula. Controlar este mecanismo es fundamental para comprender la causa de las enfermedades asociadas con el exceso de proteínas mal plegadas y las causas que conducen a la aparición de enfermedades asociadas a trastornos degenerativos (3) (Mu et al., 2008). Las deficiencias en su control conducen a diversos trastornos metabólicos, oncológicos, neurodegenerativos y cardiovasculares. Los sistemas que regulan estos procesos son pequeñas moléculas que manipulan la concentración, la conformación, la estructura cuaternaria y/o la ubicación de las proteínas y tienen el potencial de mejorar algunas de las enfermedades más prevalentes en la actualidad, pero sobre todo en el futuro debido a su asociación con el envejecimiento de la población (4) (Tanaka et al., 2014). Se hace además imprescindible conocer los mecanismos de adaptación de la proteostasis que permitan su restauración una vez que su mal funcionamiento conduzca a la patología. Por lo tanto, la proteostasis celular es clave para asegurar el desarrollo, el envejecimiento saludable y la resistencia al estrés ambiental manteniendo la salud del proteoma y del organismo.

Las proteínas dentro de la célula presentan un estado dinámico que busca el equilibrio adecuado entre la síntesis y la degradación de las mismas. La proteólisis juega un papel central en la renovación de proteínas de cara a mantener la calidad de las proteínas en la célula mediante la destrucción de los componentes disfuncionales. La proteostasis es un proceso crítico que funciona mal en las enfermedades neurodegenerativas y en otros trastornos caracterizados por la acumulación de proteínas tóxicas. Existen dos mecanismos de destrucción de proteínas disfuncionales: el sistema ubiquitina-proteasoma y la degradación autofágica. Ambos sistemas garantizan la proteólisis en las células eucariotas (Figura 1). El proteasoma, en colaboración con el sistema de ubiquitina que marca las proteínas diana, degrada selectivamente las proteínas reguladoras de vida corta que participan en el control homeostático de la célula y las proteínas anormales con estructuras aberrantes cuya acumulación en exceso es dañina (5) (Tanaka, 2013).

Por el contrario, la degradación autofágica se veía como un proceso no selectivo en comparación con el proteasoma, estudios recientes han demostrado que puede ser más selectiva de lo que se creía y se ha establecido su disfunción en las enfermedades neurodegenerativas (6) (Shibutani et al., 2014). Esta última ruta era la forma para asegurar los nutrientes en condiciones de escasez. Sin embargo, más recientemente, han surgido datos sorprendentes que demuestran que la autofagia, trabajando en conjunto con la ubiquitina (sistema autofagia-lisosoma) contribuye a un proceso de degradación selectiva (7) (Komatsu et al., 2007).



**Figura 1.** Las dos vías de la proteólisis intracelular: la ubiquitina-proteasoma y la autofagia-lisosoma. Ambos sistemas están vinculados a una gran variedad procesos fisiológicos y patológicos en las células eucariotas. Tanaka et al. 2014

El sistema ubiquitina proteosoma (UPS) parece tener numerosas implicaciones en las enfermedades neurodegenerativas y es por tanto un tema de investigación actual. El deterioro de las neuronas de los pacientes con enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y otras enfermedades del sistema nervioso están relacionadas con proteínas amiloides (Tabla 1). En los pacientes con estas enfermedades probablemente el sistema UPS funciona mal y esto, podría ser uno de los primeros eslabones en la cadena de eventos que conducen a la neurotoxicidad (8) (Deger et al., 2015). La inhibición de la actividad del proteasoma permite a las proteínas defectuosas alcanzar niveles tóxicos (8) (Deger et al., 2015). Un ejemplo destacado es la correlación entre familias con mutaciones en los genes que codifican los componentes principales del UPS y las enfermedades neurodegenerativas (9) (Steece-Collier K et al., 2002).

Enfermedad	Proteínas implicadas	
Parkinson's disease (PD)	$\alpha$ -synuclein	Tau
Alzheimer's disease (AD)	Amyloid- $\beta$	Tau
Huntington's disease (HD)	Huntingtin	Tau
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	TDP43	Tau
Frontotemporal lobar dementia	Tau	
Traumatic brain injury	Tau	
Scrapie	Prion (PrP(Sc))	

**Tabla 1.** Resumen de algunas enfermedades neurodegenerativas y las proteínas amiloides implicadas en su patogenia.(8) (Deger et al., 2015).

### 1.3. Reparación del DNA

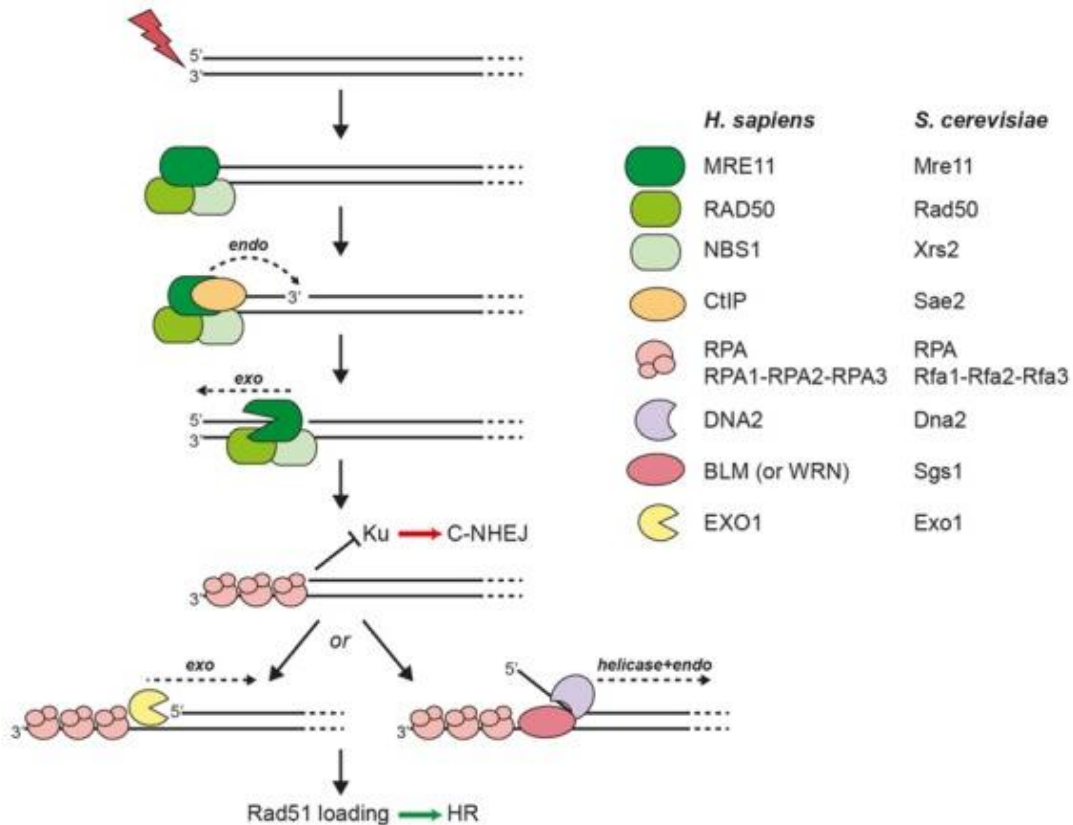
La capacidad de nuestras células para detectar y reparar el DNA dañado es clave para prevenir la inestabilidad genómica (10,11) (Jackson et al., 2009; Ciccio et al. 2010).

Las rupturas de la doble cadena de DNA (DSB) son lesiones particularmente peligrosas ya que su reparación inadecuada puede dar lugar a translocaciones cromosómicas (12,13) (Hanahan et al., 2011; Rodgers et al., 2016). Para evitar esta amenaza, el equilibrio entre las dos principales vías de reparación del DRB, la recombinación homóloga (HR) y la clásica unión no-homóloga (C-NHEJ), se rigen por varios factores (14,15) (Chapman et al., 2012; Ceccaldi et al., 2016). C-NHEJ funciona con una cinética rápida a lo largo de todo el ciclo celular y liga directamente los extremos rotos del DNA sin requerir una cadena complementaria para guiar la reparación (16,17,18) (Chiruvella et al., 2013; Radhakrishnan et al., 2014; Graham et al., 2016). Por el contrario, la HR es más lenta y está restringida a las fases S y G2 del ciclo celular porque requiere una cromátida hermana intacta como plantilla para la reparación dirigida por homología (19,20,21) (Karanam et al., 2012; Jasin et al., 2013; Orthwein et al., 2015). La HR se inicia mediante la resección del extremo del DNA, un mecanismo evolutivamente conservado que genera largos trozos 3' de cadena sencilla de DNA (ssDNA) por degradación nucleolítica de la cadena terminal 5' de DSB (22,23) (Cejka et al., 2015; Daley et al., 2015). En consecuencia, la resección del extremo del DNA es un requisito previo para la formación del complejo proteico Rad51-ssDNA para promover la HR. Al mismo tiempo, impide el montaje de la maquinaria C-NHEJ, más concretamente el heterodímero Ku70-Ku80 (Ku), para puentear y ligar los extremos rotos del DNA (24) (Kakarougkas et al., 2014). Por lo tanto, siendo un determinante crítico de la elección de la vía de reparación DSB, la resección del extremo del DNA se controla estrechamente a través de múltiples mecanismos, incluyendo las modificaciones postraduccionales (PTMs). Por ejemplo, los componentes centrales de la maquinaria de resección de DSB, así como los antagonistas de

resección, sufren fosforilación por quinasas dependientes de ciclina para desplazar gradualmente la reparación de DSB de NHEJ a HR en las etapas post-replicas del ciclo celular (25,26) (Tomimatsu et al., 2014, Tkáč et al., 2016). Además de la fosforilación, estudios recientes han puesto de relieve el papel de la ubiquitilación y de la sumoilación, que controlan casi todos los aspectos de las respuestas celulares al daño del DNA, incluyendo la reparación de los DSBs (27,28) (Jackson et al., 2013; Schwertman et al., 2016). Esto ha sido demostrado en estudios de proteómica de alto rendimiento que revelan que la reparación DDR es facilitada por la ubiquitilación y la sumoilación inducidas por daños globales del DNA (29,30,31) (Cremona et al., 2012; Psakhye et al., 2012; Elia et al., 2015).

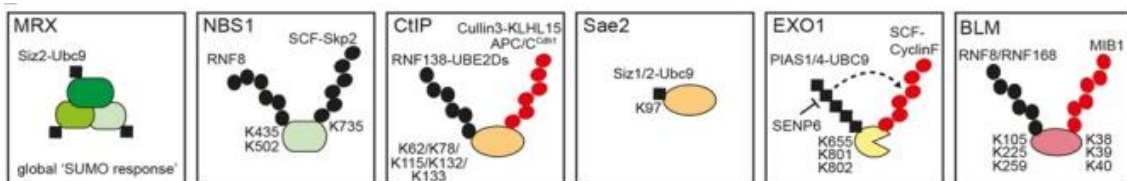
La resección del extremo del DNA en las células eucariotas es un proceso bidireccional que consta de dos etapas siendo iniciado por el complejo de nucleasa MRX (Mre11-Rad50-Xrs2) en conjunción con el complejo MRN (MRE11-RAD50-NBS1). Posteriormente, la resección extendida se realiza mediante dos mecanismos redundantes que implican la exonucleasa 5'-3' Exo1 o la endonucleasa Dna2 en colaboración con la helicasa BLM (o WRN) (22,32) (Cejka et al., 2015; Sturzenegger et al., 2014). Como resultado de este proceso, los tramos de ssDNA son recubiertos rápidamente por RPA, la proteína heterotrimérica de unión a ssDNA, que sirve como plataforma para activar los puntos de control del ciclo celular. Para que el ssDNA se utilice como sustrato para la reparación dirigida por homología, RPA necesita ser reemplazado por Rad51 con la ayuda de mediadores de recombinación, por ejemplo, BRCA2 (33) (Himmels et al., 2016). En la figura 2, se representa un esquema simplificado del modelo bidireccional de resección del extremo del DNA. Tras la inducción de la DSB, el complejo MRX/ N se localiza rápidamente en el sitio dañado. Durante las fases S y G2 del ciclo celular, la resección del extremo del DNA es necesaria para la reparación de las DSBs mediante recombinación homóloga (HR). De acuerdo con la más reciente evidencia bioquímica en la levadura, MRX y Sae2 colaboran en la iniciación de la resección del extremo del DNA a través de la división endonucleolítica de la cadena terminada en 5' hacia arriba del extremo DDR. A partir de la melladura, se supone que por la actividad exonucleasa Mre11 se degrada el DNA en una dirección de 3' a 5' hacia el extremo DSB. La cadena de DNA sencilla resultante (ssDNA) es recubierta inmediatamente por RPA para proteger ssDNA de la degradación. El extremo rebajado 5' representa ahora el sustrato preferido para la exonucleasa Exo1 de 5' a 3' para llevar a cabo una resección más procesada. Alternativamente, la resección extendida es catalizada por las actividades combinadas de la endonucleasa y helicasa DNA2-BLM (o WRN) en células humanas. Es importante destacar que los extremos de DSB procesados no son sustratos para la unión a Ku, un requisito previo para la reparación de DSB mediante unión clásica no homóloga (C-NHEJ). En última instancia, el RPA se elimina del ssDNA y se sustituye por la recombinasa Rad51 para iniciar la copia de la cadena de la cromátida hermana hacia abajo en la HR. (33) (Himmels et al., 2016).





**Figura 2.** Esquema simplificado del modelo bidireccional de resección del extremo del DNA. (33) (Himmels et al., 2016).

En la figura 3 se representa un esquema de los factores de resección sometidos a ubiquitilación y/o sumoilación. Los puntos negros representan modificaciones de la ubiquitina implicadas en la modulación de la función proteica; Los puntos rojos serían modificaciones de ubiquitina implicadas en la degradación de proteínas; Los cuadrados negros representan modificaciones SUMO; K – ubitiquina o SUMO residuos de lisina modificados en sustratos de proteína (33) (Himmels et al., 2016).



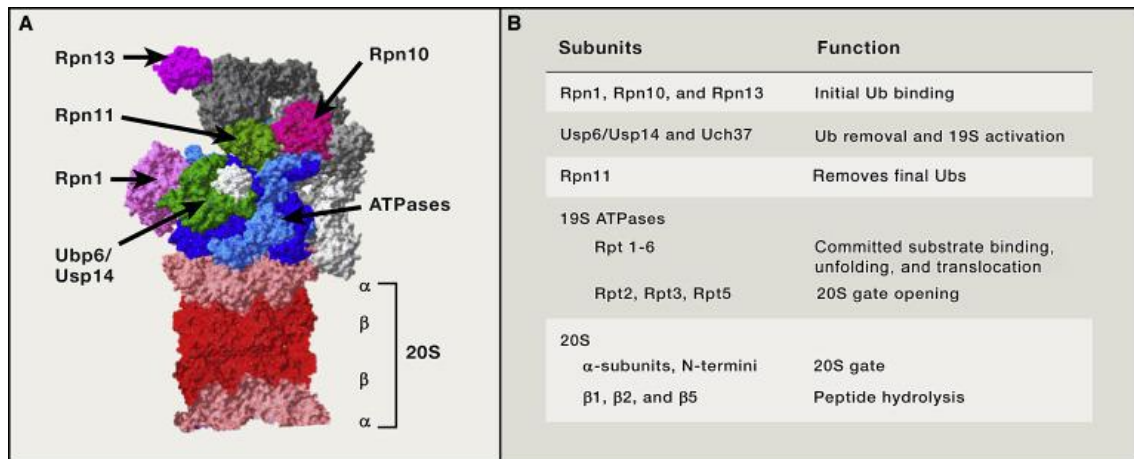
**Figura 3.** Esquema de los factores de resección sometidos a ubiquitilación y/o sumoilación (33) (Himmels et al., 2016).

#### 1.4. Sistemas de degradación de proteínas: Ubiquitina y SUMO

El proteasoma 26S cataliza alrededor del 80% de la degradación de proteínas en células eucariotas, incluyendo tanto la rápida degradación de proteínas que se han sintetizado erróneamente como la lenta degradación del resto de las

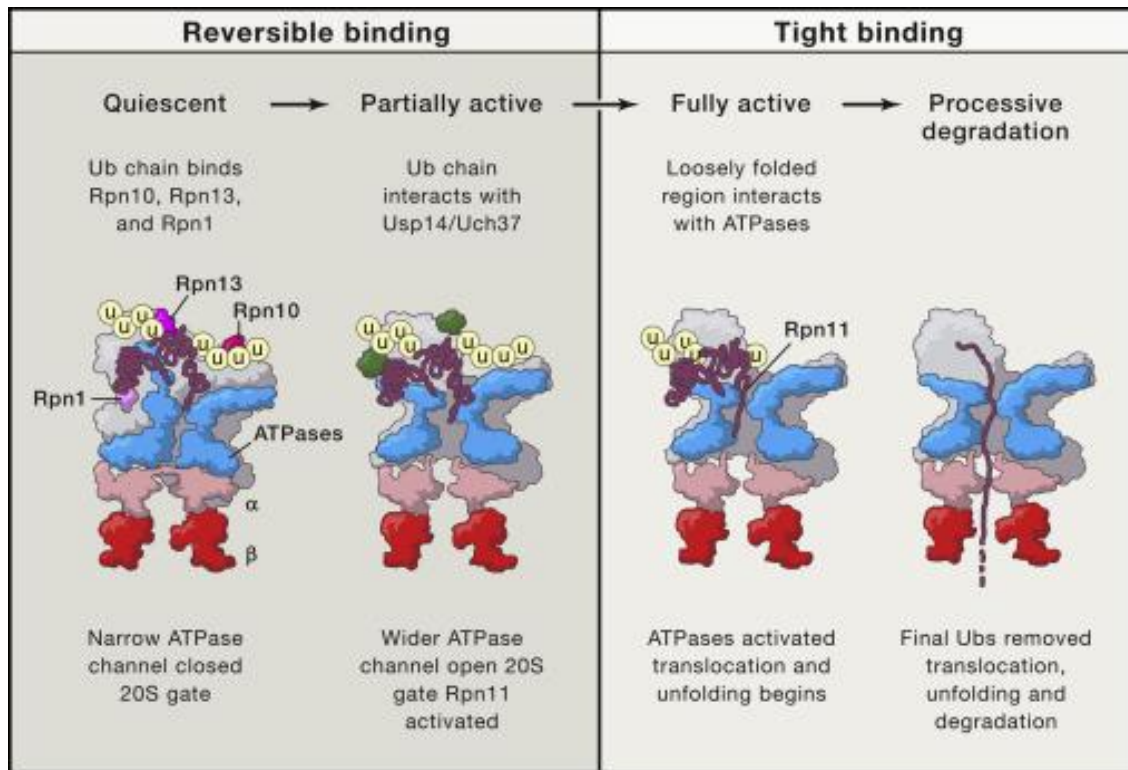
proteínas celulares (34) (Zhao et al., 2015). En consecuencia, la función del proteasoma es esencial para la homeostasis de las proteínas e influye en la regulación de la mayoría de los procesos celulares. Desde los descubrimientos del papel crítico que desempeña la ubiquitina (Ub) en el recambio de las proteínas (35) (Hershko et al., 1980) y del complejo 26S en la digestión de conjugados de ubiquitina (36,37) (Hough et al., 1987, Waxman et al., 1987) se supone por regla general que las tasas de proteólisis por esta vía se regulan únicamente a través de la ubiquitilación de proteínas. Sin embargo, ahora está claro que ubiquitilación e incluso la asociación de una proteína ubiquitilada con el proteasoma no conduce necesariamente a su degradación (38,39) (Finley, 2009; Inobe y Matouschek, 2014). Por lo tanto, el proteasoma no es simplemente una máquina para la destrucción eficiente y automática de los conjugados de ubiquitina y el reciclaje de la ubiquitina, sino que sus propiedades también determinan si una proteína ubiquitilada sufre degradación o permanece intacta. Además, la capacidad degradativa y la selectividad del proteasoma no son algo fijo, sino que se regulan con precisión mediante distintos mecanismos.

Como puede verse en la figura 4 (40) (Collins y Goldberg, 2017) en el proteasoma, los polipéptidos se digieren a péptidos cortos en segundos, el 90% de los cuales varían entre dos y diez residuos de longitud (41) (Kisselev et al., 1999) mediante peptidasas citosólicas. Debido a que la proteólisis es irreversible, las consecuencias para las células pueden ser graves si los proteasomas destruyen las proteínas de forma no selectiva o no funcionan de forma procesada y liberan polipéptidos parcialmente degradados. Por lo tanto, los proteasomas han desarrollado mecanismos complejos para evitar tales fallos y asegurar una degradación eficiente y selectiva.



**Figura 4.** Esquema de la estructura y función del Proteasoma 26S. (40) (Collins y Goldberg, 2017)

Los estudios genéticos y bioquímicos han avanzado mucho de cara a la comprensión de los múltiples pasos que tienen lugar en la degradación vía proteasoma: la unión de proteínas ubiquitiladas, su des-ubiquitilación, y su despliegue y translocación al complejo 20S para su proteólisis dependiente de ATP (Figura 5).



**Figura 5.** Esquema del mecanismo de activación del proteasoma y de la destrucción del conjugado de la ubiquitina(40) (Collins y Goldberg, 2017)

De manera que la degradación proteasomal en células eucariotas esta controlado por la ubiquitina. La ubiquitina marca la proteína diana en un proceso de unión covalente llamado conjugación y como consecuencia, la proteína marcada se envía al proteasoma para su digestión (8) (Deger et al., 2015). Los aminoácidos componentes de proteínas degradadas son a menudo reutilizados por la célula. El sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) tiene mucha importancia en la correcta función celular. El mejor entendimiento del sistema UPS ayudará al entender qué está ocurriendo en los pacientes que sufren cáncer, enfermedades inflamatorias, autoinmunes y enfermedades neurodegenerativas (42,43) (Delobel et al., 2005; Wang et al., 2006). La ubiquitilación no es la única modificación covalente implicada en la proteólisis y la neurodegeneración. Existe una familia de proteínas similares a la ubiquitina, que se denominan pequeños modificadores similares a la ubiquitina (SUMO). La sumoilación, que es la unión covalente de SUMO a una proteína diana, proporciona una manera reversible, rápida, y eficiente de regular los procesos biológicos (44) (Gill, 2004). Muchas proteínas implicadas en las enfermedades neurodegenerativas pueden sufrir sumoilación, incluyendo la proteína Tau (45) (Dorval et al. 2006).

En la enfermedad de Alzheimer, las proteínas Tau defectuosas forman ovillos neurofibrilares intracelulares (NFTs), y con las proteínas mal plegada amiloide-

beta (Amiloide-beta) forman las placas seniles extracelulares. Estas inclusiones insolubles y tóxicas se consideran las formas finales de las proteínas defectuosas en las enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, la evidencia actual sugiere que estas proteínas no tienen que haber progresado hasta la aparición de inclusiones o agregados para causar neurotoxicidad. Las formas intermedias y solubles llamadas oligómeros, puede ser neurotóxicos antes de la aparición de las inclusiones. Los oligómeros Tau, son una nueva diana para la intervención en estas enfermedades (46) (Gerson et al., 2014). Las modificaciones post-traduccionales de oligómeros Tau, tales como poli-ubiquitilación, fosforilación y truncamiento pueden alterar la función biológica de Tau y su auto ensamblaje (47) (Morishima-Kawashima et al., 1995). La unión covalente de ubiquitina o SUMO a oligómeros Tau puede tener implicaciones en el funcionamiento adecuado de las células y la investigación de tales fenómenos es el tema actual de investigación. En la vía proteolítica los oligómeros potencialmente dañinos Tau, pueden ser marcados y destruidos antes de inducir los efectos tóxicos. Es más, numerosos estudios han encontrado niveles elevados de proteínas ubiquitiladas y conjugadas con SUMO en cerebros de pacientes afectados por enfermedades neurodegenerativas (48,49) (Lasagna-Reeves et al. 2012; Tai et al. 2012). Por lo tanto, es lógico concluir que las células enfermas no tienen dificultad para reconocer y marcar las proteínas defectuosas. Los problemas pueden surgir a nivel del proteasoma donde las proteínas defectuosas deben degradarse (8) (Deger et al., 2015).

Los procesos de ubiquitilación y sumoilación se relacionan y afectan conjuntamente a las propiedades de las proteínas sustrato comunes, en algunos casos por actuar en las mismas dianas y en otros, actuando antagónica o incluso secuencialmente (50) (Desterro et al., 2005). La relación entre estos dos sistemas es desconocida. Sus efectos en los oligómeros Tau, pueden jugar un papel crucial en la neurodegeneración y es actualmente un tema de gran interés para la investigación. La modificación post-traduccionales de oligómeros Tau, ya sea por ubiquitilación o por sumoilación, tiene implicaciones importantes en el desarrollo y progresión de enfermedades neurodegenerativas (Figura 4) (8) (Deger et al., 2015).

### **1.5. El sistema Ubiquitina-proteasoma en las enfermedades neurodegenerativas**

El sistema UPS parece estar alterado en las enfermedades neurodegenerativas. Este mal funcionamiento puede producirse de dos maneras: 1) por una excesiva actividad que conduzca a una innecesaria destrucción de proteínas útiles; y 2) por restricción del sistema UPS que lleva a que las proteínas nocivas alcancen niveles tóxicos, como parece ser el caso de los oligómeros Tau en la EA (51) (Oddo, 2008). La ubiquitina y el pequeño modificador relacionado con la ubiquitina (SUMO), son los miembros más importantes de proteínas de tipo ubiquitina, que pueden unirse a residuos de lisina de proteínas diana a través de un enlace isopeptídico (8) (Deger et al., 2015). En los vertebrados existen tres isoformas SUMO independientes (SUMO-1, SUMO-2, y SUMO-3), de las cuales SUMO-2 y SUMO-3 comparten

97% de identidad en su secuencia (52) (Hay, 2013). La acción de la ubiquitina se lleva a cabo en un mecanismo en cascada de tres pasos que requiere la acción consecutiva de enzimas activadoras (E1), enzimas de conjugación (E2) y ligasas (E3), que confieren especificidad de sustrato. En los seres humanos, la ubiquitilación es mediada por dos E1, aproximadamente treinta y cinco E2 activos, y más de seiscientos E3, mientras que la sumoilación es conducida por un solo E1 heterodimérico, un E2 (UBC9), y aproximadamente 10 E3. (53,54) (Brown et al., 2015; Stewart et al., 2016). Ambos procesos son reversibles con la eliminación de ubiquitina y SUMO de las proteínas sustrato por medio de la deubiquitinasa (DUBs) y de la proteasa específica SUMO/sentrin (SENPs), respectivamente (55) (Ronau et al., 2016). La ubiquitina es una pequeña proteína de 76 aminoácidos crucial para la degradación selectiva de proteínas del citosol, del retículo endoplásmico y del núcleo. La degradación se ve incrementada cuando más de una ubiquitina se une a la proteína para formar una cadena de poliubiquitina (8) (Deger et al., 2015). Varios tipos de enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por presentar inclusiones intraneuronales compuestas de proteínas ubiquitiladas. Aunque los métodos precisos que contribuyen a la formación de estos depósitos de proteínas anormales son desconocidos, la participación de la ubiquitina en la neurodegeneración está tan ampliamente aceptado que la inmunorreactividad de la ubiquitina se utiliza para identificar los cuerpos de Lewy y los NFTs asociados con trastornos neurológicos (48,49) (Lasagna-Reeves et al., 2012; Tai et al., 2012). Por otra parte, el aumento de los niveles de ubiquitina libre ha sido observado en la EA, en la EPy en la ALS (8) (Deger et al., 2015), en comparación con los grupos control. La ubiquitina se puede unir a proteínas diana ya sea como monoubiquitina o como diferentes tipos de cadenas de poliubiquitina, dependiendo de cuál de los siete residuos de lisina (K) de ubiquitina se utiliza para el ensamblaje de la cadena (56) (Swatek et al. 2016). Los diversos tipos de cadena de ubiquitina tienen diferentes propiedades estructurales y pueden cambiar en las proteínas diana una variedad de atributos. Por ejemplo, mientras que las cadenas de ubiquitina unidas a K48 promueven la degradación proteasomal, las cadenas unidas a K63 se consideran que regulan las interacciones proteína-proteína. Por el contrario, en los mamíferos las cadenas de poli-SUMO tienen una única forma de sumoilación en SUMO-2 y en SUMO-3 que se ha perdido en SUMO-1 (52) (Hay, 2013). Más aun en apoyo de la importancia de la ubiquitilación es un estudio sobre cerebros de ratones infectados con *scrapie*, las proteínas ubiquitiladas, fueron identificadas mucho antes de que los signos clínicos de la enfermedad aparecieran. Esto demuestra que la ubiquitina reconoce a las proteínas priónicas patológicas (PrP (Sc)) en las primeras fases del *scrapie* y sugiere que lo mismo puede ocurrir en otras enfermedades neurodegenerativas afectadas por proteínas amiloides similares a las de los priones (8) (Deger et al., 2015). Como se puede apreciar en la figura 4 es probable que el proteasoma no pueda actuar contra las proteínas defectuosas, a pesar de que la célula pueda reconocer las proteínas defectuosas y marcarlas para su destrucción a través de la ubiquitilación. El fracaso para eliminar las proteínas ubiquitiladas puede llevar a acúmulos e inclusiones intracelulares y extracelulares que son neurotóxicas en las enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, el mecanismo de este mal funcionamiento se desconoce. En

teoría, si el UPS es completamente funcional, la neurotoxicidad podría evitarse por completo (8) (Deger et al., 2015). La SUMO tiene una estructura similar a la ubiquitina. Además, tiene una multitud de funciones importantes para la mayoría de las vías celulares, incluidas: 1) la regulación de las señales de las vías de transducción; 2) la transcripción; 3) el transporte núcleo-citoplasma; 4) el ciclo celular; 5) la integridad cromosómica; y 6) la estabilidad genómica (44,57) (Gill, 2004; Hay, 2005). Los tres tipos de proteínas homólogas de SUMO de los mamíferos se expresan en los seres humanos: SUMO-1, SUMO-2 y SUMO-3. Un gen que codifica SUMO-4 ha sido identificado, pero se cree que es un artefacto evolutivo ya que no se ha encontrado todavía ninguna expresión de este gen (58) (Anckar et al., 2007). De los tres tipos de SUMO expresado, SUMO-2 y SUMO-3 son similares una a otra (59) (Sarge et al., 2009). Las tres proteínas presentan un único patrón de localización subcelular y la SUMO-1 responde de forma diferente al calor y al estrés debido a su naturaleza menos dinámica (60,61) (Ayaydin et al., 2004; Wang et al., 2009). Mientras que muchas dianas de SUMO se conjugan a todas las formas de SUMO, algunos son específicamente conjugadas a una de las SUMO (62) (Vertegaal et al., 2006). Esto ocurre en algunas de las proteínas que están implicadas en la neurodegeneración (8) (Deger et al., 2015). La mezcla de SUMO-2 y SUMO-3 libres disponibles para la conjugación es notablemente superior a la de SUMO-1 debido a que su concentración celular total es más alta, lo que sugiere que SUMO-2 y SUMO-3 realizan mayoritariamente tareas de sumoilación (63) (Saitoh et al., 2000).

Sin embargo, en el caso de Tau y alfa-sinucleína son preferentemente modificadas por SUMO-1, en comparación con SUMO-2 o SUMO-3 (8) (Deger et al., 2015). Es posible que estas diferencias puedan ser la base de un mecanismo de alteración en la degradación de estas proteínas que pueda ser más o menos eficiente que las vías de sumoilación más comunes (8) (Deger et al., 2015).

En cuanto a la adición de SUMO a componentes del aparato transcripcional no tiene una consecuencia única, ya que puede activar o reprimir la transcripción (64) (Valin et al., 2007). Un hecho único de SUMO es que sólo una pequeña fracción de sustrato es sumoilado en un momento dado (44) (Gill, 2004). Aunque el propósito exacto de la sumoilación y sus objetivos específicos aún no están claros, los datos disponibles proporcionan pruebas concluyentes de un papel importante de la SUMO en la regulación de las interacciones proteína-proteína y en la localización subcelular (65) (Drag et al., 2008). SUMO tiene implicaciones en las vías proteolíticas de la célula y, por tanto, es un área de gran interés para la investigación de muchas enfermedades, incluyendo trastornos neurodegenerativos (8) (Deger et al., 2015).

Tanto la sumoilación como la ubiquitilación son componentes críticos del metabolismo celular y sorprendentemente los dos sistemas afectan uno al otro. Ambos sistemas son reversibles y en algunos casos, pueden requerir ciclos dinámicos de modificaciones para su actividad (44) (Gill, 2004). Muchas proteínas son sustratos tanto para la ubiquitina como SUMO; Sin embargo, los dos marcajes pueden a veces tener una relación antagónica, las mismas dianas proteicas tienen diferentes destinos: SUMO frecuentemente actúa para

reprimir la transcripción, mientras que la ubiquitina a menudo aumenta la expresión de los genes (44,50) (Gill, 2004; Desterro et al., 2005). Algunos estudios han demostrado que SUMO actúa bloqueando los sitios de unión de ubiquitina (8,44,57) (Deger et al., 2015; Gill, 2004; Hay, 2005). Por otro lado, la Tau fosforilada en la EA es ubiquitilada en regiones que contienen sitios de sumoilación (47) (Morishima-Kawashima et al., 1995).

A pesar de la información proporcionada por los estudios recientes sobre este tema, las interacciones entre ubiquitilación y sumoilación son muy complejas y requieren futuras investigaciones para comprenderlas mejor. Algunas investigaciones sugieren que la sumoilación y la ubiquitilación actúan de forma sucesiva, mientras que otros sugieren que actúan de forma independiente. Lo que parece claro es que trabajando juntas pueden ejercer un control regulador sobre los procesos biológicos en donde la identidad de las dianas a primera vista pueda simular que tengan una relación antagónica (8) (Deger et al., 2015). En esta revisión queremos conocer el papel de las modificaciones covalentes de Tau y otras proteínas amiloidogénicas que llevan a la proteólisis, así como de los defectos genéticos no reparados en las enfermedades neurodegenerativas.

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica de las enfermedades neurodegenerativas más prevalentes: la EA y EP y su relación con el deterioro del proteasoma, ubiquitina, sumoilación, intermediarios oligoméricos Tau y daños genéticos.

## **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

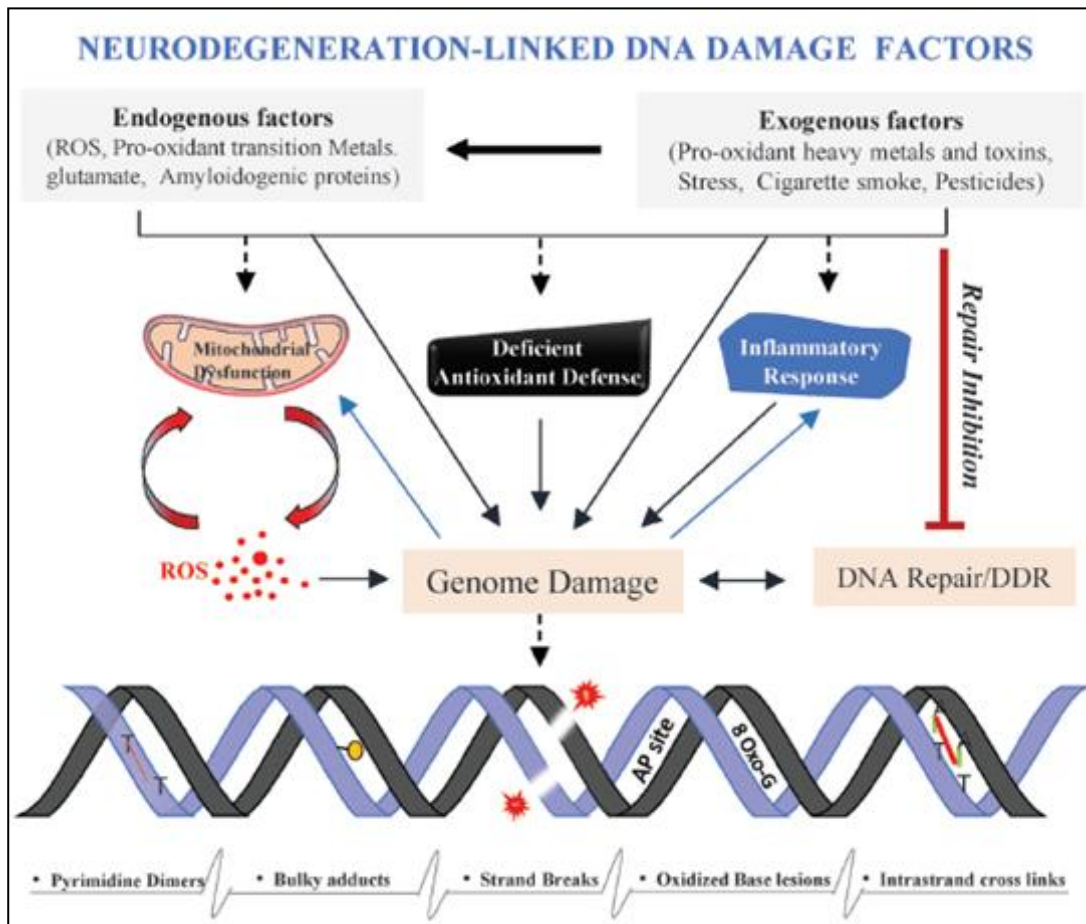
Se realizó una búsqueda mediante el buscador “pubmed” de citas biomédicas que dispone de una base de datos de más de 27.000.000 de referencias bibliográficas. Como palabras clave hemos utilizado las siguientes: 1) Alzheimer; 2) Parkinson; 3) Neurodegenerative diseases; 4) SUMO; 5) Proteasome; 6) Ubiquitin; 7) Tau; 8) HRR (Homologous Recombination Repair); 9) NHEJ (Non Homologous End Joining); y 10) DSBs (Double-Strand DNA Breaks).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Relación entre los daños y defectos de la reparación del DNA en las enfermedades neurodegenerativas**

La mayoría de las enfermedades neurodegenerativas tienen etiologías complejas que incluyen el estrés oxidativo, iones metálicos pro-oxidantes, otros radicales libres tóxicos y la respuesta a acúmulos de proteínas mal plegadas que forman agregados, conjuntamente con la acumulación de distintos tipos de daños del DNA (66) (Hegde et al, 2011). Sin embargo, la contribución de estos factores hacia una neurodegeneración progresiva y su papel concreto en causar daños persistentes en el genoma de regiones específicas del SNC está poco claro. En

este trabajo presentamos la evidencia acumulada sobre la interacción entre estas etiologías en la inducción del daño del genoma y la inhibición de la reparación del daño, que afecta a la dinámica de la señalización y respuesta al daño del DNA y por tanto causante de un desequilibrio entre el daño y la reparación en el genoma de las neuronas (67) (Wang et al., 2017). Los daños del genoma junto a los defectos en la reparación del genoma son los causantes del proceso de la neurodegeneración (Figura 6).

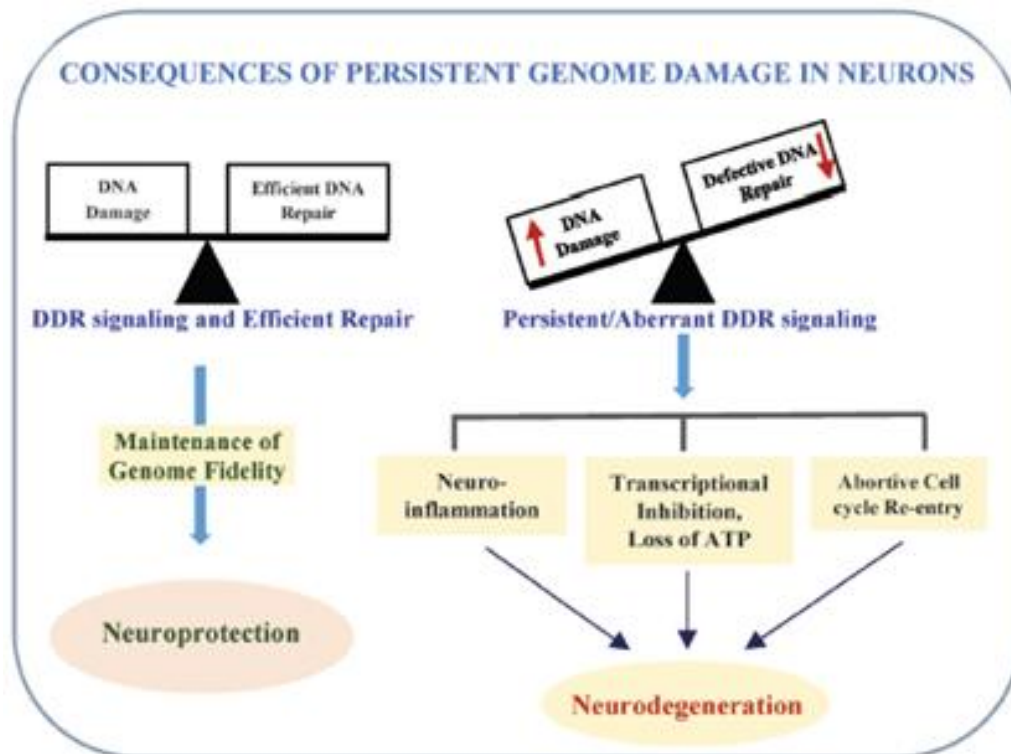


**Figura 6.** Los factores etiológicos comunes relacionados con la neurodegeneración no sólo inducen daño genético, sino que también inhiben la reparación del DNA o causan una reparación defectuosa del DNA. Tanto los factores endógenos y exógenos causan daño del DNA directamente o por disfunción via mitocondrial, deficiente defensa antioxidante y/ o por respuesta inflamatoria. La reparación defectuosa debida a las etiologías neurodegenerativas conduce a un desequilibrio en el daño frente a la reparación y la acumulación persistente de daño no reparado del genoma. (67) (Wang et al., 2017)

Los factores etiológicos comunes relacionados no sólo inducen un daño genético, sino que también inhiben la reparación del DNA o causan una reparación defectuosa del mismo. Factores endógenos y exógenos causan varios tipos de daño del DNA, bien directamente o bien por disfunción de las mitocondrias debido a una deficiente defensa antioxidante y/o respuesta inflamatoria. Mientras las células mantengan su maquinaria de reparación del DNA de una manera competente para hacer frente a estos daños, sólo la reparación defectuosa influenciada por las etiologías neurodegenerativas



puede conducir a un desequilibrio en el daño frente a la reparación y una acumulación persistente de daño no reparado del genoma (67) (Wang et al., 2017). Este daño persistente acumulado, junto a deficiencias en la reparación del DNA tiene sus implicaciones sobre el genoma de las neuronas, ya que conduce a una señal de respuesta al daño del DNA aberrante que desencadena neuroinflamación, inhibición transcripcional y/o regulación anormal del ciclo celular, que conlleva finalmente a la muerte celular neuronal (Figura 7) (67) (Wang et al., 2017).



**Figura 7.** Esquema de las implicaciones de daño persistente del genoma y/o reparación deficiente del DNA en la neurodegeneración. La presencia persistente de daño del genoma, junto con la reparación del DNA defectuosa en las neuronas conduce a una señal aberrante de DDR que desencadena neuroinflamación, inhibición transcripcional y/o una regulación anormal del ciclo celular, resultando en la muerte celular neuronal. (67) (Wang et al., 2017)

#### 4.2. Reparación de los daños del genoma en el sistema nervioso central

En células aeróbicas, la fidelidad de la secuencia del genoma se encuentra continuamente comprometida debido a la inestabilidad del DNA causada por reacciones químicas espontáneas, a la exposición a especies reactivas de oxígeno endógenas y a otras moléculas reactivas pro-oxidantes (68) (Hegde et al., 2012). Diversos estudios en pacientes y modelos de roedores con EA, EP, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Huntington, ataxia y accidente cerebrovascular muestran un daño en el DNA significativamente elevado acompañado con defectos en la reparación del DNA nuclear (DNA<sub>n</sub>) y DNA mitocondrial (DNA<sub>mt</sub>) en regiones del SNC (69, 70, 71) (Wang et al., 2005; Moore et al., 2002; Pickrell et al., 2011).

La barrera hematoencefálica confiere al SNC de una protección frente a las genotoxinas externas por lo que es el daño inducido por ROS endógeno el más

crítico para el genoma del SNC. En el cerebro, las enzimas expresadas, como la isoforma neuronal de óxido nítrico sintasa (nNOS), contribuyen a la producción de radicales de óxido nítrico ( $\text{NO}^2$ ), que reaccionan con superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) para producir peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), una especie de nitrógeno reactivo (RNS) (72) (Thanan et al., 2015). Además, los subproductos metabólicos endógenos como la homocisteína (Hc), un aminoácido no esencial que contiene azufre derivado del metabolismo de la metionina, ha sido relacionado con trastornos del SNC con deficiencia de cistationina beta sintasa en la EA. Se ha visto que niveles elevados de Hc perturba el ciclo de metilación/desmetilación del DNA (73) (Kruman et al., 2000) y contribuye al daño del DNA induciendo el agotamiento de la timidina y promoviendo la mala incorporación del uracilo (67) (Wang et al., 2017).

### **4.3. Relación entre el daño en el genoma y la gravedad de la enfermedad neurodegenerativa**

La acumulación progresiva de daño no reparado en el genoma parece ser una característica común de muchas enfermedades neurodegenerativas, y se correlaciona con la gravedad sintomática en la mayoría de los casos, incluyendo EA, EP y ALS (74) (Deng et al., 2014). La EA, la enfermedad neurodegenerativa progresiva más común y la principal causa de demencia en adultos, está fuertemente asociada a la edad y se caracteriza por la pérdida progresiva de memoria y capacidad cognitiva. EA está histopatológicamente asociada con la acumulación extracelular del péptido amiloide Beta (Amiloide-beta), agregados intracelulares de Tau hiperfosforilado y acúmulos neurofibrilares (75) (Mao y Reddy, 2011). Se planteó la hipótesis de que el aumento del daño en el DNA pudiera estar asociado con la EA debido a la observación de una alteración específica de la estructura de la cromatina en pacientes con EA. Investigadores como Mullaart en el año 1999 ya cuantificaron 2 veces más un incremento de las roturas de las cadenas de DNA en el córtex de pacientes con EA (67) (Wang et al., 2017), lo que evidencia la importancia del daño acumulado en el genoma en enfermedades como la EA. Otros estudios sugirieron una fuerte asociación entre el grado de daño oxidativo en los genomas neuronales de regiones cerebrales afectadas con gravedad y la progresión de demencia en pacientes con EA (67,76,77,78) (Wang et al., 2017; Lovell et al., 1999; Lovell et al., 2011; Shao et al., 2008).

Entre las bases oxidadas, se observaron niveles elevados de 7,8-dihidro-8-oxoadenina y Hc en el DNA del lóbulo parietal de EA, mientras que en otras regiones cerebrales afectadas se observaron incrementos de timina glicol, formoamidopirimidinas (FapyA y FapyG) y 5-Hidroxiuridina (79) (Lyras et al., 1997). También se demostró que el DNA del hipocampo en las etapas tardías de la EA tenía dos veces más uniones en el DNA de acroleína/guanosina comparado con cerebros no afectados. Las implicaciones de este hecho en la reparación de los daños aún se desconocen (80) (Tang et al., 2011).

La proteína Amiloide-beta parece provocar daño del DNA directamente, además de estimular la producción de ROS (81,82) (Hensley et al., 1994; Butterfield, 2013). Por otro lado, la Amiloide-beta42 actúa como una nucleasa rompiendo las cadenas de DNA (67) (Wang et al., 2017). En un

estudio se encontró que un nivel patológicamente elevado de Amiloide-beta aumenta las DSB en el DNA neuronal con respecto al inicio del estudio en la anatomía patológica cerebral de los ratones y en las neuronas primarias cultivadas (83) (Suberbielle et al., 2013).

El trastorno neurodegenerativo más frecuente que afecta al movimiento es la EP. Esta se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra *pars compacta* (84,85) (Hegde et al. 2006; Hegde y Rao, 2007) y por la presencia de inclusiones citoplasmáticas proteínicas conocidas como cuerpos de Lewy en el cerebro del paciente con EP esporádica o familiar (86) (Luk y Lee, 2014). Aunque los mecanismos patológicos de la EP son complejos y siguen siendo en gran parte desconocidos, se ha demostrado que el daño oxidativo del DNA (específicamente: la producción de 8-oxodiguanina 8-oxo-dG) está más elevada en pacientes con EP comparado con los controles agrupados por edad (87) (Zhang et al., 1999). Los ratones transgénicos que expresan EP, relacionada con alfa-sinucleína (alfa-Syn), muestran una acumulación de daño en el DNA dentro de las neuronas (88) (Martin et al., 2006). Estudios posteriores también mostraron que tanto las roturas de cadena simple de DNA como doble se acumulan en la región del mesencéfalo *postmortem* de los pacientes con EP y el DNA aislado presenta una mayor susceptibilidad al tratamiento con DNAasa I en comparación con el DNA control (84) (Hegde et al. 2006). También se demostró que la activación del daño del DNA dependiente de p53 y PARP-1 desempeñaba un papel en la muerte de neuronas dopaminérgicas (89) (Hoang et al., 2009). El modelo de ratón con EP inducido por MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) muestra que el daño del DNA junto con la activación de PARP1, se correlaciona con la degeneración neuronal de la sustancia negra (90) (Iwashita et al., 2004).

#### **4.4. Defectos en la reparación del DNA y sus efectos en enfermedades neurodegenerativas**

Estudios en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como EA han observado tanto deficiencias en la reparación del DNA en la escisión de bases de cerebros de pacientes (91) (Weissman et al., 2007) como deficiencias en la reparación de roturas de la doble cadena de DNA (67) (Wang et al., 2017). Otros estudios encontraron que la reducción de DNA polimerasa  $\beta$  (PoliBeta) era suficiente para mejorar las características de EA en el modelo de ratón con EA al que se había inducido disfunción neuronal, muerte celular, deterioro de la memoria y de la plasticidad sináptica (92) (Sykora et al., 2015). En conjunto, las enfermedades neurodegenerativas familiares se asocian predominantemente con defectos de reparación del DNA, o con la señalización comprometida de la respuesta a los daños el DNA. En la Tabla 1 se enumeran varias enfermedades del SNC asociadas con defectos de respuesta al daño del DNA heredado y de las proteínas de reparación de DNA asociadas (67) (Wang et al., 2017).

La reducción de la reparación del DNA está cada vez más vinculada a las enfermedades neurodegenerativas esporádicas. La reducción general de la capacidad de reparación del DNA durante el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas esporádicas podrían implicar múltiples mecanismos, incluyendo:

1) La regulación transcripcional alterada que causa de la reducción en la expresión de una proteína de reparación. Por ejemplo: a) la reducción de OGG1 en mitocondrias (93) (Leon et al., 2016) y de PoliBeta en EA (94) (Copani et al., 2006); y b) la reducción del gen asociado al cáncer de mama (BRCA1) en los cerebros con EA (95) (Suberbielle et al., 2015).

2) La inhibición de la actividad catalítica de las proteínas de reparación, cuyos niveles son comparables a neuronas sanas en el SNC, principalmente producido por factores etiológicos ligados a las enfermedades neurodegenerativas como: exposición a metales pro-oxidantes excesivos y a ROS, por ejemplo: a) inhibición mediada por metal y ROS de NEIL1, NEIL2, LigIII, APE1, etc. en EA y EP (96,97) (Hegde et al., 2010; Grin et al., 2009), b) la actividad catalítica reducida de OGG1 en EA (91,98) (Weissman et al., 2007; Jacob et al., 2013); y c) la reducción de la actividad de PoliBeta en EA (91,94) (Weissman et al., 2007; Copani et al., 2006).

Una conexión clave entre la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas es el deterioro de la homeostasis redox en el cerebro que implica principalmente un exceso en ROS e iones metálicos pro-oxidantes, muchos de los cuales se encuentran generalmente en forma de trazas (67,99) (Wang et al., 2017; Hegde et al., 2009). El Fe, Zn y Mn así como la acumulación excesiva de Al, Cr, Pb y Ni en el SNC han sido relacionados con el inicio/progresión de EA, EP, ALS, enfermedad de Wilson y en los accidentes cerebrovasculares (67) (Wang et al., 2017).

El signo principal del 95% de las enfermedades neurodegenerativas es el plegamiento aberrante y la agregación de proteínas amiloidogénicas que se manifiestan típicamente como cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos o extracelulares (100) (Winklhofer et al., 2008). La presencia de fragmentos Amiloide-beta peptídicos positivos en placas extracelulares y Tau proteína positiva en NFTs intracelulares en el cerebro EA, cuerpos de Lewy ricos en alfa-Syn en EP o proteínas de priones en enfermedades de priones, proteínas mal dobladas como TDP-43, FUS/ TLS o SOD1 en diferentes subconjuntos del grupo de enfermedades de la ALS, las proteínas poliglutamínicas expandidas que contienen inclusiones en ataxia o HD, etc., se consideran como la característica patológica de estas enfermedades, aunque la cantidad de agregados/placas no siempre se correlaciona con la gravedad de la enfermedad (101) (Brettschneider et al., 2015). Las células neuronales tratadas con Amiloide-beta o alfa-Syn desarrollan características de apoptosis, incluyendo burbujas de membrana, compactación de la cromatina nuclear y fragmentación del DNA. Se demostró además que la producción de Amiloide-beta está aumentada aproximadamente de dos a cuatro veces en las células neuronales primarias humanas inducidas a sufrir apoptosis por privación (102) (LeBlanc, 1995). El tratamiento con péptidos Amiloide-beta ha demostrado desencadenar la degeneración de las neuronas cultivadas a través de la activación de la vía apoptótica anterior a la acumulación de rupturas de la cadena de DNA no reparadas. Además, Amiloide-Beta también induce la expresión del gen inducible por daño al DNA (Gadd45) implicado en el proceso de escisión y reparación del DNA (67) (Wang et al., 2017). Se ha demostrado también que el ácido aurintricarboxílico, un inhibidor de nucleasas, previene de la fragmentación del DNA apoptótico y retrasa la muerte celular

causada por Amiloide-beta (103) (Loo et al., 1993). Las dosis subletales de Amiloide-beta contribuyen a la pérdida de actividad de DNA proteínas quinasa, lo que conduce a una reparación tardía del DNA (104) (Cardinale et al., 2012). Además, los ratones J20 que expresan un alto nivel de hAPP mostraron la presencia de un marcador de las roturas de doble cadena del DNA gamma-H2AX en el cerebro, lo que sugiere una posible relación entre la acumulación de Amiloide-Beta y el aumento de la formación de rotura de doble cadena del DNA (82) (Suberbielle et al., 2013). De forma similar, la presencia de agregados Alfa-Syn tóxicos inhibe la ruta de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), altera el tráfico axonal e induce el estrés oxidativo, conduciendo a la acumulación de 8-oxoguanina en el DNA mitocondrial y nuclear de neuronas dopaminérgicas de la EP (105) (Majd et al., 2015). Mientras que la toxicidad por Amiloide-Beta y alfa-Syn podría causar el daño del genoma a través de múltiples mecanismos, algunos estudios han indicado que el mal plegamiento de las proteínas amiloides podría interferir con el proceso de reparación debido a su actividad vinculada al DNA. Además, los péptidos Amiloide-Beta tienen una actividad de corte del DNA, particularmente en presencia de iones metálicos pro-oxidantes *in vitro* (106) (Gupta et al., 2013). Los fragmentos Amiloide-beta (1-42) y Amiloide-beta (1-16), Alfa-Syn maldooblada y Tau unida a DNA rico en Guaninas y Citosinas así como alteraciones en la conformación del DNA, podrían afectar a los patrones de expresión génica neuronal (67) (Wang et al., 2017).

Parece que la mayoría de las proteínas amiloides (alfa-Syn y priones) poseen la propiedad intrínseca de unión al DNA. En SCA3, el PNKP está inactivado debido a su interacción con la mutante ATXN3 (codifica secuencias expandidas polyQ), lo que resulta en la reparación defectuosa del DNA, llevando a la acumulación persistente de daño en el DNA/DSBs y a la activación crónica de la vía de señalización DDR (107,108) (Chatterjee et al., 2015; Gao et al., 2015).

La disfunción mitocondrial, uno de los acontecimientos clave que contribuye a las enfermedades neurodegenerativas y al envejecimiento, puede ser el resultado de mutaciones o deleciones puntuales en el DNA mitocondrial (109) (Zhu et al., 2009). Algunas mutaciones del DNA mitocondrial también se han asociado con EA (110) (Coskun et al., 2004) y EP (1,67) (Cacabelos, 2017; Wang et al., 2017). Aunque no está claro que esas mutaciones del DNA mitocondrial estén relacionadas con la EA los estudios muestran una acumulación elevada de daño en el DNA mitocondrial o defectos en la reparación del DNA mitocondrial en pacientes con enfermedades neurodegenerativas. En la EA, por ejemplo, se ha observado un aumento de tres veces los niveles de 8-oxoguanina en el DNA mitocondrial de las lesiones de los lóbulos frontales, temporales y parietales, así como de los tejidos cerebelosos cerebrales en comparación con los controles pareados por edad (67) (Wang et al., 2017). El aumento de la fragmentación del DNA y la reducción del contenido/masa de DNA en las mitocondrias cerebrales ha sido relacionado con el grado de degeneración del hipocampo en la EA (67) (Wang et al., 2017). Aumentos del DNA mitocondrial en sitiosapurinicos/apirimidinicos (*ABsites*) se observaron en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra en pacientes con EP, lo que sugiere defectos persistentes en la reparación de la escisión de bases (BER) (111) (Sanders et al., 2014). La identidad molecular del DNAmt dañado es apurínico/

apirimidínico en las neuronas de la sustancia negra dopaminérgicas, pero no en las neuronas corticales *postmortem* en especímenes con EP (67) (Wang et al., 2017). En conclusión, los sitios abásicos se detectan fácilmente en neuronas dopaminérgicas nigrales, pero no corticales, en EP y en un modelo de la misma. Los sitios abásicos cabe también decir que se acumulan muy rápidamente después de incluso una modesta inhibición del complejo I y al parecer persisten hasta las etapas finales de la enfermedad. Como tal, los sitios abásicos mitocondriales pueden representar una nueva "firma molecular" de neuronas nigrales vulnerables en la EP. Aunque relativamente poco se sabe sobre la reparación del DNA en las neuronas, el trabajo futuro debe de ir encaminado a dilucidar vías de reparación implicadas en la acumulación de daño DNAm en la EP y esto puede llevar a nuevas estrategias terapéuticas. Un modelo de ratón transgénico que expresa Mito-PstI, una endonucleasa dirigida exclusivamente a mitocondrias neuronales dopaminérgicas para generar en el DNA mitocondrial DSBs, demuestra patrones de degeneración de la sustancia negra similares a los observados en pacientes con EP (112) (Nakabeppu et al., 2007). En apoyo de lo anterior, el DNA mitocondrial en las neuronas dopaminérgicas posee mayores lesiones de bases oxidadas, junto con roturas de doble cadena de DNA no reparada *APsites* y deleciones en la sustancia negra en los cerebros con EP (87) (Zhang et al., 1999). La presencia de roturas de cadenas simples de DNA (SSBs) y DSBs no reparados en el genoma mitocondrial de los ratones transgénicos familiares mutantes Alfa-Syn (A53T) se correlacionaron con la degeneración mitocondrial y la patología de la EP (113) (Martin, 2007). La reparación del DNA mitocondrial depende del DNA nuclear. Existe una interacción continua entre DNA nuclear y el DNA mitocondrial. Las proteínas codificadas nucleares se importan a las mitocondrias a través de translocaciones de la membrana de las mitocondrias: translocaciones de la membrana exterior de la mitocondria (TOM) e interior (TIM). Las regiones cerebrales como el hipocampo, la sustancia negra y la corteza que se ven afectadas significativamente en la EA y la EP muestran niveles alterados de TOM y TIM (114) (Bender et al., 2013). Estudios en tejidos cerebrales de Alfa-Syn de pacientes con EP y la Alfa-Syn mutante (A53T) de ratones transgénicos reveló que el nivel de proteína de TOM40 (un importante dominio transmembrana del complejo TOM que se relaciona con la importación de proteínas nucleares codificadas), se reduce significativamente con niveles elevados de daño oxidativo y con deleciones en el DNA mitocondrial. Esto podría ser evitado mediante la sobre-expresión de TOM40 (114) (Bender et al., 2013). Estos estudios abren nuevas vías para comprender los defectos de las importaciones de proteínas mitocondriales en las enfermedades neurodegenerativas, así como la búsqueda de nuevos biomarcadores de fragmentos de péptidos TOM/ TIM degradados.

#### **4.5. La respuesta patológica al daño persistente del genoma en las neuronas**

A diferencia con lo que se pensaba acerca de que las células maduras como las neuronas podrían ser más resistentes a la mortalidad inducida por el daño del genoma, las evidencias actuales indican que la presencia de daño persistente no reparado, particularmente rupturas de las cadenas de DNA

podrían tener un efecto muy perjudicial sobre las neuronas, Incluyendo: la parada transcripcional en los sitios dañados, la formación de híbridos ARN/DNA o la formación de lazos-R (67) (Wang et al., 2017). Consistentemente con ello, estudios recientes han encontrado acumulación de estructuras de lazo-R (presumiblemente formadas por la inhibición inducida por el daño en la transcripción) en tejidos cerebrales afectados por la EA y la ELA (115,116) (Swarup et al., 2011; Salvi y Mekhail, 2015).

Las neuronas postmitóticas permanecen en un estado G0 inactivo y normalmente son incapaces de volver a entrar en el ciclo celular. Sin embargo, se ha observado la activación del ciclo celular aberrante en varias enfermedades neurodegenerativas como en EA, EP, ALS y la enfermedad de Huntington, apoyado por: 1) la expresión de ciclinas (por ejemplo, ciclina B1 y D); 2) quinasas dependientes de ciclina (por ejemplo, CDK3 y 4); y 3) otros mediadores del ciclo celular (por ejemplo, Cdc2) (117,118,119) (Dobbin et al., 2013; Hoglinger et al., 2007; Ranganathan et al., 2001).

Crecientes evidencias indican que la reentrada en el ciclo celular conduce a la muerte celular en vez de a la proliferación neuronal. Así la proteína quinasa Cdc2, regulador del ciclo celular, en neuronas granulares postmitóticas de rata promueve la apoptosis. Esto sugiere que el reingreso en el ciclo celular pudiera funcionar como una base patológica común para la muerte celular neuronal (120) (Konishi et al., 2002).

A pesar del misterio de cómo la re-entrada en el ciclo celular pudiera inducir la apoptosis neuronal, el daño en el DNA se ha reconocido como un desencadenante de la activación no programada del ciclo celular. Consistentemente, un ciclo celular aberrante con daño acumulado en el DNA se observa con frecuencia en células cultivadas o en los modelos de ratones de enfermedades neurodegenerativas (67) (Wang et al., 2017). Sin embargo, el mecanismo del ciclo celular activado por el daño del DNA en células neuronales postmitóticas permanece incierto. Se ha propuesto por ejemplo que las neuronas pudieran volver a entrar en el ciclo celular con idea de reparar los daños de la doble cadena de DNA a través de HR (121) (Kruman et al., 2004).

#### **4.6. La inhibición de la UPS se relaciona con la agregación de proteínas y con citotoxicidad**

La disfunción en el UPS lleva a la acumulación de agregados de proteínas tóxicas en muchos trastornos neurodegenerativos. Sin embargo, se desconoce si la acumulación de proteínas puede por si mismo perjudicar la función de la UPS o si el fracaso de la UPS puede conducir a la acumulación de proteínas. Saber si es correlación o causalidad es uno de los primeros pasos para la comprensión de estos complejos sistemas celulares. Sin embargo, la mayoría de los investigadores apoyan la teoría que un UPS defectuoso permite que las proteínas se acumulen. Las mutaciones en los genes que codifican componentes del UPS están ligadas a la neurodegeneración, lo que sugiere que la agregación de proteínas es un resultado de estas anomalías y no la causa inicial. Es importante destacar que una vez que la agregación comienza, puede perjudicar el UPS actuando como un mecanismo de retroalimentación positiva (8) (Deger et al., 2015). A medida que se acumulan más proteínas, se

inhibe el UPS en mayor grado y esto aumenta el ritmo de acumulación de proteínas lo que explicaría por qué la neurodegeneración tiende a progresar de forma exponencial (8) (Deger et al., 2015).

#### 4.7. Deterioro del proteasoma y alfa-sinucleína

Las sinucleínas son una familia de proteínas, abundantes en el cerebro, cuyas funciones biológicas específicas no están del todo claras, aunque la evidencia apoya un papel potencial en la plasticidad de la membrana (8,122) (Deger et al., 2015; Jakes et al., 1994). Se cree que las sinucleínas en origen son proteínas no plegadas con poca consistencia en la formación de estructuras secundarias y sus formas filamentosos se cree que son polares (123,124,125) (Serpell et al., 2000;Goeder et al., 2001; Dunker et al., 2008). La alfa-syn es un marcador molecular distintivo de varias enfermedades neurodegenerativas. Incluso se las denomina como sinucleinopatías (8) (Deger et al., 2015). Una característica única de la alfa-syn es la capacidad para formar fácilmente agregados *in vitro* sin la necesidad de otros cofactores. La evidencia que apoya la teoría que las agregaciones alfa-syn son tóxicas incluye un modelo de un ratón transgénico en el que la sobreexpresión de alfa-syn humana se correlaciona con la neurodegeneración y el déficit locomotor (8) (Deger et al., 2015). La alfa-syn es el componente principal de los cuerpos de Lewy y las lewy-neuritas, que marcan las inclusiones de la EP (124,126) (Goedert et al.,2001; Spillantini et al., 1998) y de la demencia con cuerpos de Lewy (LBD).

La enfermedad de Parkinson se caracteriza por la acumulación de proteínas en las neuronas dopaminérgicas, lo que lleva a la muerte celular. Los oligómeros tóxicos de alfa-syn pasan a formar grandes agregados estables llamados cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy en la EP. Estos agregados son con frecuencia ubiquitilados (124,126) (Goedert et al., 2001;Spillantini et al., 1998). Es importante destacar que, alfa-syn parece interactuar con ubiquitina antes de la formación de los agregados fibrilares. En un modelo celular, los niveles de ubiquitina llevaron a correlacionarse positivamente con los niveles de oligómeros alfa-syn, un incremento que se correspondía con la disfunción del UPS (127) (Martins Branco et al., 2012). La EP afecta a una gran parte de la población y puede ser de origen esporádico o familiar. Causa un deterioro locomotor, déficit cognitivo y una esperanza de vida más corta (128) (Lang y Lozano, 1998).

La demencia de los cuerpos Lewy, aparece tardíamente y a menudo se superpone con características de la EA como depósitos Amiloide-Beta, pero sus características son los cuerpos de Lewy y las neuritas de Lewy (124) (Goedert et al., 2001). La alfa-syn ha aparecido en los cuerpos de Lewy asociada a patologías como la EA esporádica y familiar, síndrome de Down, atrofia de múltiples sistemas, y en una pequeña fracción de los casos de Hallervorden-Spatz (129) (Lippa et al., 1998). La alfa-syn tiene implicaciones en una variedad importante de enfermedades neurodegenerativas y, por tanto, está en el centro de una intensa investigación. Uno de los modelos experimentales más prometedores para la EP es una mosca transgénica, *Drosophila melanogaster*, cuyas células nerviosas expresan tipos de alfa-syn humana, dando lugar a la formación de inclusiones filamentosas que se



asemejan a cuerpos de Lewy (130) (Feany y Bender, 2000). Aunque los datos de este modelo no hayan probado la existencia de una alfa-syn homóloga (131) (Rubin et al., 2000), estas moscas expresan alfa-syn humanas más fácilmente que los ratones transgénicos, lo que sugiere que los vertebrados o posiblemente los mamíferos tienen mecanismos desarrollados que impiden alfa-syn ensamblajes. Tales mecanismos tienen implicaciones en la progresión de las sinucleinopatías (124) (Goedert et al., 2001). Tanto los experimentos *in vitro* como *in vivo* han proporcionado evidencias de que la inhibición del UPS puede llevar a la agregación de proteínas y la citotoxicidad en la EP (8) (Deger et al., 2015). Un UPS defectuoso podría muy bien ser la causa de la neurodegeneración, aunque indirectamente. A las proteínas no deseadas se les permite madurar y se acumulan porque no son digeridas correctamente, en última instancia esto conduciría a un proceso de neurodegeneración. Idealmente, un UPS funcional degradaría las proteínas no deseadas en los aminoácidos y sus componentes evitando así la acumulación que sucede en primer lugar (8) (Deger et al., 2015). (67) (Wang et al., 2017). La evidencia genética sugiere que la toxicidad pudiera ser resultado de un deterioro de UPS. Varias formas de EP familiar se caracterizan por mutaciones genéticas que inhiben la formación apropiada de la proteína alfa-syn y de dos enzimas del UPS, parkin y ubiquitina C-terminal hidrolasa L1 (UCH-L1). Estudios demostraron que en una familia alemana con EP, la mutación Ile93Met dificulta la actividad catalítica de UCH-L1, causando así irregularidad en el funcionamiento del UPS lo que permite la acumulación de proteínas (8) (Deger et al., 2015). Los niveles de ubiquitina son controlados por el equilibrio de los diferentes tipos de enzimas activadoras de ubiquitina, conjugación de ubiquitina, ubiquitina ligasas y enzimas de deubiquitinación. UCH-L1 es una enzima de deubiquitinación y un constituyente de los cuerpos de Lewy que juega un papel crítico en la ruta proteolítica dependiente de ubiquitina (132) (Harada et al., 2004). Una vez que las proteínas señaladas se unen al proteasoma, la cadena de ubiquitina se supone que es eliminada para que los siguientes pasos del proceso de degradación puedan ocurrir. Un defecto en la UCH-L1 hace que no se pueda escindir el enlace covalente de forma efectiva entre la ubiquitina y los sustratos y, por lo tanto, la cantidad de ubiquitina libre en el cerebro se ve disminuida. El agotamiento de la ubiquitina libre podría permitir que las proteínas mal plegadas se agreguen, pareciendo contradecir los estudios que han demostrado un aumento en los niveles de mezclas de ubiquitina libres en la EP (8) (Deger et al., 2015). Sin embargo, los estudios acerca de la homeostasis de la ubiquitina sugieren que tanto la sobreexpresión, como la pérdida de ubiquitina puede dar lugar a fenotipos neurodegenerativos similares. Esto indicaría que un aumento de la respuesta del UPS sobrecompensado por un aumento en la cantidad de agregados de proteínas en la enfermedad puede en realidad aumentar la toxicidad, en lugar del simple agotamiento de los agregados tóxicos (133,134) (Chen et al., 2009; Hallengren et al., 2013). Más aún, estos resultados indican que la correcta homeostasis de la ubiquitina es de gran importancia en la neurodegeneración; mientras que los niveles de esta no pueden verse agotados, tampoco deberían de ser demasiado altos. Estos niveles pueden ser alterados durante la enfermedad. Así, la ubiquitina libre inicialmente alcanza un pico máximo y luego más tarde se agota, cuando el UPS se vuelve cada vez más activo debido a la

afluencia de agregados de proteínas que están señalados para la degradación. Sin embargo, la mutación de UCH-L1 es controvertida ya que algunos estudios no han logrado encontrar la misma mutación genética en otras familias con enfermedad de Parkinson autosómica dominante y concluye así que la Ile93Met mutación en el gen UCH-L1 es una causa muy rara de la enfermedad de Parkinson familiar (8) (Deger et al., 2015). A pesar de estas suposiciones, no hay duda de que los pocos casos de mutaciones familiares demuestran la relación entre el UPS y la EP (8) (Deger et al., 2015). Aunque se necesitan nuevos estudios para entender completamente el papel de UCHL1 en el sistema proteolítico, la evidencia disponible sugiere fuertemente que el UPS es una de las causas de la enfermedad de Parkinson. Incluso si la mutación de UCH-L1 no estuviera en la raíz de la EP, otros componentes de la vía proteolítica celular han mostrado anomalías en las células de los cerebros afectados por esta enfermedad. El Parkin es otra enzima ubiquitinizada, específicamente por una E3 ubiquitina ligasa, cuyas mutaciones se asocian con formas hereditarias de enfermedad de Parkinson. Otras investigaciones han demostrado que la alfa-syn es un sustrato para la actividad de la Parkin-ubiquitina-ligasa en cerebros humanos normales y la pérdida de la función de parkin provoca la acumulación de la proteína patológica (8) (Deger et al., 2015). Además, niveles reducidos de los activadores del proteasoma PA700 y PA28gamma han sido observados en la sustancia nigra pars compacta de los pacientes con EP, en ambos tipos de pacientes con EP, los que fueron genéticamente predispuestos a la enfermedad y aquellos que no lo fueron (8) (Deger et al., 2015). Estos estudios proporcionan más ejemplos de cómo la disfunción en la proteólisis de las proteínas puede contribuir a la neurodegeneración. Muchas enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la EP, están relacionadas con agregados de proteínas múltiples. Los estudios han demostrado que hay interacciones significativas entre proteínas amiloidogénicas diferentes. Recientemente se demostró que Alfa-syn puede iniciar la formación de Tau y que la Alfa-syn y la Tau pueden a continuación, hacer sinergia en las polimerizaciones de uno a otro, demostrando otro ejemplo de cómo proteínas defectuosas pueden tener una relación de retroalimentación positiva. Un descubrimiento adicional reciente acerca de las relaciones de las proteínas amiloidogénicas reveló que el aumento de los niveles de péptidos Amiloide-beta puede promover la formación de Tau intracelular y de agregados de Alfa-syn (8) (Deger et al., 2015). Sin embargo, el mecanismo exacto por el que se produce este proceso aún no está claro. Las interacciones de estas proteínas, directa o indirectamente pueden explicar la superposición de características clínicas y patológicas de diversas enfermedades neurodegenerativas. Usando tres nuevos anticuerpos: T22 (que reconoce oligómeros Tau), y Syn33 y F8H7 (que reconocen oligómeros Alfa-syn) han demostrado que los oligómeros Tau y los oligómeros Alfa-syn se localizan y aparecen en los mismos agregados, formando oligómeros híbridos. El mismo estudio evidenció que las dos interacciones a través de la agregación de uno a otro es un sinergismo tóxico (8) (Deger et al., 2015).

#### 4.8. Deterioro del proteasoma y Amiloide-beta

La EA es la causa más frecuente de deterioro cognitivo en los ancianos. Es una forma progresiva de demencia sin ningún tratamiento efectivo. La acumulación de la proteína Amiloide-Beta agregada en depósitos fibrillares insolubles conocidos como placas es una de las características principales de EA y está relacionada con la disfunción del UPS (8) (Deger et al., 2015). Los estudios también han demostrado niveles elevados de ubiquitina en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con EA (8) (Deger et al., 2015).

La relación entre EA y el UPS ha sido investigada y sigue siendo hoy en día un área de gran interés en investigación. Un estudio demostró claramente la correlación entre la inhibición del proteasoma y la acumulación de proteínas ubiquitinadas solubles en detergente. Esta acumulación es un evento crítico precoz en el proceso que conduce a la muerte neuronal (135) (Metcalfe et al., 2012). Los datos recogidos sugieren que el aumento en la actividad del proteasoma es un mecanismo potencial para retrasar o prevenir la toxicidad. Además, la forma mutante de ubiquitina, denominada Ub+1, se observa selectivamente en los cerebros de pacientes con EA, incluyendo aquellos con EA no familiar (136) (Lam et al., 2000). El UPS en los cerebros envejecidos es especialmente vulnerable a esta expresión. Se ha encontrado que varias áreas corticales en pacientes con EA tenían niveles disminuidos de actividad del proteasoma (8) (Deger et al., 2015). Toda esta evidencia sugiere que el deterioro del UPS desempeña un papel en la progresión de la EA.

Las investigaciones de las placas de Amiloide-Beta son complejas porque se han relacionado con la neurotoxicidad, pero no se ha determinado definitivamente y unánimemente cual es el verdadero origen de la enfermedad. Algunos resultados sugieren que las placas son en realidad neuroprotectoras. De hecho, las placas se han observado en individuos no afectados con EA (8) (Deger et al., 2015). Las placas Amiloide-Beta son peligrosas para la neurona, no sólo porque forman agregados tóxicos, sino también debido a las interacciones que pueden tener con otros componentes de la célula. Un estudio reciente encontró en la EA, que las interacciones en las neuronas entre las formas monoméricas y oligoméricas de Amiloide-Beta con las Tau fosforiladas se ven incrementadas. Además, los resultados sugieren que estas interacciones dañan la estructura y la función neuronal, particularmente en las sinapsis, acelerando así la pérdida de función cognitiva (137) (Manczak y Reddy, 2013). Así, las proteínas Tau y las Amiloide-beta en la EA parecen utilizar un mecanismo de retroalimentación positiva. De manera que la que se acumula acelera la acumulación de la otra. Este es un ejemplo de proteínas tóxicas que muestran una tendencia hacia la sinergia entre sí. Entender cómo y por qué ocurren estas interacciones es actualmente objeto de una extensa investigación. Los agregados solubles de Amiloide-beta, llamados oligómeros Amiloide-beta han sido recientemente sugeridos como los verdaderos neurotóxicos representando un intermediario temprano en la formación de depósitos mayores (138) (Guerrero-Muñoz et al., 2014). Muchos estudios han demostrado que los Amiloide-Beta oligómeros son más tóxicos que las fibrillas más maduras y, por tanto, los oligómeros Amiloide-beta han ganado aceptación

como candidatas a la proteína más neurotóxica en la EA (139) (Kayed y Lasagna-Reeves, 2013). Además, los oligómeros de Amiloide-beta pueden inducir estrés del retículo endoplásmico, llevando a un aumento de los niveles de ubiquitina (8) (Deger et al., 2015) y se ha demostrado que el Amiloide-beta soluble inhibe directamente la función del UPS (140,141) (Almeida et al., 2006; Hoshi et al., 2003). Se cree por último que las proteínas Amiloide-beta adquieren sus características dañinas ya en su formación, lo que sugiere que la UPS no degrada la proteína perjudicial con suficiente anticipación para evitar la toxicidad (141) (Hoshi et al., 2003).

#### 4.9. Deterioro del proteasoma y la proteína Tau

La Tau es una proteína única ubicua implicada en la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas como una amiloidosis secundaria, aunque también por si sola puede estar relacionada con una serie de trastornos patológicos Tau puros. La EP se caracteriza por la agregación de proteínas Tau además de las proteínas Alfa-syn. Los cerebros afectados con EP no sólo presentan cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy, sino que también aparecen NFTs compuestas de proteínas Tau acumuladas. También, la proteína Tau ha sido encontrada en los filamentos que componen los cuerpos de Lewy (8) (Deger et al., 2015). Como se mencionó anteriormente, la proteína Tau muestra una tendencia a localizarse e interactuar con la Alfa-syn de tal manera que las dos proteínas refuerzan la toxicidad la una de la otra. Como en otras enfermedades neurodegenerativas, no se sabe exactamente cómo Tau contribuye a la EP. Sin embargo, está claro que la proteína Tau tiene una implicación clave en la EP y su importancia es cada vez más evidente a medida que se realizan más estudios (8) (Deger et al., 2015). Mientras que Tau ha sido reconocida por estar implicada en la EA desde hace muchos años, los investigadores recientemente han empezado a verla como un mediador importante de toxicidad en esta enfermedad, dejando a un lado el viejo paradigma de que las placas extracelulares Amiloide-Beta eran consideradas la diana terapéutica más importante. La EA se caracteriza por NFTs intracelulares que constan de proteínas Tau (8) (Deger et al., 2015), así como de oligómeros Tau (48) (Lasagna-Reeves et al., 2012). Si bien múltiples estudios han demostrado la acumulación de la ubiquitina en los NFTs encontrados en la EA (8) (Deger et al., 2015). La relación entre los agregados fibrilares metaestables de Tau y ubiquitina es compleja. Los ovillos neurofibrilares están compuestos de filamentos pareados helicoidales compuestos de filamentos Tau (PHF) en gran parte hiperfosforilados. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la interacción entre la ubiquitina y Tau no es totalmente dependiente del estado de fosforilación de Tau. Un estudio de investigación inicial sobre las diferentes fracciones de agregados de Tau encontró que la ubiquitinación parecía asociarse con los agregados de Tau en las fases tardías de la EA (142) (Kopke et al., 1993). Mientras que la Tau soluble fosforilada y no fosforilada aislada en el cerebro de la EA, no estaba ubiquitinada, PHFs insolubles fosforilados se asociaron con la ubiquitina (142) (Kopke et al., 1993). Por otra parte, la disminución de la actividad del proteasoma en cerebros con EA no se correlaciona con los niveles de Tau fosforilada (143) (Keck et al., 2003). Independientemente del estado de fosforilación, los PHFs pueden directamente

inhibir la actividad del proteosoma y se asocian con un deterioro del proteosoma aislado de la enfermedad (143) (Keck et al., 2003). La Tau ha sido implicada en la enfermedad de Huntington. Sin embargo, no aparece para interactuar con la huntingtina en esta enfermedad (8) (Deger et al., 2015). Mientras que las mutaciones en la Tau han demostrado estar asociados con EA, EP, o enfermedad Huntington, otras Taupatías, como la demencia lobar frontotemporal, por ejemplo, puede ser causada por una mutación en la proteína del gen que codifica la Tau (144) (Ross y Poirier, 2004). La Tau es una característica histopatológica común de otras enfermedades neurodegenerativas como la lesión cerebral traumática. La investigación ha demostrado que la agregación de Tau y su degradación tiene una conexión clara, aunque compleja y polifacética con la disfunción UPS (8) (Deger et al., 2015).

#### **4.10. Toxicidad oligómeros Tau en las enfermedades neurodegenerativas**

La Tau experimenta muchas modificaciones post-transduccionales, incluyendo glicosilación, ubiquitilación, glicación, poliaminación, nitrosilación, truncamiento y fosforilación (8) (Deger et al., 2015). La hiperfosforilación se piensa que es la modificación postraduccionales más relevante en relación con la enfermedad, ya que puede alterar las funciones biológicas de Tau y alterar el auto-ensamblaje, la agregación, y la acumulación (145) (Avila, 2000). La hiperfosforilación disminuye la afinidad de la Tau por los microtúbulos y por lo tanto aumenta la cantidad libre de Tau en el citoplasma. Como resultado, Tau forma oligómeros y NFTs que se correlacionan con la pérdida neuronal, el deterioro cognitivo, déficits sinápticos, deterioro de la síntesis de proteínas, y disminución de factores de transcripción (135,146) (Metcalf et al., 2012; Bretteville y Planel, 2008). Recientemente se ha demostrado que formas prefilamentosas solubles de Tau pueden ser los agregados de Tau más tóxicos y patológicamente más significativos (46,147) (Gerson et al., 2014; Brunden et al., 2008). Los estudios sobre el cerebro con patología Tau, sugieren que las neuronas en las Taupatías sufren una forma lenta de muerte celular no apoptótica (8) (Deger et al., 2015). Existe controversia acerca de cuál, de las distintas formas de Tau, la Tau monomérica, la Tau hiperfosforilada, o la Tau oligomérica, presenta más neurotoxicidad (147,148) (Brunden et al., 2008; Berger et al., 2007). De hecho, algunos estudios sugieren que la Tau puede ser neuroprotectora (149) (Ubhi et al., 2009). Sin embargo, la inmensa mayoría de las investigaciones muestran una fuerte evidencia de que Tau causa neurotoxicidad, a pesar de que el mecanismo específico de la causa se desconoce. Los ovillos neurofibrilares (NFTs), desde hace tiempo, son considerados como una característica patológica de varias Taupatías, especialmente en la EA. Aunque, el mecanismo patológico de la Tau no está clara, un creciente grupo de investigaciones apoyan la hipótesis según la cual las formas intermedias de los monómeros Tau y los NFTs, llamados oligómeros Tau, son la causa de la toxicidad en las enfermedades neurodegenerativas y por lo tanto la mejor diana terapéutica (150) (Gerson y Kaye, 2013). Los oligómeros Tau tienen la capacidad de auto-propagarse entrando y saliendo de las células, extendiéndose desde las zonas afectadas a las zonas no afectadas del cerebro (151) (Walker et al., 2013). Además, en un estudio en ratones envejecidos que expresan Tau humanas,

concluyó que no hubo correlación entre los filamentos de Tau y la muerte celular, lo que sugiere que la forma final de Tau no es tan significativamente patológica como se pensaba (152) (Andorfer et al., 2003). Una importante investigación está dedicada al desarrollo de ensayos celulares que utilizan como dianas los oligómeros Tau (153) (Davidowitz et al., 2008). De hecho, un anticuerpo específico para el oligómero Tau, el T22, ha sido recientemente desarrollado y utilizado en un estudio que apoya la premisa de utilizar oligómeros Tau como dianas terapéuticas en las Tauopatías (48) (Lasagna-Reeves et al., 2012). El desarrollo de estos anticuerpos no sólo revela las causas de la neurotoxicidad sino también el potencial de la inmunoterapia para evitar la progresión de la enfermedad (8) (Deger et al., 2015). También recientemente se ha desarrollado un nuevo anticuerpo monoclonal de ratón específico contra el oligómero Tau (TOMA). Este anticuerpo se utilizó con éxito para la inmunoterapia pasiva en dos modelos diferentes de ratón con Tauopatía. Los resultados demostraron que la administración a largo plazo de TOMA fue eficaz como tratamiento preventivo debido a que la inhibición de las Tau oligoméricas preservaron la memoria y la función motora. Estos datos apoyan el papel crítico de Tau oligomérica en la progresión de la enfermedad y validan las Tau oligoméricas como una diana para potenciales fármacos (154) (Castillo-Carranza et al., 2014).

#### **4.11. Los efectos perjudiciales de oligómeros Tau sobre el UPS**

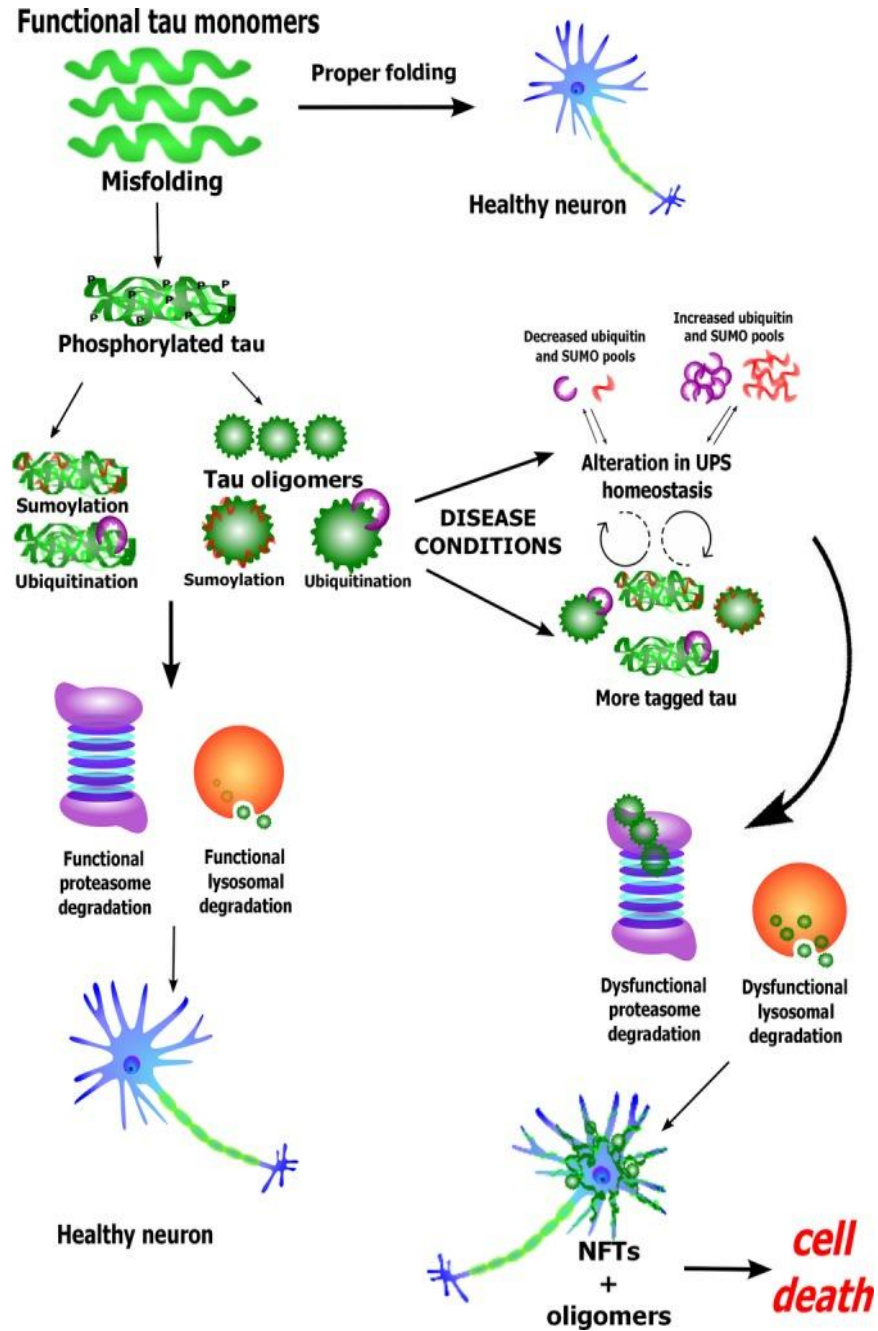
En relación con el UPS, errores tempranos en el proceso de desarrollo de la Tau puede obstaculizar una proteólisis adecuada. En apoyo a esta hipótesis, un estudio reciente, encontró una correlación entre la acumulación de oligómeros Tau hiperfosforilados en las sinapsis de EA humana, el aumento de sustratos ubiquitinizados, y los componentes del proteasoma, que lleva a la disfunción del UPS (49) (Tai et al., 2012). Si las proteínas Tau defectuosas pudieran ser destruidas antes de causar daño a las células, potencialmente se podría evitar la muerte de estas células. No es raro que la célula tenga errores durante la síntesis de proteínas. Sin embargo, en un entorno celular ideal, las proteínas defectuosas que son el resultado de estos errores, serían destruidas antes de dañar a la célula. Sin embargo, en la neurodegeneración, parece que el proteasoma es incapaz de digerir estas proteínas defectuosas. Como resultado, las proteínas se acumulan y presumiblemente, producen más deterioro del proteasoma. Por lo tanto, la ubiquitinación y la sumoilación, tienen un papel en el proceso que hacen que se convierta la Tau en neurotóxica, debido a que tienen la capacidad de destruir Tau antes de que esta pueda perjudicar a la célula (8) (Deger et al., 2015).

#### **4.12. La ubiquitinación y sumoilación de oligómeros Tau**

Es conocida la relación entre el UPS y los agregados de Tau tóxico del mismo modo que se conoce que los agregados Tau encontrados en las neuronas de las enfermedades neurodegenerativas no sólo son fosforilados, sino también ubiquitinizados (8) (Deger et al., 2015). Para investigar esta relación con más detalle, un estudio utilizó células de neuroblastoma a las que se sobreexpone a la proteína Tau. Sorprendentemente, la inhibición del proteasoma condujo a

una degradación bidireccional de la Tau (42) (Delobel et al., 2005). Una explicación de estos resultados es que cuando se inhibe el proteasoma, la célula compensa mediante la sobreexpresión de las proteasas calpaína y caspasa. Ambas proteínas realizan la proteólisis de la Tau. Este fenómeno podría explicar por qué la activación de caspasa parece correlacionarse con la degradación de la Tau y por qué calpaína ha demostrado que se hiperactiva en el proceso neurodegenerativo (42) (Delobel et al., 2005). Estas evidencias demuestran que la relación entre la Tau y el UPS es muy complejo. Si bien existe una conexión entre los agregados de Tau y el deterioro del UPS, debe investigarse cómo se forja exactamente esta conexión con el fin de ser completamente comprendido. Parece ser que un exceso de compensación con proteasas como la caspasa y la calpaína puede no producir Tau defectuosa fuera de la célula, al menos en algunas enfermedades neurodegenerativas (8) (Deger et al., 2015).

Muchas proteínas implicadas en la neurodegeneración son sumoiladas, incluyendo la Tau. Esta sumoilación está regulada por la fosforilación. La fosforilación ha demostrado que disminuye la afinidad de la Tau a los microtúbulos, y por tanto se puede volver inestable y agregarse (8) (Deger et al., 2015). Liberar la Tau de su sitio en los microtúbulos, le permite agregarse para interactuar con el sistema endosomal/lisosomal y alterar la permeabilidad de la membrana celular, permitiendo de este modo que sea liberada en el espacio extracelular donde puede contribuir a la propagación de la patología (150,155) (Gerson y Kaye, 2013; Holmes y Diamond, 2014). El tratamiento con el inhibidor de fosfatasa, el ácido okadaico o con la colchicina (fármaco que despolimeriza los microtúbulos) producen la despolimerización y regulan la sumoilación de la Tau. Esto sugiere que la modificación SUMO se dirige preferentemente a la mezcla libre soluble del sustrato (45) (Dorval y Fraser, 2006). La evidencia de la importancia potencial de las modificaciones SUMO en el procesamiento de la Tau es además apoyada porque la sumoilación de la Tau es estimulada por la fosforilación, que es una modificación posterior a la traducción asociada con la Tau en estados de enfermedad (45) (Dorval y Fraser, 2006). La sumoilación de oligómeros Tau está en el centro de muchos proyectos de investigación por una buena razón: tiene muchas implicaciones con el UPS y también el potencial para conocer la relación entre los oligómeros Tau y el proteasoma. En la figura 8 se representa una hipótesis de cómo los errores en la vía proteolítica pueden conducir a la muerte celular (8) (Deger et al., 2015).



**Figura 8.** Esquema que representa la hipótesis de cómo los errores en la vía proteolítica pueden conducir a la muerte celular. (8) (Deger et al., 2015).



## 5. DISCUSION

Como se muestra en la figura 1, tanto la degradación proteasomal como la autofagia realizan una serie de tareas celulares fisiológicamente importantes y consecuentemente su pérdida funcional puede conducir a diversas situaciones patológicas. Está claro que existe una interacción entre la proteostasis y la neurodegeneración, centrada en la degradación proteasómica y la autofagia, que se van deteriorando con el envejecimiento y se asocian con enfermedades neurodegenerativas. El mal funcionamiento del proteasoma está relacionado con trastornos neurodegenerativos que se acompañan de acúmulos de proteínas. Cuando el proteasoma no logra degradar los agregados de proteínas, la activación inducida por fármacos de la autofagia puede ayudar a eliminarlos (156) (Rubinsztein et al., 2012), lo que indica que la autofagia contribuye independientemente del proteasoma, a la eliminación de agregados de proteínas (5) (Tanaka et al., 2014). Cuando la cantidad de los agregados sobrepasa la capacidad de eliminación del proteasoma y de la autofagia, la activación de dichos mecanismos por agentes farmacéuticos podría ser eficaz para prevenir la progresión de la enfermedad (5) (Tanaka et al., 2014). Por ejemplo, se sabe que la rapamicina, que induce la autofagia, tiene tal efecto. Sin embargo, aunque los inhibidores son relativamente fáciles de encontrar, los activadores son más difíciles de hacerlo, particularmente los que actúan a nivel del proteasoma. Curiosamente, el tratamiento en células cultivadas con una pequeña molécula: el inhibidor de USP14, un enzima de desubiquitilación asociado al proteasoma, aumenta la degradación de varios sustratos proteasomales que han sido implicados en la enfermedad neurodegenerativa (157) (Lee et al., 2010). El aumento de la actividad proteasomal a través de la inhibición de USP14 puede ofrecer una estrategia para reducir los niveles de proteínas aberrantes en las células.

Existen muchos mecanismos celulares defensivos contra la agregación de proteínas y el mal plegamiento de las proteínas que precede a dicha agregación. Por consiguiente, hay muchos puntos en los que estas vías defensivas pueden fallar y por lo tanto numerosos pasos en el proceso de formación de proteínas y en otros distintos procesos celulares que merecen la pena ser investigados como terapias potenciales contra la neurodegeneración. La primera línea de defensa incluye a las chaperonas que ayudan a doblar y replegar las proteínas anómalas (8,158) (Deger et al., 2015; Saibil, 2013). En segundo lugar, se encuentran las modificaciones covalentes, producidas por la ubiquitilación y/o la sumoilación, que preceden a la digestión del proteasoma (159) (Ciechanover et al., 2017). El hecho de que las inclusiones patológicas de las enfermedades neurodegenerativas contengan muchos de los componentes necesarios para la protección de las células contra estas mismas inclusiones, en particular chaperonas, ubiquitina y constituyentes del proteasoma, representa presumiblemente defensas celulares superadas por la excesiva agregación de proteínas dentro de las células (160) (Ross y Poirier, 2004). En la actualidad, la investigación de nuevos fármacos está enfocada al UPS, no

sólo para las enfermedades neurodegenerativas, sino también para el cáncer y otras enfermedades inmunológicas. Sin embargo, la inhibición del proteosoma en la investigación como potencial terapéutico para el cáncer debe ser revisada con precaución a la luz de los efectos potenciales en la neurodegeneración. El dipéptido análogo de ácido borónico: bortezomib, comercialmente llamado Velcade, fue el primer inhibidor del proteasoma comercializado en seres humanos, de otros como el carfilzomib (Kyprolis) y el ixazomib (Ninlaro) (8,161) (Deger et al., 2015; Genadieva S et al., 2017) que actualmente se utiliza en el tratamiento del mieloma múltiple. El Bortezomib opera inhibiendo el propio proteasoma y conduce a la destrucción de las células cancerosas a través de la acumulación de proteínas tóxicas en ellas. Aunque la falta de especificidad de esta acción inhibidora provoca múltiples efectos secundarios no deseados, las células cancerosas parecen ser más sensibles a los efectos de la inhibición del proteasoma que las células normales debido a una pérdida de mecanismos de control que se producen durante la tumorigénesis. Normalmente, las células normales pueden recuperarse, ya que la inhibición del proteasoma es transitoria y reversible (162) (Field-Smith et al., 2006). Se desconoce cómo tal tratamiento podría afectar a las proteínas amiloides en el cerebro (8) (Deger et al., 2015). En la encefalitis por anticuerpos-NMDAR con resistencia a los fármacos estándar (corticosteroides, inmunoglobulinas IV, plasmaferesis, rituximab, ciclofosfamida), el tratamiento con Bortezomib demostró en pequeñas series de enfermos una mejoría clínica o remisión de la enfermedad acompañada de una disminución parcial de los anticuerpos NMDAR (163) (Scheibe et al., 2017). Cabe mencionar también que se está investigando la eficacia del tratamiento con inhibidores de sumoilación (164) (Chen y Li, 2012). Por otro lado, aunque está claro que existe una fuerte evidencia en la correlación entre el daño no reparado del DNA, la señalización persistente del DDR y la disfunción neuronal o muerte celular en varias enfermedades neurodegenerativas, así como en el envejecimiento. Sin embargo, el papel directo del daño del genoma en la iniciación y la progresión de la neurodegeneración necesita nuevos estudios como por ejemplo: 1) la forma en que los tipos específicos de células del SNC responden al daño del DNA y se comunican entre ellas para asegurar la homeostasis; 2) las consecuencias del daño del DNA en las neuronas en la comunicación cruzada entre el núcleo y las mitocondrias; 3) las consecuencias del daño del DNA en el estado postmitótico de las neuronas; 4) el papel de la desregulación del ciclo celular mediada por los DDR, los defectos de la transcripción y la neuroinflamación y su contribución a la pérdida neuronal en las enfermedades neurodegenerativas; y 5) entender el papel relativo de los factores etiológicos ligados a las enfermedades neurodegenerativas para causar daño y/o reparación de los defectos del DNA nuclear y mitocondrial (67) (Wang et al., 2017).

El control de los DDR es importante para la integridad genómica y la supervivencia de las células en el SNC. La activación persistente y aberrante de los DDR podría conducir a un aumento de la inestabilidad del genoma y la susceptibilidad a la neurodegeneración. Consistentemente, las evidencias preliminares sugieren que la modulación en la señalización del DDR podría ser beneficiosa en la atenuación de la neurodegeneración. Suberbielle y sus colaboradores demostraron que el aumento, inducido por oligómeros de

Amiloide-beta, de DSB neuronal podrían prevenirse bloqueando la activación de receptores de glutamato tipo NMDA (N-metil-d-aspartato) extra-sinápticos en neuronas primarias cultivadas, lo que indica que la inhibición de estos receptores puede contribuir a proteger y estabilizar el genoma neuronal en condiciones patológicas (83) (Suberbielle et al., 2013). También está demostrado que la nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD) es un neuroprotector que disminuye las Abeta inducidas por 8-oxo-dG, los AP sitios (lugares del DNA sin bases púricas ni pirimidínicas), los SSB y las DSB en neuronas corticales de rata (165) (Wu et al., 2014). En otro estudio se encontró en modelos de ratón que expresan huntingnina mutante en neuronas, que la reparación del DNA mediada por Ku está alterada. Esto lo evitan mediante la suplementación de Ku70 exógeno (166) (Enokido et al., 2010). Estos resultados también se han observado en modelos de *Drosophila* con EP (167) (Tamura, 2011). Un estudio reciente, ha demostrado un papel neuroprotector de la maquinaria de reparación de la escisión de bases (BER) en un modelo de ratón. Martin y colaboradores indujeron la expresión de APE1 y OGG1 humanas en neuronas vulnerables y encontraron que la expresión suprimió significativamente la axotomía y la deprivación en las neuronas talámicas y motoras inducida por la apoptosis, lo que indica que la modulación de la reparación del DNA podría ser un objetivo terapéutico potencial para el daño del DNA relacionado con la apoptosis neuronal (168) (Martin y Wong, 2016). Otro estudio ha revelado que la sobreexpresión de la sirtuina 6 (SIRT6), que está regulada negativamente en los cerebros de los pacientes con EA, así como en los ratones 5XFAD, probablemente regulada por Amiloide-beta 42, evita el daño del DNA inducido por Amiloide-beta 42 de una manera dependiente de p53 (169) (Jung et al., 2016).

La reparación del DNA mt también podría ser un enfoque viable para la protección neuronal contra lesiones oxidativas. Los oligodendrocitos son uno de los principales tipos de células gliales y son extremadamente sensibles al estrés oxidativo asociado con la disminución de la capacidad de reparación del DNA mt y su disfunción conduce a graves déficits neurológicos. Druzhyna y colaboradores introdujeron el gen de DNA humano OGG1 en mitocondrias de oligodendrocitos de rata y encontraron que el aumento de la reparación oxidativa DNA mt por expresión del gen OGG1 resiste significativamente en los oligodendrocitos a los efectos letales por estrés oxidativo mediado por menadiona (170) (Druzhyna et al., 2003).

## 6. CONCLUSIONES

Tras los datos presentados en este trabajo podemos concluir que:

- La mayoría de las enfermedades neurodegenerativas tienen etiologías complejas que incluyen el estrés oxidativo, iones metálicos pro-oxidantes y otros radicales libres.
- La modificación covalente de los oligómeros Tau, Amiloide-Beta, y Alfa-sinucleína claramente tiene un impacto sobre la neurotoxicidad. Ubiquitina y SUMO, dos marcadores que dirigen moléculas para la degradación, existen en los agregados tóxicos de la proteína que caracterizan enfermedades neurodegenerativas, sugiriendo que mientras que la célula no tiene dificultad en

reconocer las proteínas dañadas, sin embargo, el proteasoma puede no tener capacidad para degradarlas. Esto podría deberse a que proteínas dañadas tienen ciertos mecanismos para protegerse contra la digestión, lo que explicaría en parte por qué tan pocas enfermedades neurodegenerativas tienen tratamientos o curas eficaces.

- Los factores etiológicos endógenos y exógenos relacionados con la neurodegeneración no sólo inducen daño del DNA (directamente o por disfunción vía mitocondrial, deficiente defensa antioxidante y/o por respuesta inflamatoria) sino que también inhiben la reparación del DNA o causan una reparación defectuosa del DNA. Esto conduce a un desequilibrio en el daño frente a la reparación y la acumulación persistente de daño no reparado del genoma.

- La presencia persistente de daño del genoma, junto con la reparación del DNA defectuosa en las neuronas conduce a una señal aberrante de respuesta al daño del DNA que desencadena neuroinflamación, inhibición transcripcional y/ o una regulación anormal del ciclo celular, resultando en la muerte celular neuronal. La reducción de la reparación del DNA está cada vez más vinculada a las enfermedades neurodegenerativas esporádicas y al envejecimiento. Esto implica distintos mecanismos como: 1) la regulación transcripcional alterada que causa reducción en la expresión de una proteína de reparación; y 2) la inhibición de la actividad catalítica de las proteínas de reparación.

- La mayoría de las enfermedades neurodegenerativas presentan deterioro en la homeostasis redox en el cerebro que implica principalmente un exceso en ROS e iones metálicos pro-oxidantes, muchos de los cuales se encuentran generalmente en forma de trazas. El Fe, Zn y Mn así como la acumulación excesiva de Al, Cr, Pb y Ni en el SNC han sido relacionados con el inicio/progresión de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Wilson y en los accidentes cerebrovasculares.

- La acumulación progresiva de daño no reparado en el genoma parece ser una característica común de muchas enfermedades neurodegenerativas, y se correlaciona con la gravedad sintomática en la mayoría de los casos, incluyendo la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson.

- La disfunción mitocondrial (mutaciones o deleciones puntuales en el DNA mitocondrial) puede contribuir a las enfermedades neurodegenerativas y al envejecimiento. Numerosos estudios muestran una acumulación elevada de daño en el DNA mitocondrial o defectos en la reparación del DNA mitocondrial en pacientes con enfermedades neurodegenerativas.

- La presencia de daño persistente no reparado, particularmente rupturas de las cadenas de DNA podrían tener un efecto muy perjudicial sobre las neuronas, incluyendo: la parada transcripcional en los sitios dañados, la formación de híbridos RNA/DNA o la formación de lazos-R que llevarían a la muerte neuronal.

- La disfunción en el UPS lleva a la acumulación de agregados de proteínas tóxicas en muchos trastornos neurodegenerativos. Sin embargo, se desconoce si la acumulación de proteínas puede por sí mismo perjudicar la función de la UPS o si el fracaso de la UPS puede conducir a la acumulación de proteínas. En el caso de la enfermedad de Parkinson es característica la acumulación de oligómeros de alfa-sinucleína con frecuencia ubiquitilados y

oligómeros Tau. En la enfermedad de Alzheimer se acumulan proteínas Amiloide-Beta y oligómeros Tau.

- La Tau es una proteína única ubicua implicada en la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas. La agregación de Tau y su degradación tiene una conexión clara, aunque compleja y polifacética con la disfunción del UPS. La Tau experimenta muchas modificaciones post-transcripcionales, incluyendo glicosilación, ubiquitilación, glicación, poliaminación, nitrosilación, truncamiento y fosforilación. La hiperfosforilación se piensa que es la modificación postraduccional más relevante en relación con la enfermedad, ya que puede alterar las funciones biológicas de Tau y alterar el auto-ensamblaje, la agregación, y la acumulación. Se pueden utilizar los oligómeros Tau como dianas terapéuticas. Se han desarrollado anticuerpos contra la Tau. La inmunoterapia podría evitar la progresión de la enfermedad.

- En las enfermedades neurodegenerativas hay una relación entre el deterioro UPS y los agregados de Tau tóxico. Los agregados Tau no sólo están fosforilados, sino también ubiquitilados. La Tau está también sumoilada estando esta regulada por fosforilación. La sumoilación de oligómeros Tau tiene muchas implicaciones complejas con el UPS.

- Los activadores del proteasoma y/o autofagia pueden ayudar a diseñar nuevas estrategias para la prevención de enfermedades neurodegenerativas. La investigación de nuevos fármacos relacionados con el UPS es muy prometedora, no sólo para las enfermedades neurodegenerativas, sino también para el cáncer y otras enfermedades inmunológicas. Sin embargo, la inhibición del proteasoma como potencial terapéutico para el cáncer debe ser revisada por los efectos secundarios potenciales en la neurodegeneración.

- Por último, está claro que existe una fuerte evidencia de correlación entre el daño no reparado del DNA, la señalización persistente de DDR y la disfunción neuronal o la muerte celular en varias enfermedades neurodegenerativas, así como en el envejecimiento. Como prioridades en los pacientes con enfermedades neurodegenerativas, al tiempo que se exploran maneras de mejorar la capacidad de reparación del genoma, los estudios futuros deberían explorar otros objetivos de DDR como vías para prevenir la muerte neuronal.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Cacabelos R. Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(3).pii:E551.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5372567/>
  
2. Kerner B. Psychiatric genetics, neurogenetics, and neurodegeneration. *Front Genet* 2015; 5:467.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4294215/>
  
3. Mu TW, Ong DST, Wang YJ, Balch WE, Yates III JR, et al. Chemical and Biological Approaches Synergize to Ameliorate Protein-Folding Diseases. *Cell.* 2008;134(5):769-81.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2650088/>
  
4. Tanaka K, Matsuda N. Proteostasis and neurodegeneration: The roles of proteasomal degradation and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1843(1):197-204.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488913001110>
  
5. Tanaka K. The Proteasome: From Basic Mechanisms to Emerging Roles. *Keio J Med.* 2013; 62(1):1-12.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/62/1/62\\_2012-0006-RE/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/62/1/62_2012-0006-RE/_pdf)
  
6. Shibutani ST, Yoshimori T. A current perspective of autophagosome biogenesis. *Cell Res* 2014; 24(1):58-68.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3879706/>
  
7. Komatsu M, Ueno T, Waguri S, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Constitutive autophagy: vital role in clearance of unfavorable proteins in neurons. *Cell Death Differ* 2007 May;14(5):887-94.  
<https://www.nature.com/cdd/journal/v14/n5/full/4402120a.html>
  
8. Deger JM, Gerson JE, Kayed R. The interrelationship of proteasome impairment and oligomeric intermediates in neurodegeneration. *Aging Cell* 2015;14(5):715-24.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4568959/>
  
9. Steece-Collier K, Maries E†, Kordower JH. Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(22):13972-4.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC137821/>
  
10. Stephen P. Jackson<sup>1</sup> and Jiri Bartek<sup>2</sup>. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 2009; 461(7267):1071-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2906700/>

11. Ciccia A, Elledge SJ. The DNA Damage Response: Making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010 October 22; 40(2): 179–204.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2988877/>
12. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011; 144(5):646-74.  
[http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(11\)00127-9.pdf](http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(11)00127-9.pdf)
13. Rodgers K, McVey M. Error-prone repair of DNA double-strand breaks. *J Cell Physiol* 2016; 231(1):15-24.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4586358/>
14. Chapman JR1, Taylor MR, Boulton SJ. Playing the End Game: DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice. *Mol Cell* 2012;47(4):497-510.  
[http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765\(12\)00656-9.pdf](http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(12)00656-9.pdf)
15. Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol* 2016; 26(1):52-64.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4862604/>
16. Chiruvella KK, Liang Z, Wilson TE. Repair of double-strand breaks by end joining. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; 5(5):a012757.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3632057/>
17. Radhakrishnan SK, Jette N, Lees-Miller SP. Non-homologous end joining: emerging themes and unanswered questions. *DNA Repair (Amst)* 2014;17:2-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4084493/>
18. Graham TG, Walter JC, Loparo JJ. Two-Stage Synapsis of DNA Ends during Non-Homologous End Joining. *Mol Cell*. 2016; 61(6):850-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4799494/>
19. Karanam K, Kafri R, Loewer A, Lahav G. Quantitative live cell imaging reveals a gradual shift between DNA repair mechanisms and a maximal use of HR in mid-S Phase. *Mol Cell* 2012; 47(2):320-9.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3494418/>
20. Jasin M, Rothstein R. Repair of strand breaks by homologous recombination. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; 5(11):a012740.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3809576/>
21. Orthwein A, Noordermeer SM, Wilson MD1, Landry S, Enchev RI et al. A mechanism for the suppression of homologous recombination in G1 cells. *Nature* 2015; 528(7582): 422–426.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880051/>
22. Cejka P. DNA End Resection: Nucleases Team Up with the Right Partners to Initiate Homologous Recombination. *J Biol Chem* 2015; 290(38):22931-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4645618/>

23. Daley JM, Niu H, Miller AS, Sung P. Biochemical mechanism of DSB end resection and its regulation. *DNA Repair (Amst)* 2015; 32:66-74.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522330/>
24. Kakarougkas A, Jeggo PA. DNA DSB repair pathway choice: an orchestrated handover mechanism. *Br J Radiol* 2014; 87(1035):20130685.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4064598/>
25. Tomimatsu N, Mukherjee B, Catherine Hardebeck M, Ilcheva M, Vanessa Camacho C et al. Phosphorylation of EXO1 by CDKs 1 and 2 regulates DNA end resection and repair pathway Choice. *Nat Commun.* 2014 Apr 7;5:3561.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4041212/>
26. Tkáč J, Xu G, Adhikary H, Young JT, Gallo D et al. HELB Is a Feedback Inhibitor of DNA End Resection. *Mol Cell* 2016; 61(3):405-18.  
[http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765\(15\)00947-8.pdf](http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(15)00947-8.pdf)
27. Jackson SP, Durocher D. Regulation of DNA damage responses by ubiquitin and SUMO. *Mol Cell* 2013; 49(5):795-807.  
[http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765\(13\)00050-6.pdf](http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(13)00050-6.pdf)
28. Schwertman P, Bekker-Jensen S, Mailand N. Regulation of DNA double-strand break repair by ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016; 17(6):379-94.  
<https://www.nature.com/nrm/journal/v17/n6/pdf/nrm.2016.58.pdf>
29. Cremona CA, Sarangi P, Yang Y, Hang LE, Rahman S, et al. Extensive DNA damage induced sumoylation contributes to replication and repair and acts in addition to the mec1 checkpoint. *Mol Cell* 2012; 45(3):422-32.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3340930/>
30. Psakhye I, Jentsch S. Protein group modification and synergy in the SUMO pathway as exemplified in DNA repair. *Cell* 2012; 151(4):807-20.  
[http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(12\)01241-X.pdf](http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(12)01241-X.pdf)
31. Elia AE, Boardman AP, Wang DC, Huttlin EL, Everley RA et al. Quantitative Proteomic Atlas of Ubiquitination and Acetylation in the DNA Damage Response. *Mol Cell* 2015; 59(5):867-81.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4560960/>
32. Sturzenegger A, Burdova K, Kanagaraj R, Levikova M, Pinto C1 et al. DNA2 Cooperates with the WRN and BLM RecQ Helicases to Mediate Long-range DNA end Resection in Human Cells. *J Biol Chem* 2014; 289(39):27314-26.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4175362/>



33. Himmels SF, Sartori AA. Controlling DNA-End Resection: An Emerging Task for Ubiquitin and SUMO. *Front Genet* 2016; 7:152.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4993767/>
34. J. Zhao, B. Zhai, S.P. Gygi, A.L. Goldberg mTOR inhibition activates overall protein degradation by the ubiquitin proteasome system as well as by autophagy *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112 (2015), pp. 15790–15797
35. A. Hershko, A. Ciechanover, H. Heller, A.L. Haas, I.A. Rose Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of protein with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77 (1980), pp. 1783–1786
36. R. Hough, G. Pratt, M. Rechsteiner Purification of two high molecular weight proteases from rabbit reticulocyte lysate *J. Biol. Chem.*, 262 (1987), pp. 8303–8313
37. L. Waxman, J.M. Fagan, A.L. Goldberg Demonstration of two distinct high molecular weight proteases in rabbit reticulocytes, one of which degrades ubiquitin conjugates *J. Biol. Chem.*, 262 (1987), pp.2451–2457
38. D. Finley Recognition and processing of ubiquitin-protein conjugates by the proteasome *Annu. Rev. Biochem.*, 78 (2009), pp. 477–513
39. T. Inobe, A. Matouschek Paradigms of protein degradation by the proteasome *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 24 (2014), pp. 156–164
40. Collins GA, Goldberg AL. The Logic of the 26S Proteasome. *Cell*. 2017 May 18;169(5):792-806. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.023.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867417304749>
41. A.F. Kisselev, T.N. Akopian, K.M. Woo, A.L. Goldberg. The sizes of peptides generated from protein by mammalian 26 and 20 S proteasomes. Implications for understanding the degradative mechanism and antigen presentation. *J. Biol. Chem.*, 274 (1999), pp. 3363–3371
42. Delobel P, Leroy O, Hamdane M, Sambo AV, Delacourte A et al. Proteasome inhibition and Tau proteolysis: an unexpected regulation. *FEBS Lett* 2005; 579(1):1-5.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.febslet.2004.11.018/full>
43. Wang J1, Maldonado MA. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cell Mol Immuno* 2006; 3(4):255-61.  
<http://www.cmi.ustc.edu.cn/3/4/255.pdf>
44. Gill G. SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev* 2004; 18(17):2046-59.

<http://genesdev.cshlp.org/content/18/17/2046.long>

45. Dorval V, Fraser PE. Small Ubiquitin-like Modifier (SUMO) Modification of Natively Unfolded Proteins Tau and  $\alpha$ -Synuclein. *J Biol Chem*. 2006 Apr 14;281(15):9919-24.

<http://www.jbc.org/content/281/15/9919.long>

46. Gerson JE, Sengupta U, Lasagna-Reeves CA, Guerrero Muñoz MJ, Troncoso J et al. Characterization of tau oligomeric seeds in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol Commun* 2014; 2:73.

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4229782/pdf/40478\\_2014\\_Article\\_138.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4229782/pdf/40478_2014_Article_138.pdf)

47. Morishima-Kawashima M, Hasegawa M, Takio K, Suzuki M, Yoshida H et al. Proline-directed and non-proline-directed phosphorylation of PHF-tau. *J Biol Chem* 1995; 270(2):823-9.

<http://www.jbc.org/content/270/2/823.long>

48. Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Sengupta U, Sarmiento J, Troncoso J et al. Identification of oligomers at early stages of tau aggregation in Alzheimer's disease. *FASEB J*. 2012; 26(5):1946-59.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4046102/>

49. Tai HC, Serrano-Pozo A, Hashimoto T, Frosch MP, Spires-Jones TL et al. The synaptic accumulation of hyperphosphorylated tau oligomers in Alzheimer disease is associated with dysfunction of the ubiquitin-proteasome system. *Am J Pathol* 2012;181(4):1426-35.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3463637/>

50. Desterro JM, Keegan LP, Jaffray E, Hay RT, O'Connell MA et al. SUMO-1 modification alters ADAR1 editing activity. *Mol Biol Cell* 2005; 16(11):5115-26.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1266412/>

51. Oddo S. The ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *J Cell Mol Med* 2008; 12(2):363-73.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822529/>

52. Hay RT. Decoding the SUMO signal. *Biochem Soc Trans* 2013; 41(2):463-73.

<http://www.biochemsoctrans.org/content/41/2/463.long>

53. Brown JS, Jackson SP. Ubiquitylation, neddylation and the DNA damage response. *Open Biol* 2015; 5(4):150018.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4422126/>

54. Stewart MD, Ritterhoff T, Klevit RE, Brzovic PS. E2 enzymes: more than just middle men. *Cell Res* 2016; 26(4):423-40.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822130/>

55. Ronau JA, Beckmann JF1, Hochstrasser M Substrate specificity of the ubiquitin and Ubl proteases. *Cell Res.* 2016 Apr;26(4):441-56.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822132/>
56. Swatek KN, Komander D1. Ubiquitin modifications. *Cell Res* 2016; 26(4):399-422.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822133/>
57. Hay RT. SUMO: A History of Modification. *Mol Cell* 2005; 18(1):1-12.  
[http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765\(05\)01182-2.pdf](http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(05)01182-2.pdf)
58. Anckar J, Sistonen L. SUMO: getting it on. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(6):1409-13.  
<http://www.biochemsoctrans.org/content/ppbiost/35/6/1409.full.pdf>
59. Sarge KD, Park-Sarge OK. Sumoylation and Human Disease Pathogenesis. *Trends Biochem Sci* 2009; 34(4):200-5.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2974900/pdf/nihms247310.pdf>
60. Ayaydin F, Dasso M. Distinct In Vivo Dynamics of Vertebrate SUMO Paralogues. *Mol Biol Cell* 2004; 15(12):5208-18.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC532004/pdf/00155208.pdf>
61. Wang Y, Dasso M. SUMOylation and deSUMOylation at a glance. *J Cell Sci* 2009; 122(23):4249-52.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2779127/>
62. Vertegaal AC, Andersen JS, Ogg SC, Hay RT, Mann M, Lamond AI. Distinct and Overlapping Sets of SUMO-1 and SUMO-2 Target Proteins Revealed by Quantitative Proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5(12):2298-310.  
<http://www.mcponline.org/content/5/12/2298.full.pdf>
63. Saitoh H, Hinchey J. Functional Heterogeneity of Small Ubiquitin-related Protein Modifiers SUMO-1 versus SUMO-2/3. *J Biol Chem* 2000; 275(9):6252-8.  
<http://www.jbc.org/content/275/9/6252.full.pdf>
64. Valin A, Gill G. Regulation of the dual-function transcription factor Sp3 by SUMO. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(6):1393-6.  
<http://www.biochemsoctrans.org/content/ppbiost/35/6/1393.full.pdf>
65. Drag M, Salvesen GS. DeSUMOylating Enzymes—SENPs. *IUBMB Life* 2008; 60(11):734-42.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iub.113/epdf>
66. Hegde ML, Hegde PM, Rao KS, Mitra S. Oxidative genome damage and its repair inneurodegenerative diseases: function of transition metals as a double-edgedsword. *J. Alzheimers Dis* 2011; 24 (2):183–98.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733231/pdf/nihms489520.pdf>

67. Wang H, Dharmalingam P, Vasquez V, Mitra J, Boldogh I et al. Chronic oxidative damage together with genome repair deficiency in the neurons is a double whammy for neurodegeneration: Is damage response signaling a potential therapeutic target? *Mech Ageing Dev* 2017; 161(A):163-176.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0047637416301683>
68. Hegde ML, Izumi T, Mitra S. Oxidized base damage and single-strand break repair in mammalian genomes: role of disordered regions and posttranslational modifications in early enzymes. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012;110:123-53.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531629/pdf/nihms422222.pdf>
69. Wang J, Xiong S, Xie C, Markesbery WR, Lovell MA. Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2005; 93(4):953-62.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.2005.03053.x/epdf>
70. Moore N, Okocha F, Cui JK, Liu PK. Homogeneous repair of nuclear genes after experimental stroke. *J Neurochem* 2002;80(1):111-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2729788/pdf/nihms24727.pdf>
71. Pickrell AM, Pinto M, Hida A, Moraes CT. Striatal dysfunctions associated with mitochondrial DNA damage in dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2011; 31(48):17649-58.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3361134/pdf/nihms372691.pdf>
72. Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N et al. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 16(1):193-217.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4307243/pdf/ijms-16-00193.pdf>
73. Kruman II, Culmsee C, Chan SL, Kruman Y, Guo Z et al. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J Neurosci*. 2000; 20(18):6920-6.  
<http://www.jneurosci.org/content/20/18/6920.long>
74. Deng Q, Holler CJ, Taylor G, Hudson KF, Watkins W et al. FUS is phosphorylated by DNA-PK and accumulates in the cytoplasm after DNA damage. *J Neurosci* 2014; 34(23):7802-13.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4044245/pdf/zns7802.pdf>
75. Mao P, Reddy PH. Aging and amyloid beta-induced oxidative DNA damage and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: implications for early intervention and therapeutics. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812(11):1359-70.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3185172/pdf/nihms-319349.pdf>
76. Lovell MA, Gabbita SP, Markesbery WR. Increased DNA oxidation and decreased levels of repair products in Alzheimer's disease ventricular CSF. *J Neurochem* 1999; 72 (2):771-6.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-4159.1999.0720771.x/epdf>

77. Lovell MA, Soman S, Bradley MA. Oxidatively modified nucleic acids in preclinical Alzheimer's disease (PCAD) brain. *Mech. Ageing Dev* 2011; 132 (8-9):443–8.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3188850/pdf/nihms324374.pdf>

78. Shao C; Xiong S, Li GM, Gu L, Mao G et al. Altered 8-oxoguanine glycosylase in mild cognitive impairment and late-stage Alzheimer's disease brain. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(6):813–9.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2745061/pdf/nihms-105232.pdf>

79. Lyras L, Cairns NJ, Jenner A, Jenner P, Halliwell B. An assessment of oxidative damage to proteins: lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997; 68 (5):2061–9.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-4159.1997.68052061.x/epdf>

80. Tang MS, Wang HT, Hu Y, Chen WS, Akao M, et al. Acrolein induced DNA damage: mutagenicity and effect on DNA repair. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55 (9):1291–300.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4606864/pdf/nihms412670.pdf>

81. Hensley K, Carney JM, Mattson MP, Aksenova M, Harris M et al. A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(8):3270-4.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC43558/pdf/pnas01130-0401.pdf>

82. Butterfield DA, Swomley AM, Sultana R. Amyloid b-Peptide (1–42)-Induced Oxidative Stress in Alzheimer Disease: Importance in Disease Pathogenesis and Progression. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(8):823-35.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3749710/pdf/ars.2012.5027.pdf>

83. Suberbielle E, Sanchez PE, Kravitz AV, Wang X, Ho K et al. Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons: with exacerbation by amyloid-beta. *Nat Neurosci* 2013; 16(5):613–21.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3637871/pdf/nihms-446800.pdf>

84. Hegde ML, Gupta VB, Anitha M, Harikrishna T, Shankar SK et al. Studies on genomic DNA topology and stability in brain regions of Parkinson's disease. *Arch Biochem Biophys* 2006; 449(1-2):143–56.

[https://www.researchgate.net/publication/7179940\\_Studies\\_on\\_genomic\\_DNA\\_topology\\_and\\_stability\\_in\\_brain\\_regions\\_of\\_Parkinson%27s\\_disease](https://www.researchgate.net/publication/7179940_Studies_on_genomic_DNA_topology_and_stability_in_brain_regions_of_Parkinson%27s_disease)

85. Hegde ML. Rao KS. DNA induces folding in alpha-synuclein: understanding the mechanism using chaperone property of osmolytes. *Arch Biochem Biophys* 2007; 464 (1):57–69.

[https://www.researchgate.net/publication/6299494\\_DNA\\_induces\\_folding\\_in\\_alpha-synuclein\\_Understanding\\_the\\_mechanism\\_using\\_chaperone\\_property\\_of\\_osmolytes](https://www.researchgate.net/publication/6299494_DNA_induces_folding_in_alpha-synuclein_Understanding_the_mechanism_using_chaperone_property_of_osmolytes)

86. Luk KC, Lee VM. Modeling Lewy pathology propagation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2014; 20(Suppl 1):S85–7.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034060/pdf/nihms578875.pdf>

87. Zhang J, Perry G, Smith MA, Robertson D, Olson SJ et al. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol* 1999; 154(5):1423–9.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1866598/pdf/1710.pdf>

88. Martin LJ, Pan Y, Price AC, Sterling W, Copeland NG et al. Parkinson's disease alpha-synuclein transgenic mice develop neuronal mitochondrial degeneration and cell death. *J Neurosci* 2006; 26(1):41–50.

<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/26/1/41.full.pdf>

89. Hoang T, Choi DK, Nagai M, Wu DC, Nagata T et al. Neuronal NOS and cyclooxygenase-2 contribute to DNA damage in a mouse model of Parkinson disease. *Free Radic Biol Med* 2009; 47(7):1049–56.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3690578/pdf/nihms-133235.pdf>

90. Iwashita A, Yamazaki S, Mihara K, Hattori K, Yamamoto H et al. Neuroprotective effects of a novel poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor, 2-[3-[4-(4-chlorophenyl)-1-piperazinyl] propyl]-4(3H)-quinazolinone (FR255595), in an in vitro model of cell death and in mouse 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309(3):1067-78.

<http://jpet.aspetjournals.org/content/jpet/309/3/1067.full.pdf>

91. Weissman L, Jo DG, Sørensen MM, de Souza-Pinto NC, Markesbery WR et al. Defective DNA base excision repair in brain from individuals with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(16):5545–55.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2018628/pdf/gkm605.pdf>

92. Sykora P, Misiak M, Wang Y, Ghosh S, Leandro GS et al. DNA polymerase beta deficiency leads to neurodegeneration and exacerbates Alzheimer disease phenotypes. *Nucleic Acids Res* 2015; 43 (2):943–59.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4333403/pdf/gku1356.pdf>

93. Leon J, Sakumi K, Castillo E, Sheng Z, Oka S, Nakabeppu Y. 8-Oxoguanine accumulation in mitochondrial DNA causes mitochondrial dysfunction and impairs neuritogenesis in cultured adult mouse cortical neurons under oxidative conditions. *Sci Rep* 2016; 6:22086.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4766534/pdf/srep22086.pdf>

94. Copani A, Hoozemans JJ, Caraci F, Calafiore M, Van Haastert ES et al. DNA polymerase-beta is expressed early in neurons of Alzheimer's disease brain and is loaded into DNA replication forks in neurons challenged with beta-amyloid. *J Neurosci* 2006; 26(43):10949–57.

<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/26/43/10949.full.pdf>

95. Suberbielle E, Djukic B, Evans M, Kim DH, Taneja P et al. DNA repair factor BRCA1 depletion occurs in Alzheimer brains and impairs cognitive function in mice. *Nat Commun* 2015; 6:8897.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4674776/pdf/ncomms9897.pdf>

96. Hegde ML, Hegde PM, Holthauzen LM, Hazra TK, Rao KS, Mitra S. Specific Inhibition of NEIL-initiated repair of oxidized base damage in human genome by copper and iron: potential etiological linkage to neurodegenerative diseases.. *J Biol Chem* 2010; 285(37):28812–25.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937909/pdf/zbc28812.pdf>

97. Grin IR, Konorovsky PG, Nevinsky GA, Zharkov DO. Heavy metal ions affect the activity of DNA glycosylases of the fpg family. *Biochemistry (Mosc)* 2009; 74(11):1253–9.

[BA206C3FCFC64466409C25252201D25F?attachId=556c0119498ed6a5b1c7f1e7](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19498ed6a5b1c7f1e7/)

98. Jacob KD, Noren Hooten N, Tadokoro T, Lohani A, Barnes J, Evans MK. Alzheimer's disease-associated polymorphisms in human OGG1 alter catalytic activity and sensitize cells to DNA damage. *Free Radic Biol Med* 2013; 63:115–25.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3767440/pdf/nihms482197.pdf>

99. Hegde ML, Bharathi P, Suram A, Venugopal C, Jagannathan R, et al. Challenges associated with metal chelation therapy in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009; 17(3):457–68.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2931820/>

100. Winklhofer KF, Tatzelt J, Haass C. The two faces of protein misfolding: gain- and loss-of-function in neurodegenerative diseases. *EMBO J* 2008; 27(2):336–49.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2234348/pdf/7601930a.pdf>

101. Brettschneider J, Del Tredici K, Lee VM, Trojanowski JQ. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat Rev Neurosci* 2015;16(2):109-20.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4312418/pdf/nihms-655183.pdf>

102. LeBlanc A. Increased production of 4 kDa amyloid beta peptide in serum deprived human primary neuron cultures: possible involvement of apoptosis. *J Neurosci* 1995;15(12):7837-46.

<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/15/12/7837.full.pdf>

103. Loo DT, Copani A, Pike CJ, Whittemore ER, Walencewicz AJ, Cotman CW. Apoptosis is induced by beta-amyloid in cultured central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(17):7951–55.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC47265/pdf/pnas01474-0051.pdf>

104. Cardinale A, Racaniello M, Saladini S, De Chiara G, Mollinari C et al. Sublethal doses of beta-myloid peptide abrogate DNA-dependent protein kinase activity. *J Biol Chem* 2012; 287(4):2618–31.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3268421/pdf/zbc2618.pdf>

105. Majd S, Power JH, Grantham HJ. Neuronal response in Alzheimer's and Parkinson's disease: the effect of toxic proteins on intracellular pathways. *BMC Neurosci* 2015; 16: 69.

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4619058/pdf/12868\\_2015\\_Article\\_211.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4619058/pdf/12868_2015_Article_211.pdf)

106. Gupta VB, Monica FS, Berrocal R, Rao KS, Rao KS. Studies on the mechanism of the DNA nicking property of amyloid-beta40: implications in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2013; 33 (4):1059–71.

[https://www.researchgate.net/publication/233537381\\_Studies\\_on\\_the\\_Mechanism\\_of\\_the\\_DNA\\_Nicking\\_Property\\_Amyloid-b40\\_Implications\\_in\\_Alzheimer%27s\\_Disease](https://www.researchgate.net/publication/233537381_Studies_on_the_Mechanism_of_the_DNA_Nicking_Property_Amyloid-b40_Implications_in_Alzheimer%27s_Disease)

107. Chatterjee A, Saha S, Chakraborty A, Silva-Fernandes A, Mandal SM et al. The role of the mammalian DNA end-processing enzyme polynucleotide kinase 3'-phosphatase in spinocerebellar ataxia type 3 pathogenesis. *PLoS Genet* 2015; 11 (1):e1004749.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4310589/>

108. Gao R, Liu Y, Silva-Fernandes A, Fang X, Paulucci-Holthausen A et al. Inactivation of PNKP by mutant ATXN3 triggers apoptosis by activating the DNA damage-response pathway in SCA3. *PLoS Genet* 2015; 11(1):e1004834.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4295939/pdf/pgen.1004834.pdf>

109. Zhu X, Peng X, Guan MX, Yan Q. Pathogenic mutations of nuclear genes associated with mitochondrial disorders. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2009; 41(3):179-87.

[https://www.researchgate.net/publication/24195001\\_Pathogenic\\_mutations\\_of\\_nuclear\\_genes\\_associated\\_with\\_mitochondrial\\_disorders](https://www.researchgate.net/publication/24195001_Pathogenic_mutations_of_nuclear_genes_associated_with_mitochondrial_disorders)

110. Coskun PE, Beal MF, Wallace DC. Alzheimer's brains harbor somatic mtDNA control-region mutations that suppress mitochondrial transcription and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(29):10726-31.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC490002/pdf/10110726.pdf>

111. Sanders LH, McCoy J, Hu X, Mastroberardino PG, Dickinson BC et al. Mitochondrial DNA damage: molecular marker of vulnerable nigral neurons in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2014; 70:214-23.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4144978/pdf/nihms616829.pdf>

112. Nakabeppu Y, Tsuchimoto D, Yamaguchi H, Sakumi K. Oxidative damage in nucleic acids and Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 2007; 85(5):919–34.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.21191/full>



113. Martin LJ. Transgenic mice with human mutant genes causing Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis provide common insight into mechanisms of motor neuron selective vulnerability to degeneration. *Rev Neurosci* 2007; 18(2):115-36.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17593875>

114. Bender A, Desplats P, Spencer B, Rockenstein E, Adame A. et al. TOM40 mediates mitochondrial dysfunction induced by alpha-synuclein accumulation in Parkinson's disease. *PLoS One* 2013; 8(4):e62277.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3633917/pdf/pone.0062277.pdf>

115. Swarup V, Phaneuf D, Dupré N, Petri S, Strong M, Kriz J, Julien J. Deregulation of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis triggers nuclear factor kappaB-mediated pathogenic pathways. *J J Exp Med* 2011; 208(12):2429-47.

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3256969/pdf/JEM\\_20111313.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3256969/pdf/JEM_20111313.pdf)

116. Salvi JS, Mekhail K. R-loops highlight the nucleus in ALS. *Nucleus* 2015; 6(1):23–9.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4615755/pdf/knci-06-01-1004952.pdf>

117. Dobbin MM, Madabhushi R, Pan L, Chen Y, Kim D et al. SIRT1 collaborates with ATM and HDAC1 to maintain genomic stability in neurons. *Nat. Neurosci* 2013; 16(8):1008–15.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4758134/pdf/nihms751366.pdf>

118. Höglinger GU, Breunig JJ, Depboylu C, Rouaux C, Michel PP et al., 2007. The pRb/E2F cell-cycle pathway mediates cell death in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(9):3585–90.

<http://www.pnas.org/content/104/9/3585.full.pdf>

119. Ranganathan S, Scudiere S, Bowser. Hyperphosphorylation of the retinoblastoma gene product and altered subcellular distribution of E2F-1 during Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *J Alzheimers Dis* 2001; 3(4):377-85.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1868100/pdf/3521.pdf>

120. Konishi Y, Lehtinen M, Donovan N, Bonni A. Cdc2 phosphorylation of BAD links the cell cycle to the cell death machinery. *Mol. Cell* 2002; 9(5):1005–16.

[http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765\(02\)00524-5.pdf](http://www.cell.com/molecular-cell/pdf/S1097-2765(02)00524-5.pdf)

121. Kruman II, Wersto RP, Cardozo-Pelaez F, Smilenov L, Chan SI. Cell cycle activation linked to neuronal cell death initiated by DNA damage. *Neuron* 2004; 41(4):549–61.

[http://www.cell.com/neuron/pdf/S0896-6273\(04\)00017-0.pdf](http://www.cell.com/neuron/pdf/S0896-6273(04)00017-0.pdf)

122. Jakes R, Spillantini MG, Goedert M. Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett* 1994; 345:27–32.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/0014-5793%2894%2900395-5/pdf>

123. Serpell LC, Berriman J, Jakes R, Goedert M, Crowther RA. Fiber diffraction of synthetic alpha-synuclein filaments shows amyloid-like cross-beta conformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:4897–902.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC18329/pdf/pq004897.pdf>

124. Goedert M, Spillantini MG, Serpell LC, Berriman J, Smith MJ, et al. From genetics to pathology: tau and alpha-synuclein assemblies in neurodegenerative diseases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356(1406):213-27.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1088427/pdf/TB010213.pdf>

125. Dunker AK, Silman I, Uversky VN, Sussman JL. Function and structure of inherently disordered proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2008; 18(6):756-64.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2559873/pdf/1471-2164-9-S2-S1.pdf>

126. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M. Alphasynuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1998; 95:6469–73.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27806/pdf/pq006469.pdf>

127. Martins-Branco D, Esteves AR, Santos D, Arduino DM, Swerdlow RH et al. Ubiquitin proteasome system in Parkinson's disease: a keeper or a witness? *Exp. Neurol* 2012; 238:89–99.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4077023/pdf/nihms-602935.pdf>

128. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. Second of two parts. *N. Engl. J. Med* 1998; 339:1130–43.

<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199810153391607>

129. Lippa CF, Fujiwara H, Mann DM, Giasson B, Baba M et al. Lewy bodies contain altered alpha-synuclein in brains of many familial Alzheimer's disease patients with mutations in presenilin and amyloid precursor protein genes. *Am J Pathol* 1998; 153(5):1365-70.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1853391/pdf/1477.pdf>

130. Feany MB, Bender WW. A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature* 2000; 404:394–98.

<http://www.nature.com/nature/journal/v404/n6776/pdf/404394a0.pdf>

131. Rubin GM, Yandell MD, Wortman JR, Gabor Miklos GL, Nelson CR et al. Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 2000; 287(5461):2204-15.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2754258/pdf/nihms142596.pdf>

132. Harada T, Harada C, Wang YL, Osaka H, Amanai K et al. Role of ubiquitin carboxy terminal hydrolase-L1 in neural cell apoptosis induced by ischemic retinal injury in vivo. *Am J Pathol* 2004; 164:59–64.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1602242/pdf/JPATH164000059.pdf>

133. Chen P-C, Qin L-N, Li X-M, Walters BJ, Wilson JA, Mei L, Wilson SM. The proteasome-associated deubiquitinating enzyme Usp14 is essential for the maintenance of synaptic ubiquitin levels and the development of neuromuscular junctions. *J Neurosci* 2009; 29:10909–19.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2766780/pdf/nihms147974.pdf>

134. Hallengren J, Chen P-C, Wilson S. Neuronal ubiquitin homeostasis. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67:67–73.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758786/pdf/nihms482101.pdf>

135. Metcalfe MJ, Huang Q, Figueiredo-Pereira ME. Coordination between proteasome impairment and caspase activation leading to TAU pathology: neuroprotection by cAMP. *Cell Death Dis* 2012; 3:e326.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3388240/pdf/cddis201270a.pdf>

136. Lam YA, Pickart CM, Alban A, Landon M, Jamieson C et al. Inhibition of the ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:9902–6.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27620/pdf/pq009902.pdf>

137. Manczak M, Reddy PH. Abnormal interaction of oligomeric amyloid-beta with phosphorylated tau: implications to synaptic dysfunction and neuronal damage. *J Alzheimers Dis* 2013; 36(2):285-95.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3943249/pdf/nihms553409.pdf>

138. Guerrero-Muñoz MJ, Castillo-Carranza DL, Kaye R. Therapeutic approaches against common structural features of toxic oligomers shared by multiple amyloidogenic proteins. *Biochem Pharmacol* 2014; 88(4):468-78.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295213008071>

139. Kaye R, Lasagna-Reeves CA. Molecular mechanisms of amyloid oligomers toxicity. *J Alzheimers Dis* 2013; 33(Suppl 1):S67–78.

<http://content.iospress.com/download/journal-of-alzheimers-disease/jad129001?id=journal-of-alzheimers-disease%2Fjad129001>

140. Almeida CG, Takahashi RH, Gouras GK. Beta-Amyloid accumulation impairs multivesicular body sorting by inhibiting the ubiquitin-proteasome system. *J Neurosci* 2006; 26(16):4277-88.

<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/26/16/4277.full.pdf>

141. Hoshi M, Sato M, Matsumoto S, Noguchi A, Yasutake K, et al. Spherical aggregates of beta-amyloid (amylospheroid) show high neurotoxicity and

activate tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3beta. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(11):6370–5.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC164453/pdf/1006370.pdf>

142. Kopke E, Tung YC, Shaikh S, Alonso AC, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. J Biol Chem 1993; 268:24374–84.

<http://www.jbc.org/content/268/32/24374.long>

143. Keck S, Nitsch R, Grune T, Ullrich O. Proteasome inhibition by paired helical filament-tau in brains of patients with Alzheimer's disease. J Neurochem 2003; 85:115–22.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-4159.2003.01642.x/epdf>

144. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. Nat Med 2004; 10(Suppl):S10–7.

<https://www.nature.com/nm/journal/v10/n7s/pdf/nm1066.pdf>

145. Avila J. Tau aggregation into fibrillar polymers: taupathies. FEBS Lett 2000; 476:89–92.

[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0014-5793\(00\)01676-8/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0014-5793(00)01676-8/epdf)

146. Bretteville A, Planel E. Tau aggregates: toxic, inert, or protective species? J Alzheimers Dis 2008; 14(4):431-6.

<http://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad00872>

147. Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee VM. Evidence that non-fibrillar tau causes pathology linked to neurodegeneration and behavioral impairments. J. Alzheimer's Dis 2008; 14:393–399.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2789426/pdf/nihms160410.pdf>

148. Berger Z, Roder H, Hanna A, Carlson A, Rangachari V et al. Accumulation of pathological tau species and memory loss in a conditional model of tauopathy. J Neurosci 2007; 27(14):3650-62.

<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/27/14/3650.full.pdf>

149. Ubhi K, Rockenstein E, Doppler E, Mante M, Adame A et al. Neurofibrillary and neurodegenerative pathology in APP-transgenic mice injected with AAV2-mutant TAU: neuroprotective effects of Cerebrolysin. Acta Neuropathol 2009; 117:699–712.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3049872/pdf/nihms191502.pdf>

150. Gerson JE, Kaye R. Formation and propagation of tau oligomeric seeds. Front Neurol 2013; 4:93.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3713404/pdf/fneur-04-00093.pdf>

151. Walker LC, Diamond MI, Duff KE, Hyman BT. Mechanisms of protein seeding in neurodegenerative diseases. JAMA Neurol 2013; 70:304–10.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3665718/pdf/nihms445158.pdf>

152. Andorfer C, Kress Y, Espinoza M, de Silva R, Tucker KL et al. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J. Neurochem* 2003; 86:582–90.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-4159.2003.01879.x/epdf>
153. Davidowitz E, Chatterjee I, Moe J. Targeting tau oligomers for therapeutic development for Alzheimer's disease and tauopathies. *Curr. Topics Biol* 2008; 4:47–64.  
<http://oligomerix.com/wp-content/uploads/2015/06/Targeting-tau-oligomers-for-therapeutic-development-for-Alzheimers-disease-and-tauopathies.pdf>
154. Castillo-Carranza DL, Sengupta U, Guerrero-Muñoz MJ, Lasagna-Reeves CA, Gerson JE et al. Passive immunization with tau oligomer monoclonal antibody reverses tauopathy phenotypes without affecting hyperphosphorylated neurofibrillary tangles. *J Neurosci* 2014; 34:4260–72.  
<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/34/12/4260.full.pdf>
155. Holmes BB, Diamond MI. Prion-like properties of tau protein: the importance of extracellular tau as a therapeutic target. *J Biol Chem* 2014; 289:19855–61.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106306/pdf/zbc19855.pdf>
156. Rubinsztein DC, Codogno P, Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11(9):709-30.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3518431/pdf/nihms421100.pdf>
157. Lee BH, Lee MJ, Park S, Oh DC, Elsassner S et al. Enhancement of proteasome activity by a small-molecule inhibitor of USP14. *Nature* 2010; 467(7312):179-84.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2939003/pdf/nihms214959.pdf>
158. Saibil H. Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14(10):630-42.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4340576/pdf/emss-61973.pdf>
159. Ciechanover A, Kwon YT. Protein Quality Control by Molecular Chaperones in Neurodegeneration. *Front Neurosci* 2017; 11:185.
160. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 2004; 10(Suppl):S10–7.  
<https://www.nature.com/nm/journal/v10/n7s/pdf/nm1066.pdf>
161. Genadieva Stavric S, Bonello F, Bringham S, Boccadoro M, Larocca A. How is patient care for multiple myeloma advancing? *Expert Rev Hematol* 2017; 19:1-11.  
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17474086.2017.1326814?scroll=top&needAccess=true>

162. Field-Smith A, Morgan GJ, Davies FE. Bortezomib (Velcade<sup>®</sup>) in the treatment of multiple myeloma. *Ther Clin Risk Manag* 2006; 2(3):271-9.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1936263/pdf/tcrm0203-271.pdf>
163. Scheibe F, Prüss H, Mengel AM, Kohler S, Nümann A et al. Bortezomib for treatment of therapy-refractory anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. 2017; 88(4):366-70.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28003505>
164. Chen Y, Li YJ. Bicyclic and tricyclic inhibitors of sumoylation enzymes and methods for their use. Google Patents 2012. WO2012064897 A2.  
<https://www.google.com/patents/WO2012064897A2?cl=en>
165. Wu MF, Yin JH, Hwang CS, Tang CM, Yang DI. NAD attenuates oxidative DNA damages induced by amyloidbeta-peptide in primary rat cortical neurons. *Free Radic Res* 2014; 48(7):794-805.  
<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/10715762.2014.907889>
166. Enokido Y, Tamura T, Ito H, Arumughan A, Komuro A et al. Mutant huntingtin impairs ku70-mediated DNA repair. *J Cell Biol*. 2010; 189(3):425-43.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867301/>
167. Tamura T, Sone M, Iwatsubo T, Tagawa K, Wanker EE, Okazawa H. Ku70 alleviates neurodegeneration in Drosophila models of Huntington's disease. *PLoS One* 2011; 6 (11):e27408.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210167/pdf/pone.0027408.pdf>
168. Martin LJ, Wong M. Enforced DNA repair enzymes rescue neurons from apoptosis induced by target deprivation and axotomy in mouse models of neurodegeneration. *Mech Ageing Dev* 2017; 161(Pt A):149-162.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0047637416300987>
169. Jung ES, Choi H, Song H, Hwang YJ, Kim A et al. p53-dependent SIRT6 expression protects A $\beta$ 42-induced DNA damage. *Sci Rep* 2016; 6:25628.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4860716/pdf/srep25628.pdf>
170. Druzhyna NM, Hollensworth SB, Kelley MR, Wilson GL, Ledoux SP. Targeting human 8-oxoguanine glycosylase to mitochondria of oligodendrocytes protects against menadione-induced oxidative stress. *Glia*. 2003; 42(4):370-8.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/glia.10230/pdf>