

La proteína tau en enfermedades neurodegenerativas. Taupatías

M.P. Sánchez, V. Álvarez-Tallada, J. Ávila

THE MICROTUBULE ASSOCIATED PROTEIN TAU IN NEURODEGENERATIVE DISEASES. TAUOPATHIES

Summary. Introduction. Microtubules are the essential components of the cytoskeleton, they are responsible for the formation and maintenance of the neuronal morphology and their specific connections. The microtubule associated proteins (MAPs) contribute to regulate the dynamism and stability of the microtubules, and therefore they are essential to maintain the correct function of the microtubules. Among them, tau is a protein that seems to be crucial in stabilizing the neuronal polarity. Development. In this paper, factors affecting the affinity of tau to bind microtubules are reviewed, giving special attention to the processes that take place in the neurodegenerative diseases that present neurofibrillary tangles (NFTs), aggregates composed of modified tau in form of paired helical filaments (PHFs). One of the most important tau modification in this aberrant aggregates is the hyperphosphorylation. Thus, kinases and phosphatases responsible for tau modification could be altered in certain pathologies, leading to a decrease in the affinity of tau to bind microtubules and carrying out its self-assembling and aberrant aggregation in the neurons of the affected nervous system regions. Those pathologies presenting a tau dysfunction are known as tauopathies. [REV NEUROL 2001; 33: 169-77]

Key words. Alzheimer disease. Hyperphosphorylation. Microtubule associated protein. Neurofibrillary tangles. Paired helical filaments. Self-assembling.

INTRODUCCIÓN

El citoesqueleto es la estructura celular responsable de la morfología neuronal. Los microtúbulos son componentes esenciales del citoesqueleto y tienen una gran importancia en la formación de axones y dendritas y de sus contactos específicos. Entre otros factores, la estabilidad y el dinamismo del ensamblaje de los microtúbulos lo facilitan las proteínas asociadas a microtúbulos (MAP). La proteína tau es una de estas MAP y participa en el ciclo de asociación-disociación de los microtúbulos ayudando a conferir dinamismo a los mismos. De hecho, la proteína tau se purifica de ciclos de polimerización-despolimerización de los microtúbulos *in vitro* [1,2]. En geles de electroforesis, la proteína tau aparece como una serie de diferentes polipéptidos [3-5] (Fig. 1). Estas diferentes isoformas se generan por procesamiento alternativo de un solo ARN [6-16] o por diferentes niveles de fosforilación [5]. El ARN de tau se traduce desde el gen de tau localizado en el cromosoma 17 [17], un gen que al menos contiene 16 exones [18]. El gen contiene una región 5', que no se traduce, rica en GC, y que se ha descrito como una región de unión para diferentes factores de transcripción [19]. Recientemente, se ha descrito próximo a esta región un promotor que confiere especificidad neuronal al gen de tau [20].

La expresión de las diferentes isoformas de tau por procesamiento alternativo varía en los diversos organismos, depende del estado de desarrollo de los mismos y, además, es diferente según la localización en el sistema nervioso. De esta manera, las isoformas de tau que se encuentran en el sistema nervioso periférico (SNP) no se expresan en el sistema nervioso central (SNC) [14-16,21-25] (Fig. 1).

La molécula de tau

Las isoformas de tau que se encuentran en el SNC se han estudiado más extensamente. En la molécula de tau se han identificado cuatro diferentes regiones: 1. La región aminoterminal; 2. La región rica en prolinas; 3. La región de unión a tubulina (a microtúbulos), y 4. La región carboxiterminal.

La región aminoterminal contiene secuencias ácidas y su tamaño es variable, ya que contiene exones adicionales: los exones 2 y 3, y el exón 4a, que sólo está presente en la molécula de tau del SNP. La región ácida de la molécula de tau podría implicarse en la unión de cationes, para lo cual se ha propuesto un posible motivo como sitio de unión a metales [26] (Fig. 2). Esta región aminoterminal también contiene un motivo con la secuencia KKXX, que se ha propuesto como un posible sitio de unión a heparina [27]. Como se ha indicado previamente, los exones 2 y 3 no están presentes en todas las isoformas de tau. De hecho, estos exones sólo se transcriben en las isoformas alternativas de tau en tejido nervioso adulto [6-10]. El exón 4a, que está en tau del SNP, parece evitar la autoagregación de tau [28].

La región rica en prolinas contiene una gran cantidad de residuos que son potencialmente capaces de fosforilarse, algunos de ellos seguidos de un residuo de prolina y otros dentro de los motivos PPXXP o PXXP, secuencias relacionadas con las interacciones de tau y proteínas con dominios SH3. Esta región rica en prolinas parece que desempeña un papel importante en la actividad de tau para unir microtúbulos [29,30].

La región de unión a microtúbulos contiene tres o cuatro copias de una repetición de 31-32 residuos similares –pero no idénticos– [6-8,14-16]. Estas repeticiones se componen de una secuencia altamente conservada de 18 residuos aminoácidos –‘repetición’ propiamente dicha– y de una secuencia menos conservada de 13-14 residuos, conocida como la región ‘interrepeticiones’. Una de estas repeticiones de unión a tubulina –la segunda, Fig. 1– sólo se expresa en el cerebro adulto [11-13,31,32]. En esta región de unión a microtúbulos se ha sugerido la presencia de un sitio adicional de unión a heparina [27] y se ha identificado un motivo presente en la proteína serpina. Se ha sugerido que la proteína tau presenta una estructura plegada al azar [3,4], con una forma terciaria no globular [33]. Sin embargo, se

Recibido: 15.01.01. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 12.06.01. Centro de Biología Molecular. CSIC. Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco, Madrid, España.

Correspondencia: Dr. Jesús Ávila. Centro de Biología Molecular. CSIC. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. E-28040 Cantoblanco, Madrid. Fax: +34 91397 4499. E-mail: javila@cbm.uam.es Código del Manual de Neurociencias: 36.10.2 (Degeneración y regeneración del sistema nervioso, apartado Enfermedad de Alzheimer).

© 2001, REVISTA DE NEUROLOGÍA

ha propuesto la existencia de una región con posible estructura en β lámina en la región de unión a microtúbulos [34].

Finalmente, la región carboxiterminal de la proteína tau también presenta una región rica en prolinas que pueden fosforilarse y una región ácida hacia la zona carboxiterminal. Además, la región C-terminal contiene un motivo similar al que aparece en la subunidad β de la piruvato deshidrogenasa (VVSPWNS).

Modificaciones de la proteína tau

Como se ha indicado anteriormente, algunas cinasas y fosfatasa modulan el grado y patrón de fosforilación de la molécula de tau. Desde el trabajo pionero de Grundke-Iqbal et al en 1986 [35], se ha aceptado ampliamente que tau es una fosfoproteína que puede modificarse por muchas proteínas cinasas, como las proteínas cinasas dirigidas a prolinas (PDPK), entre ellas GSK3 y cdk5 – también conocidas como tau cinasa I y II– [36], o como las proteínas cinasas no dirigidas a prolinas, como por ejemplo PKA [37,38], MARK cinasa [39] o PKC [40] (Fig. 3). También se han sugerido modificaciones de tau por MAP cinasas [41]. La fosforilación por PDPK tiene lugar principalmente en la región rica en prolinas y en la región C-terminal (Fig. 3), mientras que las modificaciones por no PDPK ocurren en la región de unión a microtúbulos. Las fosforilaciones por otras proteínas cinasas, como la caseína cinasa II (CKII) tienen lugar en la región N-terminal [40,42] (Fig. 3).

Modificaciones de tau por algunas de estas proteínas cinasas, como GSK3, PKA o MARK, disminuyen la afinidad de tau por los microtúbulos [39,43-48]. Además, la fosforilación por PDPK puede favorecer la dimerización de tau [5,49].

En resumen, la fosforilación de tau en diferentes regiones puede afectar no sólo su interacción con los microtúbulos, sino también su capacidad para agregarse o interactuar con otras proteínas (Figs. 2 y 3).

Proteínas que interaccionan con tau

Además de la tubulina, existen otras proteínas a las que puede unirse tau, como la espectrina [50] y la proteína fosfatasa 1 (PP1) [51]. Además, se han descrito otras proteínas que interaccionan con tau y se unen a la región de unión a microtúbulos. Entre ellas, se encuentran la proteína fosfatasa 2A (PP2A) [52], la proteína cinasa cdk5 [53], la presenilina 1 [54] o la α -sinucleína [55] (Fig. 2). También se han descrito una serie de proteínas que interaccionan con tau a través de la región rica en prolinas. Entre ellas están la fosfolipasa C- γ (PLC- γ) [56], que presenta un dominio SH3 por el que podría unirse al motivo PPXXP de tau [57], la proteína fyn, una tirosina cinasa que también contiene un dominio SH3 [58,59], y la actina [60]. Estas últimas proteínas, al interaccionar con tau, podrían facilitar la unión de tau a la membrana (Fig. 2). Además, en experimentos preliminares de doble híbrido se han encontrado otras proteínas asociadas a membranas que pueden unirse a tau a través de la región rica en prolinas (Hoenicka et al, en preparación).

Recientemente se ha visto que la chaperona protil isomerasa-1 (PIN-1), que se une a fosfoproteínas que contienen fosfoserina o treonina seguidas por prolina, se une a tau fosforilado a través de su región rica en prolinas, aumentando su afinidad para unirse a microtúbulos [61] (Fig. 2).

Localización subcelular de la proteína tau

Como podría esperarse, ya que tau es una proteína asociada a microtúbulos, su localización subcelular es citoplasmática. Sin embargo, también se ha observado que la proteína tau podría unirse

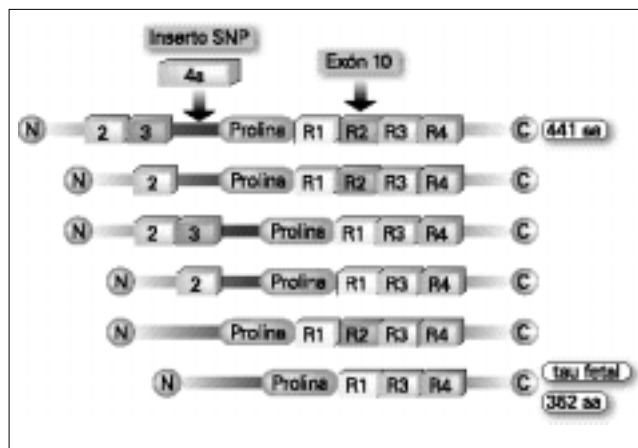


Figura 1. Esquema de las diferentes isoformas de tau producidas por procesamiento alternativo del gen de tau localizado en el cromosoma 17. La única isoforma de tau que se expresa en periodos tempranos del desarrollo es la molécula de 351 aminoácidos, con tres repeticiones y sin insertos en la región N-terminal. Las otras isoformas van apareciendo durante el desarrollo del sistema nervioso, y la más grande, la que contiene el producto del exón 4a, sólo se expresa en el sistema nervioso periférico.

a la membrana plasmática a través de la mitad N-terminal de la molécula [62] y que la fosforilación de tau en la región rica en prolinas podría prevenir dicha asociación [63]. Esta asociación podría tener lugar a lo largo de la membrana plasmática axonal y, particularmente, en los conos de crecimiento [64].

Además, se ha observado una reacción del anticuerpo tau-1 con un antígeno nuclear [65,66], aunque la posibilidad de que tau tenga alguna función en el núcleo requiere más estudios.

En neuronas maduras, tau está principalmente presente en el axón [67,68], aunque también se encuentra una pequeña cantidad de tau en compartimentos somatodendríticos [69]. Como se indicó anteriormente, parte de la proteína tau podría unirse a microtúbulos y otra parte podría estar asociada a la membrana celular.

Función de tau

La búsqueda de diferentes factores que afectan el ensamblaje de los microtúbulos ha llevado al descubrimiento de que tau es una importante proteína asociada a microtúbulos [1,2]. De hecho, se ha visto que tau promueve la polimerización de los microtúbulos *in vitro* [2,70,71] y puede suprimir la dinámica de los microtúbulos estabilizando el ensamblaje de los mismos [72]. Utilizando técnicas de cultivos celulares se ha visto que tau está implicada en la estabilización de los microtúbulos y en la neuritogénesis [73,74], observaciones que se han demostrado con experimentos de oligos 'antisentido', que inhibieron la polarización neurítica en cultivos primarios de células [75]. Sin embargo, en contraposición con los resultados citados anteriormente, el ratón deficiente para la expresión de tau generado por *gene targeting* es viable y no muestra un fenotipo muy diferente del ratón salvaje que expresa tau [76]. Para explicar esta aparente paradoja se ha propuesto que otras proteínas asociadas a microtúbulos, como MAP1A, estarían sobreexpresadas en el ratón deficiente para tau, como un fenómeno compensatorio en el desarrollo [76].

TAU EN PROCESOS PATOLÓGICOS

La proteína tau forma agregados aberrantes en algunas enfermedades neurodegenerativas, como en la enfermedad de Alzheimer

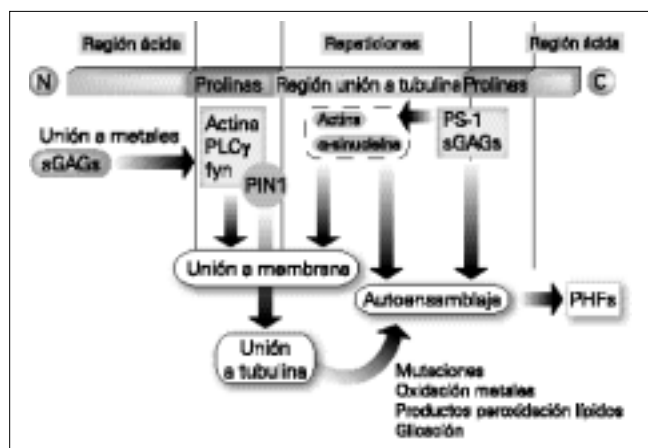


Figura 2. Proteínas que interactúan a través de las diferentes regiones de la molécula de tau, modificando la afinidad de tau por la membrana celular, los microtúbulos y, probablemente, facilitando la agregación de tau en PHF.

(EA) y en un grupo recientemente descrito de enfermedades, conocido como taupatías. En el sistema nervioso de pacientes con EA hay dos estructuras patológicas importantes, las placas seniles y los ovillos neurofibrilares [77-81]. La proteína responsable de la formación de las placas seniles es la proteína precursora del amiloide (APP), un fragmento de la cual, el péptido β -amiloide, es neurotóxico y tiende a agregarse en estructuras formadas por β lámina. Por otro lado, los ovillos neurofibrilares (NFT) se componen de filamentos helicoidales apareados (PHF) [82], siendo los PHF polímeros de tau en una forma modificada [83-92]. La presencia de ovillos neurofibrilares se ha correlacionado con el grado de demencia [93,94]. Así, una patología de la proteína tau parece central en este proceso. Un anticuerpo monoclonal contra tau, el 6.423, se ha utilizado ampliamente para reconocer los fragmentos de tau que formaban la armazón de los PHF en los cerebros de EA [91,92], mientras que el anticuerpo Alz 50 [95] se ha visto recientemente que reconoce una conformación característica de la proteína tau [96]. Estos cambios conformacionales tempranos en la estructura de tau, como alteraciones tempranas en la neuropatología de EA, se han confirmado en un estudio reciente [97]. Parece ser que la conformación que adopta la proteína tau tempranamente y su posterior agregación formando los PHF y NFT podría ser secuencial en diferentes estructuras del cerebro. En este sentido, Braak y Braak han demostrado cómo ocurre la sucesiva acumulación de NFT en el cerebro de EA [98]: esta acumulación de NFT sucede de una forma ordenada, con seis estados de evolución en la destrucción de la corteza cerebral, comenzando por la corteza transentorrinal y entorrinal, hasta llegar a la isocorteza, al tiempo que avanzan los síntomas neurológicos del paciente [98].

En EA, la patología de tau se ha correlacionado con la fosforilación de la proteína, la pérdida de capacidad de unión a microtúbulos y la formación de NFT [99]; por ello, todos estos aspectos se han estudiado ampliamente. En cerebros *post mortem* con EA se ha visto que la fosforilación de tau se incrementa principalmente –aunque no exclusivamente– por algunas proteínas cinasas dirigidas por prolinas (PDPK) como por ejemplo la GSK3 [100] y por otras no dirigidas por prolinas, como la proteína cinasa A (PKA). En consecuencia, este tipo de modificaciones se han estudiado muy extensamente [101]. Más recientemente, se ha hecho un gran esfuerzo en estudiar la regulación de estas cinasas (como GSK3 y PKA) y de las fosfatasa (como PP2A), que defosforilan

los fosfatos modificados por estas cinasas, ya que el equilibrio de estas proteínas puede estar afectando al nivel final de fosforilación de tau (Fig. 3). Así, se han encontrado factores implicados en la regulación de la fosforilación de tau por GSK3, como wnt [102,103], insulina o IGF1 [104]. En este sentido, se ha visto que la aplicación de inhibidores específicos de la GSK3, como el litio, tienen un impacto en el patrón de fosforilación de tau en células de neuroblastoma [105]. Se ha descrito una regulación de la fosforilación de tau por las PDPK a través de la activación de receptores muscarínicos de acetilcolina en células PC12 [106,107]. También se ha discutido un posible efecto de un aumento de cAMP en la regulación de la fosforilación de tau en sitios fosforilables por PDPK [108]. Sin embargo, recientemente se ha indicado que la PKA podría inhibir la actividad de GSK3 [109]. Así, es difícil entender cómo se pueden tener moléculas de tau hiperfosforiladas en ambos sitios de fosforilación por GSK3 y PKA, simultáneamente; pero este hecho necesita analizarse con detenimiento.

Un resultado de la fosforilación de tau en diferentes residuos es el cambio conformacional que ocurre en la molécula; este cambio puede revertirse en presencia de N-oxi-trimetilamina (TMAO), un cristal natural [96,110,111]. Tau fosforilada por GSK3 en presencia de TMAO puede promover el ensamblaje de la tubulina [112]. Además, una reversión en la conformación de tau fosforilado se ha observado en presencia de la proteína chaperona Pin-1 [61], una molécula que se une al motivo fosfotreonina-prolina y que parece que facilita la acción posterior de PP2A sobre esa fosfotreonina (Fig. 3), implicando que factores que facilitan la defosforilación de tau pueden tener una utilidad terapéutica [113].

El nivel de fosforilación de tau debe estar, obviamente, también regulado por fosfatasa. De hecho, se ha indicado que la PP2A es la enzima mayoritaria en el cerebro que defosforila tau en los sitios fosforilados por PDPKs o PKA [114-118]. Así, la regulación de las fosfatasa está convirtiéndose en un tema de gran interés en la biología de tau. Recientemente se ha visto que la función de PP2A parece modificarse por su carboximetilación [119] (Fig. 3). Por otro lado, el intervalo de acción de la PP2A parece ser más amplio de lo que se esperaba inicialmente, ya que hay indicaciones de que también actúa sobre GSK3 fosforilada [120].

La hiperfosforilación de tau parece afectar a la estructura y función de esta molécula por diferentes motivos. Así, la hiperfosforilación de residuos de tau se ha visto que aumenta la resistencia a proteólisis [121,122]. Además, los cambios en el estado de fosforilación de tau no ocurren sólo en EA, sino que también aparecen en otro grupo de enfermedades, conocidas como taupatías, también como resultado de isquemia cerebral [123], apoptosis [124] o estrés celular [125].

Adicionalmente, algunas de las cinasas implicadas en la fosforilación de tau, como la GSK3, podrían afectar algunos elementos relacionados con la degradación por el proteasoma [126] y el efecto producido al no poder degradarse tau normalmente [127].

Otro factor de la patología de tau en EA es el descenso en su unión a microtúbulos, afectando así la estabilización del citoesqueleto microtubular [128]. En este sentido, el trabajo de Alonso et al [129] indicando que la proteína tau anormalmente fosforilada podría secuestrar otras MAP es de gran importancia, ya que este hecho podría facilitar la ruptura de la red de microtúbulos. Este posible cambio en la organización microtubular podría afectar, asimismo, otras estructuras subcelulares tales como la mitocondria [130] o los lisosomas [131]. Alteraciones de estos orgánulos celulares podrían promover una patología adicional de tau [132]. Una implicación de los lisosomas en la neuropatología de tau

podría ser relevante, ya que hay modificaciones en estos orgánulos que parecen preceder a la neuropatología típica de EA [131]. Por último, también se ha visto que la fosforilación de tau puede afectar al transporte axonal [133].

POLIMERIZACIÓN DE TAU *IN VITRO*

Se ha estudiado la polimerización de tau en estructuras fibrilares en experimentos *in vitro*. En 1986, Montejo de Garcini et al describieron cómo la proteína tau podía purificarse de cerebros afectados y polimerizar en filamentos, y que ciertas modificaciones moleculares, como la deaminación, podría facilitar el ensamblaje de tau [134,135]. La capacidad de tau para ensamblarse *in vitro* lo confirmó más tarde el mismo grupo [136,137] y otros investigadores usando tau recombinante [138, 139]. Más tarde, se observó que la deaminación y formación de isoaspartato ocurre en el tau que forma los PHF [140].

Para que tau polimerice es necesaria una alta cantidad de proteína. Por ello, se ha hecho un gran esfuerzo en la búsqueda de factores que favoreciesen la polimerización. Entre estos factores, los sulfoglicosaminoglicanos (sGAG), presentes en los ovillos neurofibrilares [141], se han ensayado usando tau recombinante. Estas moléculas aumentan la facilidad de ensamblaje de tau *in vitro* [142] (Pérez et al, 2001, Biochemistry, en prensa). Además, este resultado se ha confirmado utilizando formas fosforiladas de tau como sustrato [143,144]. Más tarde, se encontraron otros polianiones que también podían facilitar la polimerización de tau [145]. Además, se ha visto que los sGAG y otros polianiones, como el péptido rico en glutamato, que se encuentra en la región C-terminal de la tubulina, pueden aumentar la fosforilación de tau por GSK3 [146,147]. Esta fosforilación podría producir un cambio conformacional de tau, quizá necesario para la agregación de la proteína.

Estudios de polimerización de tau inducida por sGAG han indicado que la región más pequeña necesaria para que tau pueda agregarse está presente en el motivo tercero de unión a tubulina [142]. Esta región es diferente de la que se involucra principalmente en la unión a tubulina, localizada en los dos primeros motivos de unión [99]. Además, también se ha observado que los sGAG inducen una cierta helicidad a los PHF [27]. Finalmente, las mutaciones de tau presentes en la FTDP17 (ver más adelante) pueden favorecer la agregación de tau en presencia de sGAG [148].

Existen otros factores que pueden contribuir aparentemente al ensamblaje de tau, como aquellos procesos de oxidación con implicación de metales [149]. En este sentido, se ha sugerido que la ferritina podría ser una fuente de hierro para una reacción redox que diera lugar al ensamblaje de tau en PSP [26], una taupatía bien establecida. Los ácidos grasos también inducen la polimerización de tau en modelos *in vitro* [150-152]. Otras modificaciones, como proteólisis de tau [130,153], se han sugerido que también pueden facilitar el ensamblaje de tau. De hecho, la armazón de los PHF

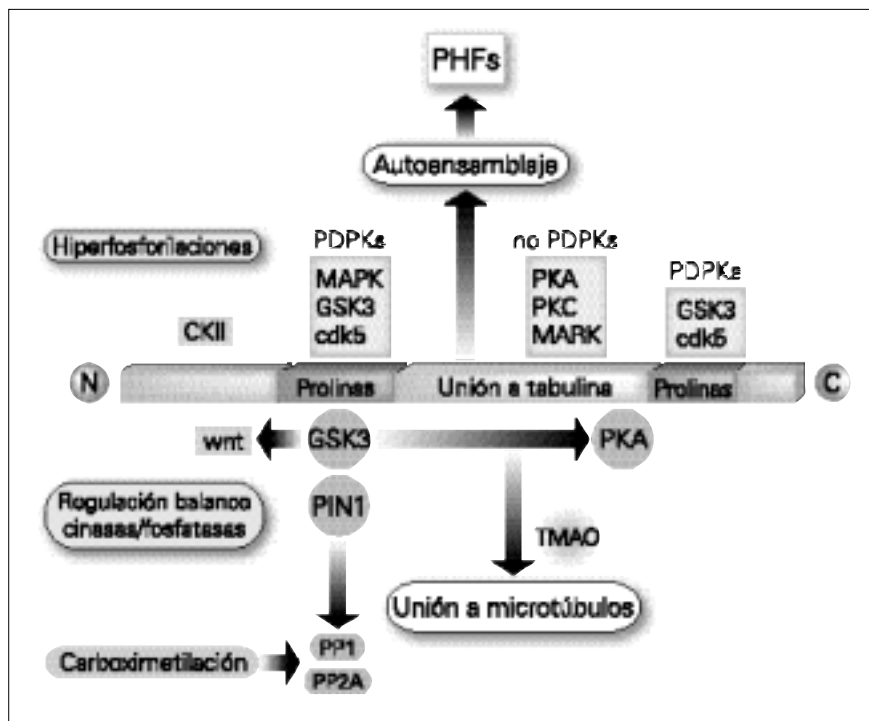


Figura 3. Modificaciones de la proteína tau por cinasas y fosfatases, y su posible relación con la correcta unión de tau a microtúbulos o la formación de agregados en forma de PHF.

podría constituirse por formas truncadas de tau [92]. También se ha visto que modificaciones de tau como la glicación favorecen la agregación de tau en PHF y NFT [154,155] (Fig. 2).

Muy recientemente, se ha conseguido correlacionar los cambios que se producen en el tau de cerebros con EA, fosforilación y agregación, al observarse que tau altamente fosforilado, pero no tau sin modificar, puede ensamblarse a muy bajas concentraciones en presencia de hidroxinonal, un producto natural resultante de la peroxidación lipídica [156].

En resumen, en la figura 2 se indica un posible mecanismo de ensamblaje de tau en NFT.

TAUPATÍAS

Se sabe, desde hace algún tiempo, que los NFT son un factor prominente de la neuropatología del SNC en un grupo de enfermedades, aparte de la EA. Más recientemente, se ha visto que en todas ellas tau está presente en estos NFT, en una forma de agregados y con un alto nivel de fosforilación. Estas enfermedades se conocen actualmente como taupatías. Entre las taupatías se encuentran la parálisis supranuclear progresiva (PSP), la enfermedad de Pick (PiD), la degeneración corticobasal (CBD) y la demencia frontotemporal con parkinsonismo unida al cromosoma 17 (FTDP17). Para una descripción más exhaustiva de estas taupatías y su base genética véanse Spillantini y Goedert (1998) [157] y Smith et al (2000) [158]. Las taupatías muestran diferencias en sus factores moleculares y patológicos; entre estos factores, se encuentran las distintas características de los filamentos ensamblados, las isoformas de tau que componen los filamentos y las regiones del SNC que se afectan [159].

Una de las taupatías más estudiadas ha sido la demencia frontotemporal con parkinsonismo unida al cromosoma 17 (FTDP17), ya que en esta enfermedad se observa una correlación de la pato-

logía con mutaciones en el gen de tau. Así, se han descrito mutaciones en este gen tanto en regiones intrónicas como exónicas [157,160-164]. Las mutaciones que afectan a exones están presentes preferentemente en la región de unión a microtúbulos, interfiriendo esta interacción [165,166] en los sitios de unión de la PP2A a la proteína tau [167,168] y en regiones de autoensamblaje de la proteína tau [142].

MODELOS ANIMALES

Se han desarrollado diferentes modelos de ratones transgénicos para intentar reproducir los aspectos de la patología de tau que se encuentra en EA y otras taupatías. Cuando las isoformas más larga y más corta de tau se sobreexpresan en ratón se produce una patología de tau anterior a la formación de los NFT [169,170]. Los agregados de tau se observaron principalmente en neuronas con axones largos, como las motoneuronas [171], posiblemente debido a problemas relacionados con el transporte axonal. Otra patología relacionada con las taupatías se ha observado recientemente en un ratón sobreexpresando la GSK3, en un modelo de expresión condicional del transgen [172]. Así, en los casos citados no se encontraron filamentos tipo PHF de EA. Sin embargo, más recientemente se han generado ratones transgénicos sobreexpresando isoformas de tau con diferentes mutaciones, que están presentes en la FTDP17, y se han podido observar agregados de tau en forma de filamentos [173,174]. Además, se han observado filamentos de tau en un ratón transgénico que sobreexpresa una isoforma de tau con las tres mutaciones (G/V, P/L, R/W) presentes en la FTDP17 (Lim et al, en preparación). Dos de estas mutaciones (G/V y P/L) afectan a la región de unión a microtúbulos y la tercera (R/W) se localiza en la región C-terminal, afectando a la fosforilación en este lugar [28]. En este modelo, la patología se presenta afectando las cortezas frontal y temporal, lugares que se afectan con patología de tau en EA [175,176].

Estos modelos animales pueden tener un gran valor para ensayar terapias experimentales. Además, si se generan otros modelos animales en otras especies con test de comportamiento más

evolucionados como la rata, se podrá obtener una gran información para posibles tratamientos terapéuticos. Adicionalmente, el uso de ratones que expresen condicionalmente un transgen, dando lugar a una patología, puede ayudar a buscar compuestos terapéuticos, ya que si en las condiciones de reversión de la expresión se produce una reversión de la patología, podrían existir fármacos que igualmente reverterían dicha patología.

CONCLUSIONES

Aunque tau es aparentemente una proteína asociada a microtúbulos no indispensable para el correcto funcionamiento y desarrollo del sistema nervioso, su presencia en el SNC de forma modificada puede tener unos efectos patológicos importantes en las neuronas. Los efectos tóxicos de tau parecen deberse a las modificaciones que se producen en la misma. Así, los factores implicados en las modificaciones de tau pueden promover una patología de tau. En consecuencia, factores que regulan las tau cinasas o fosfatasa pueden producir la agregación de tau y el secuestro de otras MAP, con el resultado de la desorganización de la red de microtúbulos, de formación de PHF y, finalmente, de NFT.

Se piensa que la agregación de tau puede producir los efectos tóxicos que conducirían a la neurodegeneración. En este proceso, factores como los sGAG podrían estar implicados. Sin embargo no se conoce la posible relevancia fisiológica de los sGAG en la inducción de la polimerización de tau. También se ha sugerido que tau podría proteolizarse por diferentes enzimas, fundamentalmente lisosomales; si tal interacción entre tau y los compartimentos lisosomales se confirmara, podría encontrarse un significado a la polimerización de tau inducida por los sGAG, dado que durante su metabolismo estas moléculas se pueden localizar en los lisosomas. Finalmente, parece bastante claro que el tau en forma fosforilada, pero no la proteína sin modificar, puede ensamblarse en presencia de los productos de la peroxidación de lípidos. Por lo tanto, el estrés oxidativo puede influir en la toxicidad de tau, facilitando la agregación patológica de la proteína.

BIBLIOGRAFÍA

- Fellous A, Francon J, Lennon AM, Núñez J. Microtubule assembly in vitro. Purification of assembly-promoting factors. *Eur J Biochem* 1977; 78: 167-74.
- Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 1858-62.
- Cleveland DW, Hwo SY, Kirschner MW. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *J Mol Biol* 1977; 116: 207-25.
- Cleveland DW, Hwo SY, Kirschner MW. Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *J Mol Biol* 1977; 116: 227-47.
- García de Ancos J, Correas I, Ávila J. Differences in microtubule binding and self-association abilities of bovine brain tau isoforms. *J Biol Chem* 1993; 268: 7976-82.
- Goedert M, Crowther RA. Amyloid plaques, neurofibrillary tangles and their relevance for the study of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1989; 10: 405-6.
- Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 1989; 3: 519-26.
- Goedert M, Spillantini MG, Potier MC, Ulrich J, Crowther RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J* 1989; 8: 393-9.
- Himmler A. Structure of the bovine tau gene: alternatively spliced transcripts generate a protein family. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 1389-96.
- Himmler A, Drechsel D, Kirschner MW, Martin DJ. Tau consists of a set of proteins with repeated C-terminal microtubule-binding domains and variable N-terminal domains. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 1381-8.
- Kosik KS, Orecchio LD, Bakalis S, Neve RL. Developmentally regulated expression of specific tau sequences. *Neuron* 1989; 2: 1389-97.
- Kosik KS, Kowall NW, McKee A. Along the way to a neurofibrillary tangle: a look at the structure of tau. *Ann Med* 1989; 21: 109-12.
- Kosik KS. The molecular and cellular pathology of Alzheimer neurofibrillary lesions. *J Gerontol* 1989; 44: 55-8.
- Lee G, Cowan N, Kirschner M. The primary structure and heterogeneity of tau protein from mouse brain. *Science* 1988; 239: 285-8.
- Lee VM, Otvos LJ, Schmidt ML, Trojanowski JQ. Alzheimer disease tangles share immunological similarities with multiphosphorylation repeats in the two large neurofilament proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 7384-8.
- Lee VM, Otvos LJ, Carden MJ, Hollosi M, Dietzschold B, Lazzarini RA. Identification of the major multiphosphorylation site in mammalian neurofilaments. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 1998-2002.
- Neve RL, Harris P, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon TA. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Brain Res* 1986; 387: 271-80.
- Andreadis A, Brown WM, Kosik KS. Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry* 1992; 31: 10626-33.
- Andreadis A, Wagner BK, Broderick JA, Kosik KS. A tau promoter region without neuronal specificity. *J Neurochem* 1996; 66: 2257-63.
- Heicklen-Klein A, Ginzburg I. Tau promoter confers neuronal specificity and binds Sp1 and AP-2. *J Neurochem* 2000; 75: 1408-18.
- Couchie D, Mavilia C, Georgieff IS, Liem RK, Shelanski ML, Núñez

- J. Primary structure of high molecular weight tau present in the peripheral nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 4378-81.
22. Goedert M, Spillantini MG, Cairns NJ, Crowther RA. Tau proteins of Alzheimer paired helical filaments: abnormal phosphorylation of all six brain isoforms. *Neuron* 1992; 8: 159-68.
 23. Goedert M, Spillantini MG, Crowther RA. Cloning of a big tau microtubule-associated protein characteristic of the peripheral nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 1983-7.
 24. Goedert M, Cohen ES, Jakes R, Cohen P. p42 map kinase phosphorylation sites in microtubule-associated protein tau are dephosphorylated by protein phosphatase 2A1. Implications for Alzheimer's disease. *Febs Lett* 1992; 312: 95-9.
 25. Núñez J. Immature and mature variants of MAP2 and tau proteins and neuronal plasticity [news]. *Trends Neurosci* 1988; 11: 477-9.
 26. Pérez M, Valpuesta JM, De Garcini EM, Quintana C, Arrasate M, López-Carrascosa JL, et al. Ferritin is associated with the aberrant tau filaments present in progressive supranuclear palsy. *Am J Pathol* 1998; 152: 1531-9.
 27. Arrasate M, Pérez M, Valpuesta JM, Ávila J. Role of glycosaminoglycans in determining the helicity of paired helical filaments. *Am J Pathol* 1997; 151: 1115-22.
 28. Pérez M, Lim F, Arrasate M, Ávila J. The FTDP-17-linked mutation R406W abolishes the interaction of phosphorylated tau with microtubules. *J Neurochem* 2000; 74: 2583-9.
 29. Goode BL, Denis PE, Panda D, Radeke MJ, Miller HP, Wilson L, et al. Functional interactions between the proline-rich and repeat regions of tau enhance microtubule binding and assembly. *Mol Biol Cell* 1997; 8: 353-65.
 30. Kanai Y, Chen J, Hirokawa N. Microtubule bundling by tau proteins in vivo: analysis of functional domains. *EMBO J* 1992; 11: 3953-61.
 31. Kosik KS. Pyramidal cell topography of microtubule-associated proteins and their precipitation into paired helical filaments. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 568: 125-30.
 32. Kosik KS, Crandall JE, Mufson EJ, Neve RL. Tau in situ hybridization in normal and Alzheimer brain: localization in the somatodendritic compartment. *Ann Neurol* 1989; 26: 352-61.
 33. Hirokawa N, Shiomura Y, Okabe S. Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules. *J Cell Biol* 1988; 107: 1449-59.
 34. Von Bergen M, Friedhoff P, Biernat J, Heberle J, Mandelkow EM, Mandelkow E. Assembly of tau protein into Alzheimer paired helical filaments depends on a local sequence motif [(306)VQIVYK(311)] forming beta structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 5129-34.
 35. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Quinlan M, Tung YC, Zaidi MS, Wisniewski HM. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem* 1986; 261: 6084-9.
 36. Ishiguro K, Shiratsuchi A, Sato S, Omori A, Arioka M, Kobayashi S, et al. Glycogen synthase kinase 3 beta is identical to tau protein kinase I generating several epitopes of paired helical filaments. *FEBS Lett* 1993; 325: 167-72.
 37. Johnson GV, Watson AJ, Lartius R, Uemura E, Jope RS. Dietary aluminum selectively decreases MAP-2 in brains of developing and adult rats. *Neurotoxicology* 1992; 13: 463-74.
 38. Johnson GV. Differential phosphorylation of tau by cyclic AMP-dependent protein kinase and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II: metabolic and functional consequences. *J Neurochem* 1992; 59: 2056-62.
 39. Trinczek B, Biernat J, Baumann K, Mandelkow EM, Mandelkow E. Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. *Mol Biol Cell* 1995; 6: 1887-902.
 40. Correas I, Díaz-Nido J, Ávila J. Microtubule-associated protein tau is phosphorylated by protein kinase C on its tubulin binding domain. *J Biol Chem* 1992; 267: 15721-8.
 41. Morishima-Kawashima M, Kosik KS. The pool of MAP kinase associated with microtubules is small but constitutively active. *Molecular Biology of the Cell* 1996; 7: 893-905.
 42. Greenwood JA, Scott CW, Spreen RC, Caputo CB, Johnson GVW. Casein Kinase II Preferentially Phosphorylates Human Tau Isoforms Containing an Amino-Terminal Insert-Identification of Threonine 39 as the Primary Phosphate Acceptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 4373-80.
 43. Eidenmuller J, Fath T, Hellwig A, Reed J, Sontag E, Brandt R. Structural and functional implications of tau hyperphosphorylation: information from phosphorylation-mimicking mutated tau proteins. *Biochemistry* 2000; 39: 13166-75.
 44. Muñoz-Montaño JR, Moreno FJ, Ávila J, Díaz-Nido J. Downregulation of glycogen synthase kinase-3b (GSK-3b) protein expression during neuroblastoma IMR-32 cell differentiation. *J Neurosci Res* 1999; 55: 278-85.
 45. Schneider A, Biernat J, Von Bergen M, Mandelkow E, Mandelkow EM. Phosphorylation that detaches tau protein from microtubules (Ser262, Ser214) also protects it against aggregation into Alzheimer paired helical filaments. *Biochemistry* 1999; 38: 3549-58.
 46. Scott CW, Vulliet PR, Caputo CB. Phosphorylation of tau by proline-directed protein kinase (p34cdc2/p58cyclin A) decreases tau-induced microtubule assembly and antibody SMI33 reactivity. *Brain Res* 1993; 611: 237-42.
 47. Scott CW, Spreen RC, Herman JL, Chow FP, Davison MD, Young J, et al. Phosphorylation of recombinant tau by cAMP-dependent protein kinase. Identification of phosphorylation sites and effect on microtubule assembly. *J Biol Chem* 1993; 268: 1166-73.
 48. Utton MA, Vandecastelaere A, Wagner U, Reynolds CH, Gibb GM, Miller CCJ, et al. Phosphorylation of tau by glycogen synthase kinase 3 beta affects the ability of tau to promote microtubule self-assembly. *Biochem J* 1997; 323: 741-7.
 49. Paudel HK. Phosphorylation by neuronal cdc2-like protein kinase promotes dimerization of tau protein in vitro. *J Biol Chem* 1997; 272: 28328-34.
 50. Carlier MF, Simon C, Cassoly R, Pradel LA. Interaction between microtubule-associated protein tau and spectrin. *Biochimie* 1984; 66: 305-11.
 51. Liao H, Li YR, Brautigam DL, Gundersen GG. Protein phosphatase 1 is targeted to microtubules by the microtubule-associated protein Tau. *J Biol Chem* 1998; 273: 21901-8.
 52. Sontag E, Nunbhakdi-Craig V, Lee G, Brandt R, Kamibayashi C, Kuret J, et al. Molecular interactions among protein phosphatase 2A, tau, and microtubules. Implications for the regulation of tau phosphorylation and the development of tauopathies. *J Biol Chem* 1999; 274: 25490-8.
 53. Sobue K, Agarwal-Mawal A, Li W, Sun W, Miura Y, Paudel HK. Interaction of neuronal Cdc2-like protein kinase with microtubule-associated protein tau. *J Biol Chem* 2000; 275: 16673-80.
 54. Takashima A, Murayama M, Murayama O, Kohno T, Honda T, Yasutake K, et al. Presenilin 1 associates with glycogen synthase kinase-3 beta and its substrate tau. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 9637-41.
 55. Jensen PH, Hager H, Nielsen MS, Hojrup P, Gliemann J, Jakes R. Alpha-synuclein binds to tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. *J Biol Chem* 1999; 274: 25481-9.
 56. Hwang SC, Jhon DY, Bae YS, Kim JH, Rhee SG. Activation of phospholipase C-gamma by the concerted action of tau proteins and arachidonic acid. *J Biol Chem* 1996; 271: 18342-9.
 57. Jenkins SM, Johnson GVW. Tau complexes with phospholipase C-gamma in situ. *Neuroreport* 1998; 9: 67-71.
 58. Lee G, Newman ST, Gard DL, Band H, Panchamoorthy G. Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *J Cell Sci* 1998; 111: 3167-77.
 59. Lee SC, Kuan CY, Wen ZD, Yang SD. The naturally occurring PKC inhibitor sphingosine and tumor promoter phorbol ester potentially induce tyrosine phosphorylation/activation of oncogenic proline-directed protein kinase FA/GSK-3alpha in a common signalling pathway. *J Protein Chem* 1998; 17: 15-27.
 60. Correas I, Padilla R, Ávila J. The tubulin-binding sequence of brain microtubule-associated proteins, tau and MAP-2, is also involved in actin binding. *Biochem J* 1990; 269: 61-4.
 61. Lu PJ, Wulf G, Zhou XZ, Davies P, Lu KP. The prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein. *Nature* 1999; 399: 784-8.
 62. Brandt R, Leger J, Lee G. Interaction of tau with the neural plasma membrane mediated by tau's amino-terminal projection domain. *J Cell Biol* 1995; 131: 1327-40.
 63. Arrasate M, Pérez M, Ávila J. Tau dephosphorylation at tau-1 site correlates with its association to cell membrane. *Neurochem Res* 2000; 25: 43-50.
 64. García-Rocha M, Ávila J. Characterization of microtubule-associated protein phosphoisoforms present in isolated growth cones. *Brain Res Dev* 1995; 89: 47-55.
 65. Loomis PA, Howard TH, Castleberry RP, Binder LI. Identification of nuclear tau isoforms in human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 8422-6.
 66. Wang Y, Loomis PA, Zinkowski RP, Binder LI. A novel tau transcript in cultured human neuroblastoma cells expressing nuclear tau. *J Cell Biol* 1993; 121: 257-67.
 67. Binder LI, Frankfurter A, Rebhun LI. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J Cell Biol* 1985; 101: 1371-8.
 68. Cáceres A, Banker GA, Binder L. Immunocytochemical localization of tubulin and microtubule-associated protein 2 during the development of hippocampal neurons in culture. *J Neurosci* 1986; 6: 714-22.
 69. Papasozomenos SC. Tau protein immunoreactivity in dementia of the Alzheimer type: II. Electron microscopy and pathogenetic implications. Effects of fixation on the morphology of the Alzheimer's abnormal filaments. *Lab Invest* 1989; 60: 375-89.
 70. Brandt R, Lee G. Functional organization of microtubule-associated pro-

- tein tau. Identification of regions which affect microtubule growth, nucleation, and bundle formation in vitro. *J Biol Chem* 1993; 268: 3414-9.
71. Bre MH, Karsenti E. Effects of brain microtubule-associated proteins on microtubule dynamics and the nucleating activity of centrosomes. *Cell Motil Cytoskeleton* 1990; 15: 88-98.
 72. Panda D, Goode BL, Feinstein SC, Wilson L. Kinetic stabilization of microtubule dynamics at steady state by tau and microtubule-binding domains of tau. *Biochemistry* 1995; 34: 11117-27.
 73. Drubin DG, Kirschner MW. Tau protein function in living cells. *J Cell Biol* 1986; 103: 2739-46.
 74. Drubin D, Kirschner M. Purification of tau protein from brain. *Methods Enzymol* 1986; 134: 156-60.
 75. Cáceres A, Kosik KS. Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. *Nature* 1990; 343: 461-3.
 76. Harada A, Oguchi K, Okabe S, Kuno J, Terada S, Ohshima T, et al. Altered microtubule organization in small-calibre axons of mice lacking tau protein. *Nature* 1994; 369: 488-91.
 77. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psychiatr Psych-Gerichtl Med* 1907; 64: 146-8.
 78. Braak E, Braak H. Alzheimer's disease: Transiently developing dendritic changes in pyramidal cells of sector CA1 of the Ammon's horn. *Acta Neuropathol* 1997; 93: 323-5.
 79. Braak H, Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 351-7.
 80. Selkoe DJ. The deposition of amyloid proteins in the aging mammalian brain: implications for Alzheimer's disease. *Ann Med* 1989; 21: 73-6.
 81. Selkoe DJ. Molecular pathology of amyloidogenic proteins and the role of vascular amyloidosis in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1989; 10: 387-95.
 82. Kidd M. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 1963; 197: 192-3.
 83. Brion JP, Passasiro H, Núñez J, Flament-Durand J. Mise en évidence immunologique de la protéine tau an niveau des lésions dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. *Arch Biol* 1985; 95: 229-35.
 84. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 4913-7.
 85. Grundke-Iqbal I, Vorbrodt AW, Iqbal K, Tung YC, Wang GP, Wisniewski HM. Microtubule-associated polypeptides tau are altered in Alzheimer paired helical filaments. *Brain Res* 1988; 464: 43-52.
 86. Ihara Y. Alzheimer's paired helical filaments. *Rinsho Shinkeigaku* 1986; 26: 1287-9.
 87. Ihara Y, Nukina N, Miura R, Ogawara M. Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *J Biochem Tokyo* 1986; 99: 1807-10.
 88. Kosik KS, Joachim CL, Selkoe DJ. Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 4044-8.
 89. Wood JG, Mirra SS, Pollock NJ, Binder LI. Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau (tau). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 4040-3.
 90. Nieto A, Correias I, Montejo de Garcini E, Ávila J. A modified form of microtubule-associated tau protein is the main component of paired helical filaments. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154: 660-7.
 91. Wischik CM, Novak M, Thøgersen HC, Edwards PC, Runswick MJ, Jakes R, et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 4506-10.
 92. Wischik CM, Novak M, Edwards PC, Klug A, Tichelaar W, Crowther RA. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 4884-8.
 93. Arriagada PV, Marzloff K, Hyman BT. Distribution of Alzheimer-type pathologic changes in nondemented elderly individuals matches the pattern in Alzheimer's disease. *Neurology* 1992; 42: 1681-8.
 94. Arriagada PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 1992; 42: 631-9.
 95. Wolozin BL, Pruchnicki A, Dickson DW, Davies P. A neuronal antigen in the brains of Alzheimer patients. *Science* 1986; 232: 648-50.
 96. Carmel G, Mager EM, Binder LI, Kuret J. The structural basis of monoclonal antibody Alz50's selectivity for Alzheimer's disease pathology. *J Biol Chem* 1996; 271: 32789-95.
 97. Weaver CL, Espinoza M, Kress Y, Davies P. Conformational change as one of the earliest alterations of tau in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21: 719-27.
 98. Braak H, Braak E. Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1996; 93: 3-12.
 99. Ávila J. Tau aggregation into fibrillar polymers: tauopathies. *FEBS Lett* 2000; 476: 89-92.
 100. Goedert M. Filamentous nerve cell inclusions in neurodegenerative diseases: tauopathies and alpha-synucleinopathies. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354: 1101-18.
 101. Lovestone S, Reynolds CH, Latimer D, Davis DR, Anderton BH, Gallo JM, et al. Alzheimer's disease-like phosphorylation of the microtubule-associated protein tau by glycogen synthase kinase-3 in transfected mammalian cells. *Curr Biol* 1994; 4: 1077-86.
 102. Cotter D, Honavar M, Lovestone S, Raymond L, Kerwin R, Anderton B, Everall I. Disturbance of Notch-1 and Wnt signalling proteins in neuroglial balloon cells and abnormal large neurons in focal cortical dysplasia in human cortex. *Acta Neuropathol (Berl)* 1999; 98: 465-72.
 103. Lau KF, Miller CCJ, Anderton BH, Shaw PC. Molecular cloning and characterization of the human glycogen synthase kinase-3 beta promoter. *Genomics* 1999; 60: 121-8.
 104. Hong M, Lee VMY. Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons. *J Biol Chem* 1997; 272: 19547-53.
 105. Muñoz-Montañón JR, Moreno FJ, Ávila J, Díaz-Nido J. Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 1997; 411: 183-8.
 106. Sadot E, Heicklenklein A, Barg J, Lazarovici P, Ginzburg I. Identification of a tau promoter region mediating tissue-specific-regulated expression in PC12 cells. *J Mol Biol* 1996; 256: 805-12.
 107. Sadot E, Gurwitz D, Barg J, Behar L, Ginzburg I, Fisher A. Activation of m(1) muscarinic acetylcholine receptor regulates tau phosphorylation in transfected PC12 cells. *J Neurochem* 1996; 66: 877-80.
 108. Lovestone S, Reynolds CH. The phosphorylation of tau: A critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neuroscience* 1997; 78: 309-24.
 109. Fang X, Yu SX, Lu Y, Bast RC Jr, Woodgett JR, Mills GB. Phosphorylation and inactivation of glycogen synthase kinase 3 by protein kinase A [In Process Citation]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 11960-5.
 110. Hagedstedt T, Lichtenberg B, Wille H, Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau protein becomes long and stiff upon phosphorylation: correlation between paracrystalline structure and degree of phosphorylation. *J Cell Biol* 1989; 109: 1643-51.
 111. Tseng HC, Graves DJ. Natural methylamine osmolytes, trimethylamine N-oxide and betaine, increase tau-induced polymerization of microtubules. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 250: 726-30.
 112. Tseng HC, Lu Q, Henderson E, Graves DJ. Phosphorylated tau can promote tubulin assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 9503-8.
 113. Zhou ZX, Kops O, Werner A, Lu JP, Shen M, Stoller G, et al. Pin1-dependent prolyl isomerization regulates dephosphorylation of Cdc25C and tau proteins. *Mol Cell* 2000; 6: 873-83.
 114. Goedert M, Jakes R, Spillantini MG, Crowther RA, Cohen P, Vanmechelen E, et al. Tau protein in Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions* 1995; 23: 80-5.
 115. Goedert M. Molecular dissection of the neurofibrillary lesions of Alzheimer's disease. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* 1995; 45-1: 403-9.
 116. Goedert M, Jakes R, Qi Z, Wang JH, Cohen P. Protein phosphatase 2A is the major enzyme in brain that dephosphorylates tau protein phosphorylated by proline-directed protein kinases or cyclic AMP-Dependent protein kinase. *J Neurochem* 1995; 65: 2804-7.
 117. Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Crowther RA, Vanmechelen E, Probst A, et al. Molecular dissection of the paired helical filament. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 325-34.
 118. Gong CX, Shaikh S, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Inhibition of protein phosphatase-2B (calcineurin) activity towards Alzheimer abnormally phosphorylated tau by neuroleptics. *Brain Res* 1996; 741: 95-102.
 119. Wu J, Tolstykh T, Lee J, Boyd K, Stock JB, Broach JR. Carboxyl methylation of the phosphoprotein phosphatase 2A catalytic subunit promotes its functional association with regulatory subunits in vivo. *EMBO J* 2000; 19: 5672-81.
 120. Virshup DM. Protein phosphatase 2A: a panoply of enzymes. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 180-5.
 121. Kenessey A, Nacharaju P, Ko LW, Yen SH. Degradation of tau by lysosomal enzyme cathepsin D: implication for Alzheimer neurofibrillary degeneration. *J Neurochem* 1997; 69: 2026-38.
 122. Yang SD, Yu JS, Lai YG. Identification and characterization of the ATP.Mg-dependent protein phosphatase activator (FA) as a microtubule protein kinase in the brain. *J Protein Chem* 1991; 10: 171-81.
 123. Shackelford DA, Nelson KE. Changes in phosphorylation of tau during ischemia and reperfusion in the rabbit spinal cord. *J Neurochem* 1996; 66: 286-95.
 124. Canu N, Dus L, Barbato C, Ciotti MT, Brancolini C, Rinaldi AW, et al. Tau cleavage and dephosphorylation in cerebellar granule neurons undergoing apoptosis. *J Neurosci* 1998; 18: 7061-74.

125. Jenkins SM, Zimmerman M, Garner C, Johnson GV. Modulation of tau phosphorylation and intracellular localization by cellular stress. *Biochem J* 2000; 345: 263-70.
126. Spiegelman VS, Slaga TJ, Pagano M, Minamoto T, Ronai Z, Fuchs SY. Wnt/beta-catenin signaling induces the expression and activity of betaTrCP ubiquitin ligase receptor. *Mol Cell* 2000; 5: 877-82.
127. Mori H, Kondo J, Ihara Y. Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235: 1641-4.
128. Kosik KS, Cáceres A. Tau protein and the establishment of an axonal morphology. *J Cell Sci Suppl* 1991; 15: 69-74.
129. Alonso AD, Grundke-Iqbal I, Barra HS, Iqbal K. Abnormal phosphorylation of tau and the mechanism of Alzheimer neurofibrillary degeneration: sequestration of microtubule-associated proteins 1 and 2 and the disassembly of microtubules by the abnormal tau. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 298-303.
130. Wischik CM, Lai RYK, Harrington CR. Modelling prion-like processing of tau protein in Alzheimer's disease for pharmaceutical development. In Ávila J, Brandt R, Kosik KS, eds. *Brain Microtubule Associated*. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publ; 1997. p. 185-241.
131. Nixon RA, Cataldo AM, Paskevich PA, Hamilton DJ, Wheelock TR, Kanaley-Andrews L. The lysosomal system in neurons. Involvement at multiple stages of Alzheimer's disease pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 674: 65-88.
132. Bi X, Haque TS, Zhou J, Skillman AG, Lin B, Lee CE, et al. Novel cathepsin D inhibitors block the formation of hyperphosphorylated tau fragments in hippocampus. *J Neurochem* 2000; 74: 1469-77.
133. Ebneth A, Godemann R, Stamer K, Illenberger S, Trinczek B, Mandelkow EM, et al. Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: Implications for Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 1998; 143: 777-94.
134. Montejó de Garcini E, Serrano L, Ávila J. Self assembly of microtubule associated protein tau into filaments resembling those found in Alzheimer disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 141: 790-6.
135. Montejó de Garcini E, Díez JC, Ávila J. Quantitation and characterization of tau factor in porcine tissues. *Biochim Biophys Acta* 1986; 881: 456-61.
136. Montejó de Garcini E, Ávila J. In vitro conditions for the self-polymerization of the microtubule-associated protein, tau factor. *J Biochem* 1987; 102: 1415-21.
137. Montejó de Garcini E, Carrascosa JL, Correas I, Nieto A, Ávila J. Tau factor polymers are similar to paired helical filaments of Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 1988; 236: 150-4.
138. Crowther RA, Olesen OF, Jakes R, Goedert M. The microtubule binding repeats of tau protein assemble into filaments like those found in Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 1992; 309: 199-202.
139. Wille H, Drewes G, Biernat J, Mandelkow EM, Mandelkow E. Alzheimer-like paired helical filaments and antiparallel dimers formed from microtubule-associated protein tau in vitro. *J Cell Biol* 1992; 118: 573-84.
140. Watanabe A, Takio K, Ihara Y. Deamidation and isoaspartate formation in smeared tau in paired helical filaments. Unusual properties of the microtubule-binding domain of tau. *J Biol Chem* 1999; 274: 7368-78.
141. Perry G, Siedlak SL, Richey P, Kawai M, Cras P, Kalaria RN, et al. Association of heparan sulfate proteoglycan with the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1991; 11: 3679-83.
142. Pérez M, Valpuesta JM, Medina M, Montejó de Garcini E, Ávila J. Polymerization of tau into filaments in the presence of heparin: the minimal sequence required for tau-tau interaction. *J Neurochem* 1996; 67: 1183-90.
143. Goedert M, Spillantini MG, Hasegawa M, Jakes R, Crowther RA, Klug A. Molecular dissection of the neurofibrillary lesions of Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1996; 61: 565-73.
144. Goedert M, Jakes R, Spillantini MG, Hasegawa M, Smith MJ, Crowther RA. Assembly of microtubule-associated protein tau into Alzheimer-like filaments induced by sulphated glycosaminoglycans. *Nature* 1996; 383: 550-3.
145. Kampers T, Friedhoff P, Biernat J, Mandelkow EM, Mandelkow E. RNA stimulates aggregation of microtubule-associated protein tau into Alzheimer-like paired helical filaments. *FEBS Lett* 1996; 399: 344-9.
146. Moreno FJ, Medina M, Pérez M, Montejó de Garcini E, Ávila J. Glycogen synthase kinase 3 phosphorylates recombinant human tau protein at serine-262 in the presence of heparin (or tubulin). *FEBS Lett* 1995; 372: 65-8.
147. Reynolds CH, Betts JC, Blackstock WP, Nebreda AR, Anderton BH. Phosphorylation sites on tau identified by nano-electrospray mass spectrometry: differences in vitro between the mitogen-activated protein kinases ERK2, c-Jun N-terminal kinase and P38, and glycogen synthase kinase-3beta. *J Neurochem* 2000; 74: 1587-95.
148. Arrasate M, Pérez M, Armas-Portela R, Ávila J. Polymerization of tau peptides into fibrillar structures. The effect of FTDP-17 mutations. *FEBS Lett* 1999; 446: 199-202.
149. Troncoso JC, Costello A, Watson AL Jr, Johnson GV. In vitro polymerization of oxidized tau into filaments. *Brain Res* 1993; 613: 313-6.
150. Wilson DM, Binder LI. Free fatty acids stimulate the polymerization of tau and amyloid beta peptides. In vitro evidence for a common effector of pathogenesis in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1997; 150: 2181-95.
151. Gamblin TC, King ME, Kuret J, Berry RW, Binder LI. Oxidative regulation of fatty acid-induced tau polymerization. *Biochemistry* 2000; 39: 14203-10.
152. Winkler S, Wilson D, Kaplan DL. Controlling beta-sheet assembly by genetically engineered silk by enzymatic Phosphorylation/Dephosphorylation [In Process Citation]. *Biochemistry* 2000; 39: 12739-46.
153. Abraha A, Ghoshal N, Gamblin TC, Cryns V, Berry RW, Kuret J, et al. C-terminal inhibition of tau assembly in vitro and in Alzheimer's disease. *J Cell Sci* 2000; 113: 3737-45.
154. Ledesma MD, Bonay P, Colaço C, Ávila J. Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments. *J Biol Chem* 1994; 269: 21614-9.
155. Yang SD, Yu JS, Shiah SG, Huang JJ. Protein kinase FA/glycogen synthase kinase-3 alpha after heparin potentiation phosphorylates tau on sites abnormally phosphorylated in Alzheimer's disease brain. *J Neurochem* 1994; 63: 1416-25.
156. Pérez M, Cuadros R, Smith MA, Perry G, Ávila J. Phosphorylated, but not native, tau protein assembles following reaction with the lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal. *FEBS Lett* 2000; 486: 270-4.
157. Spillantini MG, Goedert M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *TINS* 1998; 21: 428-33.
158. Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys Acta* 2000; 1502: 139-44.
159. Delacourte A, Buee L. Normal and pathological tau proteins as factors for microtubule assembly. In Jeon KW, ed. *International Review of Cytol.* Vol. 171. San Diego: Academic Press Inc; 1997. p. 167-224.
160. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998; 393: 702-5.
161. Poorkaj P, Bird TD, Wijsman E, Nemens E, Garruto RM, Anderson L, et al. Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 1998; 43: 815-25.
162. Spillantini MG, Murrell JR, Goedert M, Farlow MR, Klug A, Ghetti B. Mutation in the tau gene in familial multiple system tauopathy with presenile dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 7737-41.
163. Spillantini MG, Bird TD, Ghetti B. Frontotemporal dementia and Parkinsonism linked to chromosome 17: a new group of tauopathies. *Brain Pathol* 1998; 8: 387-402.
164. Spillantini MG, Crowther RA, Kamphorst W, Heutink P, Van Swieten JC. Tau pathology in two Dutch families with mutations in the microtubule-binding region of tau. *Am J Pathol* 1998; 153: 1359-63.
165. Hasegawa M, Smith MJ, Goedert M. Tau proteins with FTDP-17 mutations have a reduced ability to promote microtubule assembly. *FEBS Lett* 1998; 437: 207-10.
166. Hong M, Zhukareva V, Vogelsberg-Ragaglia V, Wszolek Z, Reed L, Miller BI, et al. Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary FTDP-17. *Science* 1998; 282: 1914-7.
167. Goedert M, Spillantini MG. Tau mutations in frontotemporal dementia FTDP-17 and their relevance for Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Acta* 2000; 1502: 110-21.
168. Goedert M, Satumtira S, Jakes R, Smith MJ, Kamibayashi C, White CL III, et al. Sontag E. Reduced binding of protein phosphatase 2A to tau protein with frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 mutations. *J Neurochem* 2000; 75: 2155-62.
169. Götz J, Probst A, Spillantini MG, Schafer T, Jakes R, Burki K, et al. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *EMBO J* 1995; 14: 1304-13.
170. Brion JP, Tremp G, Octave JN. Transgenic expression of the shortest human tau affects its compartmentalization and its phosphorylation as in the pretangle stage of Alzheimer's disease [see comments]. *Am J Pathol* 1999; 154: 255-70.
171. Ishihara T, Hong M, Zhang B, Nakagawa Y, Lee MK, Trojanowski JQ, et al. Age-dependent emergence and progression of a tauopathy in transgenic mice overexpressing the shortest human tau isoform. *Neuron* 1999; 24: 751-62.
172. Lucas JJ, Hernández F, Gómez-Ramos P, Morán MA, Hen R, Ávila J. Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *Embo J* 2001; 20: 27-39.

173. Lewis J, McGowan E, Rockwood J, Melrose H, Nacharaju P, Van Slegtenhorst M, et al. Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301L) tau protein. *Nat Genet* 2000; 25: 402-5.
174. Götz J, Chen J, Barmettler R, Nitsch R. Tau filament formation in transgenic mice expressing P301L tau. *J Biol Chem*. 2001. [In press].

LA PROTEÍNA TAU EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS. TAUPATÍAS

Resumen. Introducción. Los microtúbulos son componentes esenciales del citoesqueleto, responsables de la formación y mantenimiento de la morfología neuronal y de sus conexiones específicas. Las proteínas asociadas a los microtúbulos contribuyen a dar dinamismo y estabilidad a los microtúbulos, siendo, por lo tanto, proteínas reguladoras de la función de los mismos. Entre ellas, tau es una proteína que parece tener una gran importancia en la estabilización de la polaridad neuronal. Desarrollo. En este trabajo se revisan los factores que afectan a la afinidad de tau por los microtúbulos, prestando especial atención a los procesos que ocurren en las enfermedades neurodegenerativas que presentan ovillos neurofibrilares, agregados de tau modificada que forman filamentos helicoidales apareados (PHF). De las modificaciones que presenta tau en los PHF, la hiperfosforilación es la más llamativa. Así, los factores que afectan a las cinasas y fosfatasas responsables de las modificaciones de la proteína tau pueden alterarse en ciertas enfermedades, haciendo que tau pierda afinidad por los microtúbulos y favoreciendo su autoensamblaje y deposición aberrante en las neuronas de las regiones afectadas del sistema nervioso. Estas enfermedades en las que la función de tau se altera se conocen como taupatías. [REV NEUROL 2001; 33: 169-77]

Palabras clave. Autoensamblaje. Enfermedad de Alzheimer. Filamentos helicoidales apareados. Hiperfosforilación. Ovillos neurofibrilares. Proteína asociada a microtúbulos.

175. Delacourte A. Biochemical and molecular characterization of neurofibrillary degeneration in frontotemporal dementias. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999; 10: 75-9.
176. Delacourte A, David JP, Sergeant N, Buee L, Wattez A, Vermersch P, et al. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1999; 52: 1158-65.

A PROTEÍNA TAU NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS. TAUPATIAS

Resumo. Introdução. Os microtúbulos são componentes essenciais do citoesqueleto, responsáveis pela formação e manutenção da morfologia neuronal e das suas conexões específicas. As proteínas associadas aos microtúbulos contribuem para o dinamismo e estabilidade dos microtúbulos, sendo, portanto, proteínas reguladoras da função dos mesmos. Entre elas, tau é uma proteína que parece possuir uma grande importância na estabilização da polaridade neuronal. Desenvolvimento. Neste trabalho são revistos os factores que afectam a afinidade de tau pelos microtúbulos, prestando particular atenção aos processos que ocorrem nas doenças neurodegenerativas que apresentam aglomerados neofibrilares, agregados em tau modificada que formam filamentos helicoidais emparelhados (PHF). Das modificações apresentadas por tau nos PHF, a hiperfosforilação é a mais sugestiva. Assim, os factores que afectam as cinasas e as fosfatasas responsáveis pelas modificações da proteína tau podem alterar-se em certas patologias, fazendo com que tau perca a afinidade pelos microtúbulos, favorecendo a sua automontagem e deposição aberrante nos neurónios das regiões afectadas do sistema nervoso. Estas patologias em que a função de tau é alterada, são conhecidas pelo nome de taupatias. [REV NEUROL 2001; 33: 169-77]

Palavras chave. Aglomerados neurofibrilares. Automontagem. Doença de Alzheimer. Filamentos helicoidais emparelhados. Hiperfosforilação. Proteína associada a microtúbulos.