

Alpha-synucleína potencia la toxicidad de oligómeros de tau en células de neuroblastoma

Katelynne Berland^a, Jorge E. Padilla Muñoz^b, Marcos J. Guerrero Munoz^b y Diana L. Castillo Carranza^{a*}

^aHealth Disparities, Hampton University, Frank Fountain Research Center, Hampton VA, USA.

^bFacultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey NL, México.

*diana.castillocarranza@hamptonu.edu

Palabras clave: Tau, alpha-synuclein, siRNA, Oligómeros, Toxicidad.

Introducción

La agregación intracelular de las proteínas tau y α -synucleína en el citoplasma neuronal son lesiones características de enfermedades neurodegenerativas como son Alzheimer y Parkinson, respectivamente (1). En condiciones normales, ambas proteínas juegan un papel importante en la homeostasis neuronal en el sistema nervioso. α -synucleína se localiza en las sinapsis, mientras que tau ayuda a estabilizar los microtúbulos en el axón. En enfermedades neurodegenerativas ambas proteínas se pliegan de forma errónea adquiriendo una conformación propensa a agregarse. Tau y α -synuclein forman agregados prefibrilares tóxicos conocidos como oligómeros (2) y depósitos fibrilares de toxicidad limitada.

Estudios recientes sugieren que la coexistencia de agregados proteicos de tau y α -synucleína incrementa la severidad de la patología (3), a la vez que aceleran el progreso de la enfermedad, lo que sugiere una relación sinérgica entre ambas proteínas.

EL objetivo de este trabajo es investigar el mecanismo sinérgico entre tau y α -synucleína. Elucidar el mecanismo neurodegenerativo mediado por tau y synucleína podría revelar nuevos blancos terapéuticos en enfermedades neurodegenerativas.

Metodología

10 μ g de plásmido conteniendo el gen de α -synuclein unido a GFP, fueron linearizados con la enzima SmaI, y transfectados en células de neuroblastoma. Mediante selección con genética, se generó una línea celular estable para la expresión de α -synuclein. La línea celular estable (SY/Synucleína) fue expuesta a oligómeros de tau (2 μ M) o vehículo (PBS) durante 24 horas, en medio DMEM/F12 con 10% de FBS and streptomycina, at 37°C and 5% CO₂. Posteriormente las células fueron inmunotizadas con anticuerpos contra oligómeros de tau (T22), α -synucleína (4D6) y Dapi (tinción nuclear).

Para determinar el efecto de oligómeros de tau en ausencia de expresión de α -synucleína, se transfectaron células de neuroblastoma con siRNA contra tres diferentes regiones del gen α -synucleína. 24 horas posteriores a la transfección las células fueron expuestas a oligómeros de tau (2 μ M) o vehículo (PBS) durante 24 horas, en medio DMEM/F12 con 10% de FBS and streptomycina, at 37°C and 5% CO₂. Para determinar la eficiencia de la transfección con siRNA de interferencia, se extrajo mRNA utilizando el kit RNeasy seguido por RT-PCR.

Las imágenes fueron tomadas en un microscopio invertido de fluorescencia DMI8 (Leica).

Resultados y discusión

Mediante la generación de una línea celular estable para la expresión de la proteína α -synucleína se comprobó la interacción de oligómeros de tau y α -synucleína *in vitro*. Los oligómeros de tau inducen la formación de depósitos intracelulares de α -synucleína en la línea celular estable obtenida. Nuestros resultados sugieren que una vez que los oligómeros de tau son endocitados por las células estables, estos interactúan con α -synucleína induciendo la formación de cuerpos de inclusión. Además, las células expuestas a oligómeros de tau mostraron reducida viabilidad celular, lo que confirma la toxicidad de los oligómeros de tau *in vitro*. Interesantemente, la inactivación de synucleína mediante RNA de interferencia (siRNA) disminuyó el efecto tóxico de los oligómeros de tau en células de neuroblastoma. Esto sugiere que la sinergia de synuclein y tau tienen un efecto devastador en las células.

Conclusiones

Los resultados obtenidos confirman la toxicidad de los oligómeros de tau a la vez que sugieren que la sinergia entre oligómeros de tau y la presencia de la proteína α -synucleína aceleran la muerte celular. Este descubrimiento explica el por qué los pacientes que desarrollan ambas patologías, tau y synucleína, los cuales tienen un pronóstico desfavorable. Nuestros descubrimientos sugieren que ambas proteínas son blancos terapéuticos en enfermedades neurodegenerativas.

Agradecimientos

Agradecemos al Minority Men's Health Initiative (MMHI) y al Governor's School for Science and Technology por el apoyo recibido. Este trabajo es financiado con fondos del Instituto Nacional de Salud (NIH) en Estados Unidos.

Referencias

1. Sengupta U, Guerrero-Munoz MJ, Castillo-Carranza DL, Lasagna-Reeves CA, Gerson JE, Kaye R. 2015. *Biological Psychiatry* (4): 226-235.
2. Castillo-Carranza DL, Guerrero-Munoz MJ, Sengupta U, Hernandez CM, Barret AT, Dineley K, Kaye R. *Journal of Neuroscience* (12)4857-4868
3. Castillo-Carranza D.L., M.J. Guerrero-Muñoz, U. Sengupta et al. 2018. *Biological Psychiatry* (84): 499-508.