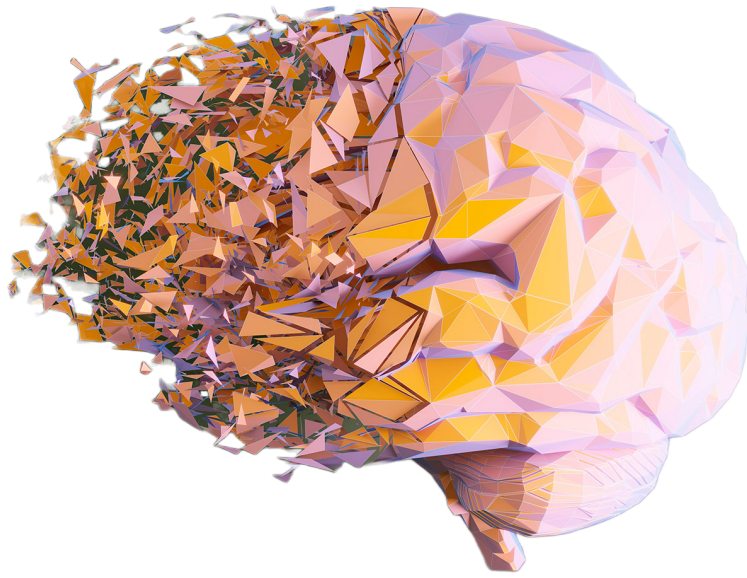


L'agregació de la proteïna Tau en l'Alzheimer



*"I am seeking, I am not lost. I am
forgetful, I am not gone."
- Koenig Coste*

AGRAÏMENTS

Voldria agrair a la investigadora de l'IBEC Júlia Sala Jarque, ja que gràcies a ella aquest treball s'ha pogut realitzar. Ella ha sigut l'encarregada de donar les directrius de la part pràctica i m'ha ajudat a dur-la a terme. Ha estat al meu costat cada cop que he tingut algun dubte i em va donar les primeres pistes per poder enfocar el meu treball.

També donar les gràcies a l'IBEC que durant l'agost va cedir els seus laboratoris per tal de poder efectuar l'estàdia de la pràctica allà. Ha oferit tot el material i eines necessàries.

Cal mencionar al professorat, que han anat corregint i perfeccionant el treball. Ha sigut la principal ajuda i guia en els moments més complicats, i sempre ha tingut una solució a tots els problemes que han sorgit. Als altres professors que davant de dubtes han intentat resoldre'ls tot i no ser tutor del meu treball.

Finalment, però no menys important, a tota la meva família que en aquells moments de saturació han intentat ajudar en tot el que han pogut, i donant un últim cop d'ull al treball per tal de tenir una última opinió. I també als meus amics que amb ajuda d'uns i altres hem anat acabant de polir petites imperfeccions que per un mateix no érem capaços de detectar.

RESUMEN

El Alzheimer es una de las enfermedades que afectan a la población más envejecida. Esta es una de las principales demencias y en la actualidad no existe una cura. Este afecta al sistema nervioso y a sus células, deteriorando el cerebro, causando que el enfermo pierda facultades cognitivas, incluso, puede llegar a provocar la muerte del afectado. Como sociedad nos enfrentamos a un aumento de la población de mayor edad, cosa que puede derivar en un aumento de pacientes con Alzheimer. Ante tal amenaza, los investigadores están trabajando para encontrar un tratamiento que pueda frenar dicha enfermedad.

Encontramos que hay dos teorías sobre cómo el Alzheimer se desarrolla, una se le atribuye a la conformación β -amiloide, teoría que ha estado en la cabeza de la investigación, aunque la segunda teoría basada en los ovillos que genera la proteína Tau está ganando importancia. Es por esto, que este trabajo se fundamenta en evaluar la eficacia de un fármaco para erradicar los agregados de Tau en pacientes con Alzheimer. Este trabajo se ha podido realizar gracias a la colaboración de la investigadora Julia Sala Jarque y al IBEC, que ha cedido sus instalaciones para ejecutar la parte práctica.

ABSTRACT

Alzheimer is one of the diseases that affects the oldest population. It is recognized as one of the principal dementias and it doesn't have any cure. It disrupts the nervous system and its cells, damaging the brain, causing a strip of cognitive faculties, and even, it can bring about the affected death. As a society we are facing older people increasing, a fact which could cause a rising number of Alzheimer's patients. In the presence of such a threat, researchers are working in order to find a treatment capable to stop Alzheimer's disease.

We can find two different theories about how Alzheimer is developed, one is addressed to β -amyloid conformation, a theory that has been in the research top, although, the second theory based on Tau tangles is earning importance. Is because of that, that this research project is substantiated in assessing drug efficiency so as to eradicate Tau's tangles in Alzheimer. That project had been done thanks to the researcher Júlia Sala Jarque and IBEC, that have relinquished their laboratories for doing the experimental part.

ÍNDIX

INTRODUCCIÓ	1
1. EL SISTEMA NERVIÓS	3
1.1. Estructura del sistema nerviós	3
1.1.1. El sistema nerviós central	3
1.1.1.1. L'encèfal	4
1.1.1.2. La medul·la espinal:	5
1.1.2. El sistema nerviós perifèric (SNP)	6
1.2. Funcions del sistema nerviós	6
1.3. Les cèl·lules del sistema nerviós	6
1.3.1. Les neurones	6
1.3.2. Les cèl·lules glials	8
1.4. Les connexions neuronals	9
1.4.1. L'impuls nerviós	9
1.4.2. La sinapsi	10
1.4.2.1. Els microtúbuls	10
2. L'ALZHEIMER	11
2.1. Síntomes	11
2.1.1. Síntomes clínics	11
2.1.2. Síntomes conductuals i psicològics	12
2.1.3. Síntomes neuropatològics	13
2.1.3.1. Estats de Braak	14
2.2. Les dues teories de l'Alzheimer	15
2.3. Detecció de la proteïna Tau en l'Alzheimer	16
2.4. Tractament	16
2.4.1. Tractament farmacològic	16
2.4.2. Tractament no farmacològic	17
3. LA PROTEÏNA TAU	18
3.1. Síntesi	18
3.1.1. Transcripció	18
3.1.1.1. Splicing alternatiu	19
3.2. Funcions	21
3.3. Agregats	21
3.3.1. Causa dels agregats	23
PART PRÀCTICA	24
1. MATERIAL	25
1.1. Equipament general	25
1.2. Equipament addicional	25
1.3. Material bàsic	25

2. PROTOCOL	26
2.1. Coating de la placa de cultiu	26
2.2. Obtenció de les cèl·lules	26
2.3. Recompte de les cèl·lules	27
2.4. Sembra de les cèl·lules	28
2.5. Tractament de les cèl·lules	28
2.6. Fixació i observació al microscopi	29
RESULTATS	31
1. Comparació imatges	31
DISCUSSIÓ	33
CONCLUSIONS	34
BIBLIOGRAFIA	36

INTRODUCCIÓ

Aquest treball ha nascut de la motivació i amor per la ciència. Després d'una intensa recerca per aconseguir el tema ideal, se'm va presentar una gran oportunitat en una xerrada de Bojos per la Bioenginyeria. En una de les sessions la investigadora Júlia Sala ens va fer una presentació sobre les malalties neurodegeneratives. Ho va explicar de tal manera que vaig quedar tan captivada per aquest tema, que quan ens va proposar de poder fer el treball amb la seva ajuda no ho vaig dubtar ni un segon. La neurologia conjuntament amb la psicologia sempre han sigut dos afers pels quals he tingut molt interès i curiositat.

Entendre com funciona el nostre cervell em fascina i és impressionant com una cosa tan petita és capaç de controlar tot el nostre cos. L'encarregat que això sigui possible és el sistema nerviós, que a través dels nervis conformats per les neurones envien la informació arreu del cos. En les malalties neurodegeneratives les neurones van morint progressivament, deteriorant aquest sistema fins a provocar la mort.

Actualment, al món hi ha 868 milions de persones que superen els seixanta anys, això és un 12% de la població mundial. S'estima que l'any 2050 aquest percentatge augmenti fins al 21%, estem parlant d'aproximadament 2.000 milions de persones. L'envelliment és la principal causa de les malalties neurodegeneratives i de cara un futur es convertirà en un dels majors problemes de la medicina. Aquestes malalties no tenen una cura i les causes de desenvolupar-les són molt variades, des de factors mediambientals, com físics o genètics.

Davant d'aquest repte ens hem de plantejar noves perspectives de com funciona aquesta malaltia. L'Alzheimer es pot tractar des de dos punts de vista, un que té com a focus principal la proteïna β -amiloide i l'altre que té el punt de mira a la proteïna Tau. Ambdues són proteïnes que perden la seva estructura nativa i generen agregats, els quals són els encarregats de malmetre les neurones fins a provocar la seva mort. Aquest treball se centra en la proteïna Tau, tot i que és la teoria menys estudiada, a poc a poc va guanyant protagonisme. Si estudiéssim la malaltia des d'aquest punt de vista, es podria arribar a revolucionar tots els coneixements sobre la neurodegeneració i es podria trobar una cura o medicament que ajudés a frenar els agregats de Tau. La intenció d'aquest treball és aprofundir en aquesta idea i poder afirmar o negar aquesta hipòtesi.

Per poder obtenir una resposta cal comprendre diversos temes. Començarem estudiant el sistema nerviós, explicant conceptes com la neurona, les connexions neuronals, la seva estructura i les seves funcions, aquesta serà la nostra base de partida. Com s'ha mencionat anteriorment l'Alzheimer és causat per mutacions en algunes proteïnes, més concretament en la seva estructura. Els agregats es

transmetent d'una neurona a una altra provocant la seva mort i expandint-se per tot el cervell i causant a l'afectat la mort.

Finalment, vull remarcar una última motivació personal per la qual faig aquest treball. Fa cinc anys el meu avi va morir perquè el cor se li va parar. Ell patia Parkinson i he vist com la malaltia l'anava debilitant a poc a poc. He estat allà cada cop que s'havia de prendre les pastilles, com tenia espasmes i tics musculars involuntaris, i per desgràcia també he vist com el seu cervell s'anava deteriorant. Tot i no ser la mateixa malaltia que tractarem, es basa en la mateixa teoria, té el mateix desenllaç i comparteixen alguns símptomes. Soc conscient, per experiència pròpia, del patiment dels afectats per malalties neurodegeneratives, veure com el teu cos i cervell es va deteriorant lentament és molt difícil, tant com per al malalt com pels familiars.

Gràcies a l'oferta de la investigadora Júlia Jarque he tingut l'oportunitat de realitzar l'apartat pràctic en el laboratori de l'IBEC (Institute from bioengineering of Catalonia) on vaig estar dos dies. Allà vaig treballar amb un fàrmac experimental que una empresa va enviar per tal d'avaluar la seva efectivitat. La finalitat del fàrmac consisteix a reduir l'agregació de la proteïna Tau en pacients amb Alzheimer. Mitjançant un procés vam inserir el tractament en diversos cultius de cèl·lules i canviant la concentració d'aquest en cada un. Finalment, vam veure els resultats amb un microscopi de fluorescència i vam examinar cada concentració i la seva efectivitat.

1. EL SISTEMA NERVIÓS

El sistema nerviós és un dels sistemes més importants i complexos del cos humà. Aquest té diverses funcions, però destaca per ser l'encarregat de reescriure i processar tota la informació que prové tant de l'interior del cos com de l'entorn, amb la finalitat de regular el funcionament dels altres òrgans i sistemes. El sistema compta amb més de 100 bilions de neurones i tres o quatre cops més de cèl·lules glials. Aquest nombre de cèl·lules conforma xarxes i circuits neurals especialitzats a processar determinat tipus d'informació o expressar cert tipus de conducta.

El sistema nerviós és comú en l'ésser humà i en la majoria dels animals cordats, els artròpodes, els mol·luscs, platihelminths i cnidaris. Altres grups d'animals com els protozoous, els porífers i les plantes, en canvi, no posseeixen un sistema nerviós diferenciat.

1.1. Estructura del sistema nerviós

El sistema nerviós està principalment compost per dos sistemes més petits: El sistema nerviós central (SNC) i el sistema nerviós perifèric (SNP). Tots dos compten amb neurones i glies com a cèl·lules principals, però cada un s'encarrega de fer funcions diferents.

El sistema nerviós central està subdividit en la medul·la espinal i encèfal. Per un altre costat, el sistema nerviós perifèric està compost pels ganglis raquidis on estan les neurones sensorials i els nervis perifèrics.

1.1.1. El sistema nerviós central

Entre les seves funcions està la regulació d'intercanvi de substàncies entre el sistema nerviós i la sang, actuar com a sistema d'eliminació de productes residuals, mantenir l'equilibri iònic adequat i proporcionar amortiment i protecció mecànica.

Les cèl·lules del SNC s'organitzen de tal manera que formen dues substàncies que es diferencien pel seu color, la substància grisa (el còrtex cerebral), formada pel cos de les neurones, i la substància blanca (àrea subcortical) , composta principalment per les prolongacions nervioses (dendrites i axons), que la seva funció és conduir la informació.

La Mel·lina és un material compost per proteïnes i greixos que envolta i protegeix les fibres nervioses del SNC que facilita la conducció de l'impuls nerviós.

L'encèfal anterior és considerat el lloc dels processos cognitius, el tronc encefàlic de les funcions reguladores com ara beure, menjar, dormir... i la medul·la espinal de

funcions motores més complexes. Així i tot, la majoria de les conductes no són productes d'un únic nivell funcional, sinó que està involucrat tot el sistema nerviós.

1.1.1.1. L'encèfal

És la part central de sistema nerviós, només el tenen els animals vertebrats. El situem en el cap i està protegit pel crani.

L'encèfal està compost pel cervell, el cerebel i el bulb raquidi.

El cervell és l'òrgan més important d'aquest sistema. Controla la major part de l'activitat del sistema nerviós. El seu pes és d'aproximadament 1,5 kg, està dividit per un solc central en dues meitats anomenades hemisferis cerebrals. Dintre d'aquesta divisió trobem que el cervell també està dividit en més parts depenent de la seva funció, *figura 1*.

- **Còrtex cerebral:** L'escorça cerebral està formada per substància grisa i adopta forma de protuberàncies i circumvolucions. El còrtex està dividit en dos hemisferis: el dret i l'esquerre. Aquest estan separats per la fissura interhemisfèrica i units per una estructura anomenada cos callós. Això permet la transmissió d'informació entre tots dos hemisferis.
- **Lòbul frontal:** És on es controla el cervell humà. En aquest lòbul és on s'executen les funcions executives com ara la planificació, el raonament i la resolució de problemes.
- **Lòbul temporal:** En aquest lòbul trobem el processament auditiu i del llenguatge. També té un paper important en la memòria i en la gestió d'emocions.
- **Lòbul parietal:** S'encarrega d'integrar la informació sensorial. Té una forta contribució en el processament del dolor i del tacte entre altres rellevants funcions.
- **Lòbul occipital:** És l'encarregat de la visió, d'analitzar aspectes com la forma, el color i el moviment, per poder interpretar i treure conclusions de les imatges visuals.

El bulb raquidi es troba darrere del cervell i davant del cerebel. Uneix el cervell amb la medul·la espinal. El seu paper consisteix a regular alguns moviments inconscients com ara la respiració, el batec del cor o la pressió sanguínia.

El cerebel és bastant petit i està situat davant del cervell. El cerebel té característiques físiques semblants al cervell, la seva superfície és rugosa, amb clots i elevacions, i està dividit en dos hemisferis. El cerebel és l'encarregat de controlar l'equilibri i coordina, amb ajuda del cervell, els moviments voluntaris.

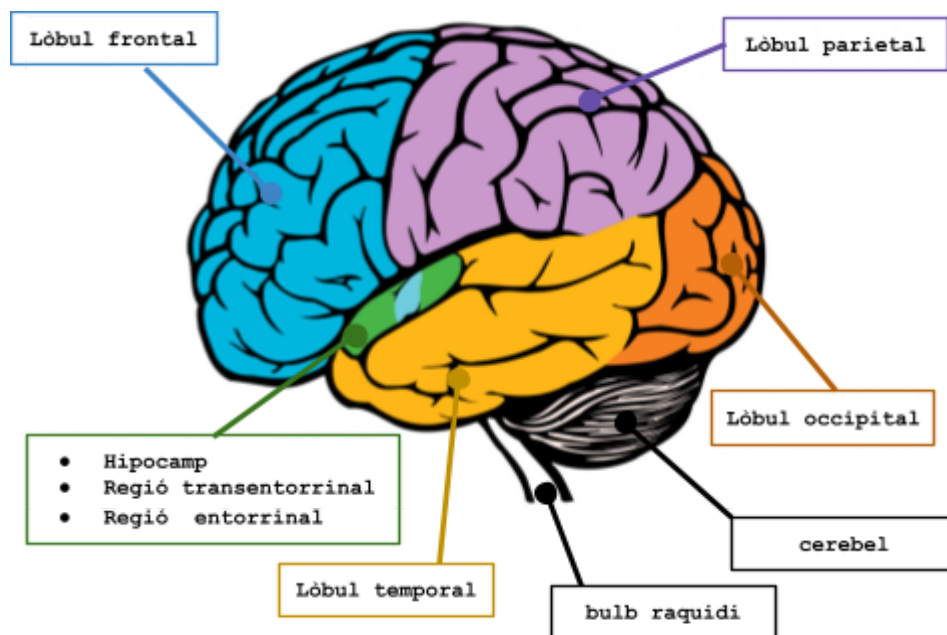


Figura 1: Parts de l'encèfal i el cervell. Font pròpia.

1.1.1.2. La medul·la espinal

La medul·la espinal és una llarga i fràgil estructura fusiforme, que comença al final del tronc encefàlic i continua fins a quasi el final de la columna vertebral. Està constituïda per nervis que transporten els missatges entrants i sortints entre el cervell i la resta de l'organisme. És també el centre regulador de reflexos.

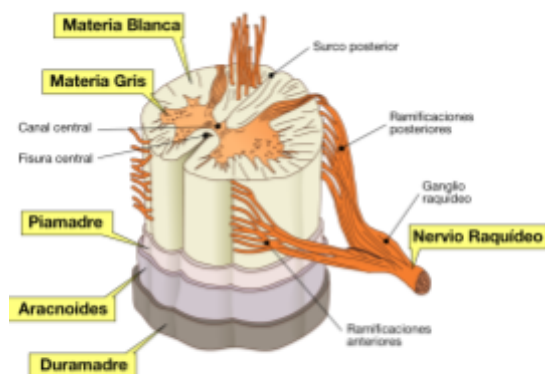


Figura 2: Parts de la medul·la espinal.
<https://sites.google.com/>

La medul·la espinal també compta amb la substància gris i la matèria blanca. Els somes s'agrupen en la substància gris, en canvi, la matèria blanca està formada per agrupacions de projeccions a llarga distància o axons. La substància gris està en el centre on la medul·la té forma de papallona. Les ales davanteres, denominades astes, contenen els cossos cel·lulars de les neurones motores, que són les que transmeten la informació des del cervell o la medul·la espinal fins als músculs i estimulen els moviments. Les astes del darrere contenen el cos de les neurones sensibles,

que transmeten la informació sensorial procedent d'altres parts del cos a través de la medul·la espinal fins a arribar al cervell. La matèria blanca circumdant conté

columnes de fibres nervioses que transporten la informació sensorial al cervell des de la resta del cos, denominades conductes ascendents, i altres que transporten els impulsos des del cervell fins als músculs, els conductes descendents.

1.1.2. El sistema nerviós perifèric (SNP)

L'SNP està format pels nervis i els ganglis. Descrivim els nervis com a manats de prolongacions nervioses de substància blanca en forma de cordons que comuniquen els centres nerviosos amb tots els òrgans del cos. Diferenciem els nervis aferents que transporten senyals sensorials al cervell, dels nervis eferents que condueixen senyals estimulants des del cervell cap als músculs i glàndules.

L'SNP està dividit en dos sistemes més petits, el sistema nerviós somàtic o voluntari i el sistema nerviós autònom o vegetatiu. , que a la vegada està subdividit en els sistemes simpàtic i el parasimpàtic.

1.2. Funcions del sistema nerviós

El sistema nerviós té tres funcions bàsiques: la sensitiva, la integradora i la motora.

- Sensorial: Percep els canvis (estímuls) interns i externs amb els receptors i òrgans receptors. Els canvis inclouen una àmplia gamma de factors físics com la llum, la pressió o la concentració de substàncies químiques dissoltes.
- Integradora: Analitza la informació sensorial i pren les decisions apropiades. S'activa o modifica per la informació que està emmagatzemada i es recupera de la memòria.
- Motora: Provoca respostes de músculs o glàndules. El sistema nerviós pot estimular músculs i glàndules perquè actuïn o inhibir-los

1.3. Les cèl·lules del sistema nerviós

Com s'ha expressat anteriorment, el sistema nerviós està compost per dos tipus de cèl·lules diferents, les neurones i les cèl·lules glia.

Les neurones són les encarregades de transmetre l'impuls nerviós, que realitza la comunicació intracel·lular. Mentre que les cèl·lules glials s'associen a funcions de suport, encara que també estan implicades en els processos de reparació i desenvolupament.

1.3.1. Les neurones

Les neurones tenen una estructura i un funcionament únics, no hi ha cap altra cèl·lula del cos humà igual. Una neurona que podem descriure com a estàndard es caracteritza per tenir un cos neuronal o soma, que conté el nucli i la major part del

citoplasma, amb extensions dendrítiques i un axó, més o menys llarg, que està recobert per una beina de Mel·lina.

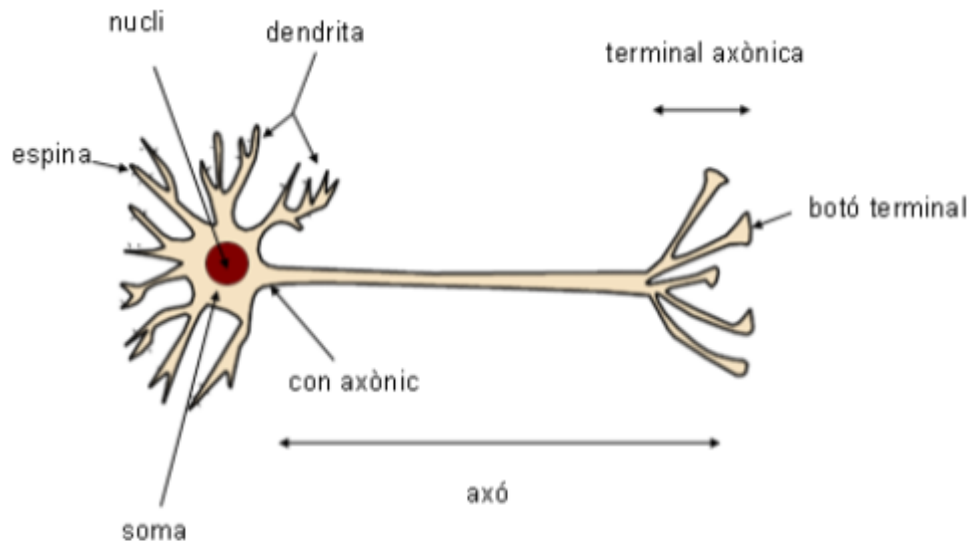


Figura 3: Neurona típica de vertebrat amb les seves principals parts.
<http://cv.uoc.edu/>

El soma o el cos cel·lular és el centre metabòlic on es fabriquen les molècules i s'executen les activitats fonamentals per a mantenir la vida i les funcions de la cèl·lula nerviosa. Conté el nucli de la cèl·lula. L'axó és una prolongació llarga que surt del soma. La seva principal funció és la de conduir informació codificada en forma de potencials d'acció, permetent que la informació pugui viatjar des del soma fins al botó terminal. En la seva part més distal es divideix i es ramifica. En l'extrem de les ramificacions es troben petits engrossiments anomenats botons terminals. Aquests tenen la funció de secretar determinades substàncies, denominades neurotransmissors. Les dendrites es caracteritzen per semblar branques d'un arbre. Són ramificacions que surten del cos cel·lular i la seva funció principal és la de rebre informació d'altres neurones. Contenen espines dendrítiques, que són unes petites protuberàncies.

Podem diferenciar les neurones de dues maneres, des d'un punt de vista morfològic o des d'un vessant funcional. Morfològicament parlant, podem dividir les neurones en tres categories diferents: Unipolars, amb una sola projecció des del soma, la zona més gruixuda que conté el nucli cel·lular. Bipolars, amb dues projeccions que

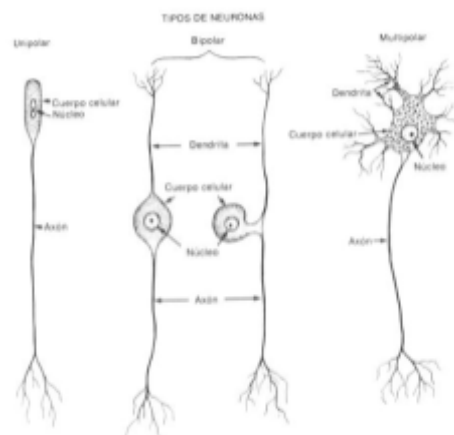


Figura 4: classificació de neurones segons la seva morfologia.
<https://educaciondigital.cat/>

surten del soma. I finalment les multipolars, tenen múltiples extensions dendrítiques i una sola extensió axonal. Per una altra banda, si ens fixem en la seva funcionalitat les podem classificar en: aferents o sensibles, reben senyals, com ara els receptors sensorials. Aferents o motores, envien senyals, són pròpies del SNC. I les interneurons, transmeten senyals entre altres dues neurones, també són pròpies del SNC.

L'especialització de les neurones consisteix a processar i transmetre informació. La informació la transmeten pel llarg de la seva superfície en forma de corrent elèctric iònic.

1.3.2. Les cèl·lules glials

Les cèl·lules glials es troben al voltant de les neurones i desenvolupen funcions de suport i metabòliques. Un conjunt de cèl·lules glials s'anomena neuròglia. En el sistema nerviós trobem quatre tipus de cèl·lules glials.

- **Els astròcits:** Són les cèl·lules glials més abundants i es denomina d'aquesta manera per la seva forma estrellada. Del seu cos cel·lular surten múltiples extensions cap a totes les direccions. Les seves funcions principals són: donar suport estructural, els trobem entre les neurones i proporcionen suport físic a les neurones i consistència a l'encèfal; separen i aïllen les neurones, fixen les neurones en un lloc concret mantenint una distància entre elles, per evitar que es barregin els missatges neuronals; capten i emmagatzemen neurotransmissors. També contribueixen en la reparació i la regeneració del SNC, els astròcits tenen la capacitat de dividir-se, quan es produeix una lesió en el SNC els astròcits proliferen i emeten un nombre més gran de prolongacions. Els astròcits mitjançant la fagocitosis netegen la zona lesionada. A més a més, regeneren la lesió. Finalment, són els encarregats de subministrar els nutrients a les neurones.
- **La micròglia:** cèl·lules petites que es troben per tot el SNC. Les seves funcions principals són: fagocitar rebuïjos neuronals, protegir l'SNC davant microorganismes invasors i intervenir en els processos d'inflamació cerebral després d'una lesió o dany.



Figura 5: Cèl·lula astròglia.
<http://cv.uoc.edu/>

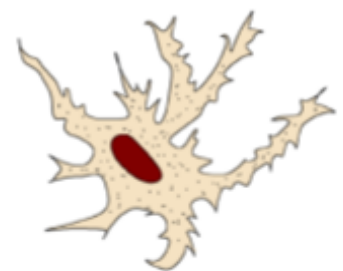


Figura 6: Cèl·lula micròglia.
<http://cv.uoc.edu/>

- **Els oligodendròcits:** Aquesta cèl·lula es troba únicament en l'SNC. Formen la baina de mielina dels axons del SNC, un sol oligodendròcit pot mielinitzar diferents segments de mielina de vint a seixanta axons diferents. Aquestes cèl·lules tenen una funció protectora sobre els axons no mielinitzats, ja que els envolten i els mantenen fixos.

1.4. Les connexions neuronals

1.4.1. L'impuls nerviós

L'impuls nerviós és generat per una sèrie de canvis físics i químics en la superfície i l'interior de la cèl·lula i mediatitza la informació.

La neurona com qualsevol altra cèl·lula del cos humà té una membrana que separa el medi intern del medi extern. Aquesta membrana permet que hi hagi una diferència de concentració d'ions positius i negatius. Quan una neurona es troba en repòs, no transmet l'impuls nerviós, al seu exterior hi ha una concentració de sodi superior, i a l'interior una més elevada de proteïnes i potassi. Aquesta desigualtat de concentració d'ions permet el potencial de membrana, que consisteix en la diferència de potencial entre el medi intern i l'extern.

Gràcies a un mecanisme bioquímic anomenat bomba de sodi aquesta diferència es manté entre uns -60 a -70 mV dins la cèl·lula, perquè la bomba de sodi treu sodi a fora de la membrana per tal de compensar les entrades i sortides d'ions.

L'impuls nerviós es desencadena quan algun factor augmenta sobtadament la permeabilitat de la membrana per al sodi, i aquest element es precipita a l'interior de la neurona. En principi, la bomba de sodi s'oposa a la seva entrada i la neutralitza, però, si l'estímul és prou intens, se supera la capacitat de la bomba de sodi d'expulsar-ne a l'exterior i, amb entrada massiva, augmenta la concentració d'ions positius intracel·lulars. Així s'inverteix la diferència de potencial, procés anomenat despolarització, i s'atenyen uns +40 mV a l'interior cel·lular.

Aquest potencial invertit, anomenat potencial d'acció, només es produeix quan l'estímul és prou intens per a superar l'acció de la bomba de sodi. Els factors que poden generar un potencial d'acció són molt diversos: es pot tractar d'un estímul elèctric, l'acció d'alguns productes químics anomenats neurotransmissors, una lesió mecànica, com una punxada o una pessigada, o un canvi tèrmic, com ara el fred o la calor.

1.4.2. La sinapsi

Quan l'impuls nerviós arriba a l'extrem terminal de la neurona provoca l'exocitosi de les vesícules carregades de neurotransmissors. Aquest fet permetrà l'obertura dels canals iònics de la membrana postsinàptica, que faran possible que l'impuls nerviós es transmeti.

Les sinapsis són espais molt petits especialitzats entre les neurones. Els impulsos elèctrics que arriben a la terminal de l'axó fan que s'alliberi els neurotransmissors (missatgers químics), que es difonen a través de l'escletxa sinàptica fins a trobar els receptors de la dendrita adjacent. Un cop arriben als receptors, causen canvis en la cèl·lula i genera un altre impuls nerviós. Un cop el neurotransmissor es deslliga del receptor es metabolitza o se'n torna a internalitzar en una neurona per poder ser reutilitzat.

Diem que els neurotransmissors són substàncies que quan interactuen amb un receptor provoquen l'obertura dels canals iònics. Aquests canvien la permeabilitat de la membrana per algun ió. També poden actuar directament sobre un receptor ionotrópic o per mitjà de sistemes de segons missatgers.

1.4.2.1. Els microtúbuls

Per tal de poder realitzar la sinapsi s'han de transportar molècules i òrgànuls a través de l'axó fins a la sinapsi, d'això s'encarreguen els microtúbuls. Els microtúbuls estan compostos per la unió de les proteïnes globulars α -tubulina i β -tubulina que es transformen en protofilaments i formen una estructura tubular. Per mantenir l'estabilitat del microtúbul s'utilitzen un grup de proteïnes anomenat MAPs (*microtubular associated proteins*). En aquest grup trobem les proteïnes MAP-2, MAP-4 i Tau. La proteïna Tau forma el 80% d'aquest grup.

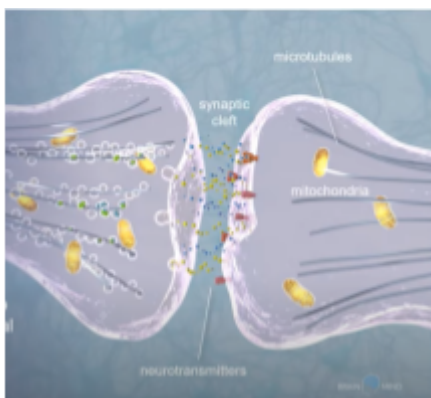


Figura 7: Procés de sinapsi entre dues neurones. S'observen els microtúbuls amb els mitocondris i les vesícules amb els neurotransmissors. <https://www.youtube.com/>

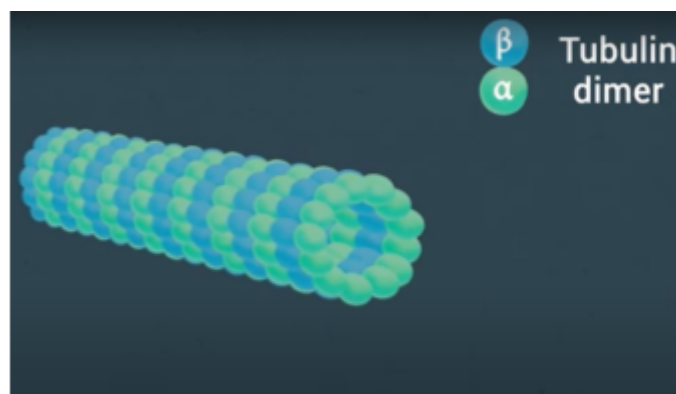


Figura 8: Estructura microtúbul on s'observen les dues tubulines que el formen. <https://www.youtube.com/>

2. L'ALZHEIMER

L'Alzheimer és la tautopatía més comuna i la causa més gran de demència associada a l'edat, per això és la més estudiada. Es caracteritza pel deteriorament cognitiu progressiu que afecta tant a la pèrdua d'informació referent a la memòria, orientació i llenguatge, com a la personalitat, comportament o l'habilitat per resoldre problemes.

Podem diferenciar dos tipus d'alzheimer si ens referim a les causes de desenvolupament de la malaltia: el familiar (5% dels casos diagnosticats), que és hereditari i apareix aproximadament al voltant dels quaranta anys, i l'espòròdic (95% dels casos diagnosticats), que no té un factor hereditari tan marcat, sinó que sorgeix arran d'altres factors i apareix al voltant dels seixanta-cinc anys. Així i tot, ambdós comparteixen el mateix patró anatòmic-patològic i els símptomes clínics.

2.1. Síntomes

2.1.1. Síntomes clínics

Els símptomes clínics d'aquesta demència són la pèrdua de la memòria progressivament, del pensament i la conducta fins a tal punt que al final el pacient no podrà dur a terme la seva vida quotidiana. Els símptomes els dividim en tres estats principals:

- **L'estat inicial (demència lleu):** Aquí trobem els primers símptomes com ara alteracions de la memòria, que solen ser obllits i dificultat per retenir la memòria.
- **L'estat intermedi (demència moderada):** A mesura que la malaltia es va desenvolupant el pacient comença a patir alteracions en el llenguatge, com la pèrdua de vocabulari i comprensió, i de la capacitat d'orientació, confusió dels llocs i dates. El malalt se li fa complicat manipular objectes d'ús quotidià, vestir-se correctament, escriure o dibuixar, mantenir l'atenció i inhibir emocions o comportaments inapropiats.
- **L'estat avançat (demència severa):** En el tram final de la malaltia la persona afectada perd la capacitat de parlar, entendre, caminar, menjar o rentar-se, presenta incontinència urinària i fecal, i pot arribar a no reconèixer alguns dels seus familiars més propers.

Cal remarcar que l'Alzheimer té un període preclínic asimptomàtic molt llarg en el qual es comencen a produir alteracions a escala molecular, que no es reflecteixen en la simptomatologia.

2.1.2. Síntomes conductuals i psicològics

L'Alzheimer en ser una malaltia de deteriorament cognitiu no només afecta la integritat del sistema nerviós, també provoca canvis psicològics i conductuals en la persona. A mesura que el pacient va desenvolupant la malaltia cada cop pateix més trastorns del comportament i de l'estat d'ànim, donant com a resultat deliris, al·lucinacions, agitació, agressivitat, depressió i insomni. Aquests símptomes són els que afecten més al benestar del pacient, del cuidador i de l'entorn familiar. Acostumen a ser transitoris i poden millorar gràcies a tractaments. Solen aparèixer durant les dues primeres fases de la malaltia, ja que en l'última el deteriorament és tan gran que l'afectat no té la capacitat d'expressar-los.

- **Deliris**

La freqüència dels deliris varia depenent de les sèries consultades, però podem dir que ronda entre el 25-75% dels casos. Els deliris es consideren com a trastorns del pensament en els que s'expressa una idea o realitat errònia o impossible. El pacient perd tot el contacte amb la realitat, i per això no s'ha d'intentar convèncer al malalt del seu error, perquè no n'és conscient d'aquest. Els deliris d'un pacient d'Alzheimer no acostumen a tenir un grau d'estructuració i elaboració tan complexes com en altres patologies psiquiàtriques. Normalment, el deliri ve acompanyat d'altres manifestacions, destacant l'agressivitat tant verbal com física.

- **Al·lucinacions**

Són percepcions sensorials (visuals, auditives, olfactives...) anòmales, que no han tingut lloc en la realitat, però que el pacient percep com certes. L'afectació dels òrgans dels sentits que provoca l'envelliment ajuda que passin. Les tasses dels afectats és del 15-50%, amb major predisposició cap a les al·lucinacions visuals, seguides de les auditives. A mesura que progressa la malaltia, les al·lucinacions són més freqüents i més consolidades.

- **Anomalies en el reconeixement (Falses identificacions)**

Tracta d'identificacions errònies de persones o objectes. És difícil identificar quan passa, ja que es confon amb les agnòsies, els deliris i les al·lucinacions. Apareixen en el 25-50% dels casos. Hi ha diversos casos, com ara falsos reconeixements de familiars.

- **Trastorns de la personalitat**

És el símptoma més prevalent en l'Alzheimer, apareixent en un 95% dels casos. En la seva gènesi intervé la dificultat que presenta el pacient per adaptar-se a situacions de la vida diària i les respostes descoordinades d'aquests. Apareixen en estadis precoços, de vegades és el primer símptoma a sortir. Normalment, els afectats es

tornen més intransigents, rígids i agressius... altres cops es tornen apàtics amb tendència a la desinhibició, egocèntrics, perden l'interès en ells mateixos i per l'entorn...

- **Trastorns del comportament**

- **Vagabundegi:** És la tendència al passeig erràtic i sense rumb que presenten els dements. Durant les nits incrementa aquest factor, ja que es desorienten més. Un 60% dels malalts el pateixen.
- **Inquietud o agitació psicomotriu:** És la necessitat d'estar movent-se constantment o manipulant objectes. A vegades s'acompanya d'altres alteracions com ara l'ansietat, l'insomni... Apareix durant les fases intermèdies i avançades.
- **Agressivitat:** Pot ser verbal manifestada de manera hostil a través d'insults i crits, o bé física contra el seu entorn o contra ells mateixos. Pot aparèixer en qualsevol fase de la malaltia, encara que se sol trobar durant la moderada. És molt complicat tractar amb aquests pacients.
- **Disfuncions sexuals:** En la gent que pateix una demència són freqüents i poden tenir un ampli ventall de presentació, des de l'apatia, l'exhibicionisme, tocaments, activitat sexual compulsiva, canvi en l'apetència del sexe...
- **Trastorns alimentaris:** Podem trobar casos d'anorèxia extrema fins a la bulímia més compulsiva. O fins i tot alternant entre tots dos trastorns.
- **Depressió:** La demència incrementa de tres a quatre cops el risc de desenvolupar una depressió. La depressió es troba en un 30-50% dels afectats. Apareix durant les fases inicials de la malaltia, quan el malalt encara percep els errors i les llacunes.
- **Insomni:** És un dels trastorns més comuns entre els malalts d'Alzheimer. És causat per una desorientació nocturna, així com la irritabilitat i l'agitació que els hi produeix.

2.1.3. Síntomes neuropatològics

Quan parlem en l'àmbit de la neuropatologia, les alteracions en l'Alzheimer són clarament distintives. Macroscòpicament, s'observa una remarcable atrofia en la malformació de l'hipocamp i les àrees corticals com el lòbul temporal i el frontal, acompanyat d'una dilatació dels ventricles.

Mentre que microscòpicament, hi ha diverses alteracions en diverses zones del cervell com ara l'hipocamp, el neocòrtex, i algunes zones subcorticals.

2.1.3.1. *Estats de Braak*

L'any 1991 Heiko i Eva Braak van proposar sis estats fent referència als diversos punts durant el desenvolupament de la malaltia i la progressió dels agregats de la proteïna Tau utilitzant l'anticòs AT8 (**figura**):

- **Estat I:** Consta d'alteracions en la regió transentorrinal, on comencen a visualitzar-se neurones immunoreactives per l'anticòs AT8 (AT8-ir) que demostren marcatge tant en el soma com en les prolongacions cel·lulars.
- **Estat II:** En aquest cas les alteracions van des de la regió transentorrinal fins a la regió entorrinal, especialment afectant les capes superficials del còrtex. A més a més, neurones AT8-ir comencen a aparèixer en les àrees de l'hipocamp com CA1 i CA2.
- **Estat III:** La regió entorrinal mostra una major densitat de neurones AT8-ir i aquestes comencen a arribar al còrtex temporal. Les àrees CA1 i CA2 de l'hipocamp també tenen major densitat de neurones AT8-ir que comencen a arribar a la zona CA3.
- **Estat IV:** En les regions prèviament afectades la densitat de neurones AT8-ir encara augmenta més. Comencen a aparèixer més neurones AT8-ir en les regions del subicular i CA4 de l'hipocamp. La patologia avança cap a les regions del neocòrtex, observant un gran nombre de neurones AT8-ir en el còrtex temporal. El còrtex occipital es manté intacte.
- **Estat V:** La patologia avança per lòbul temporal arribant a altres regions corticals del lòbul frontal, parietal i occipital. La regió visual primària mostra molt pocs signes de la patologia, amb escassos filaments de neuròpil i alguna neurona AT8-ir molt aïllada.
- **Estat VI:** En l'últim estat gairebé totes les àrees del neocòrtex es veuen afectades per la malaltia, exhibint un gran nombre de neurones AT8-ir. I en la regió occipital la patologia arriba a la zona de l'estriat.

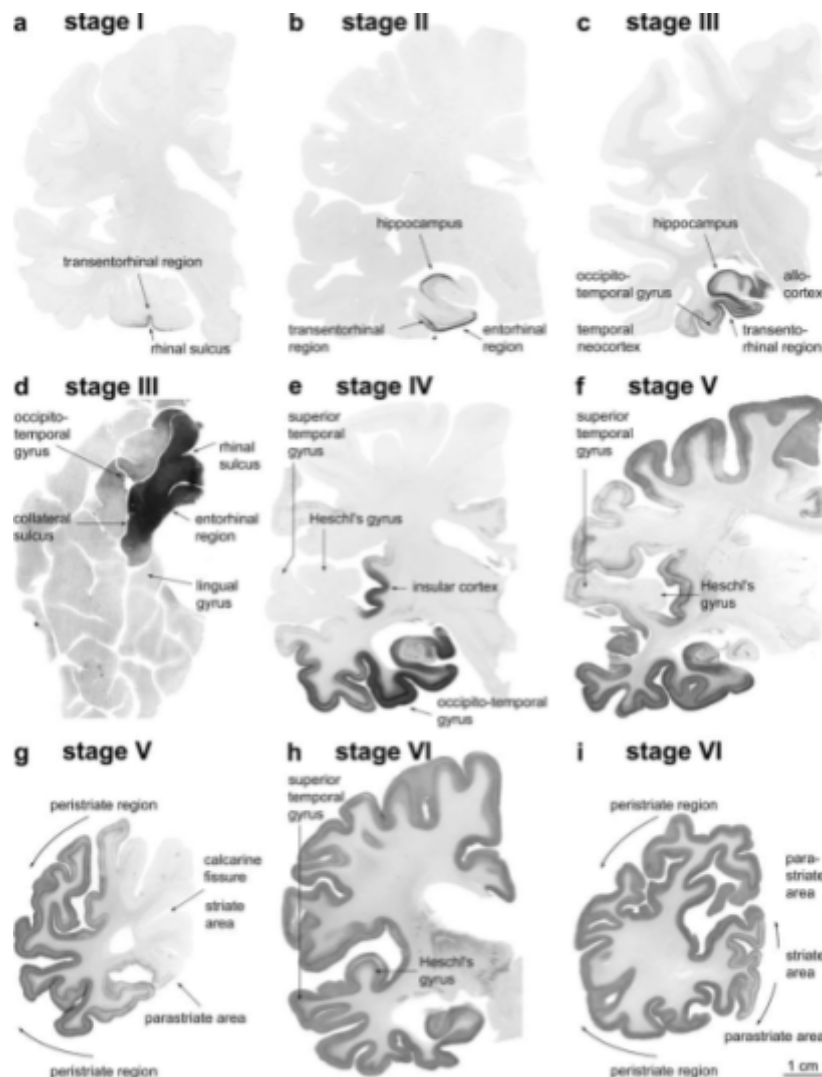


Figura 9: Estats de braak i el deteriorament del cervell en la malaltia Alzheimer. <https://bbe.divisions.caltech.edu/>

2.2. Les dues teories de l'Alzheimer

Alòis Alzheimer, l'home que va descobrir la malaltia de l'Alzheimer i que li van posar el seu nom, va ser el primer a descriure els dos elements més distintius d'aquesta patologia: les plaques senils i cabdells neurofibril·lars. També existeixen altres alteracions secundàries comunes, com ara les restes de neurites distròfiques i els filaments de neuròpil, així com la micròglia activada i els astròcits reactius, i altres menys freqüents, com l'aparició dels cossos d'Hirano, la degeneració granulovacuolar entre i l'angiopatia amiloide. A més a més, L'Alzheimer se sol desenvolupar a la vegada que altres patologies que són causades per les alteracions en les proteïnes α -sinucleïna i TDP43.

Les plaques senils o plaques d'amiloide- β , es generen a causa de l'acumulació extracel·lular anòmla dels pèptids β -amiloide 40 (A β 40) i β -amiloide 42 (A β 42) que resulten d'un processament anormal de la proteïna precursora d'amiloide junt amb les restes de dendrites o exons degenerats i fragments de les cèl·lules glia, així com fibres de la proteïna Tau hiperfosforilada. Un estudi publicat per *Furcila i col·laboradors l'any 2018* descriu la presència, en cervells de pacients amb Alzheimer de plaques senils compostes únicament pel pèptid β -amiloide, plaques mixtes compostes per la proteïna Tau hiperfosforilada i el pèptid A β , i plaques senils compostes únicament per restes de neurones i fibres de la proteïna Tau hiperfosforilada, sent les segones més freqüents i les últimes les menys freqüents.

2.3. Detecció de la proteïna Tau en l'Alzheimer

Tradicionalment, la detecció d'agregats de Tau intracel·lulars sempre s'ha fet mitjançant mètodes de tinció histològica, com la tinció de plata de Bielschowsky o la tioflavina-S. A mesura que ha passat el temps les tècniques han anat canviant, s'han desenvolupat anticossos específics per la detecció de la proteïna Tau Hiperfosforilada o determinades conformacions d'aquesta, facilitant l'estudi dels cabdells neurofibril·lars intracel·lulars i els filaments de neuròpil, així com la seva localització i composició.

2.4. Tractament

De moment encara no s'ha descobert cap tractament capaç de curar l'Alzheimer, i un cop desenvolupada la malaltia estarà present per la resta de la vida del pacient. Així i tot, hi ha tractaments que ajuden al malalt a portar una vida millor i més tranquil·la i a la vegada allargar-la. Per això els fàrmacs que s'administren als pacients tenen com a objectiu preservar les seves habilitats, minimitzar els trastorns del comportament, alentir la progressió de la malaltia i mantenir la qualitat de vida. Els tractaments farmacològics es recomana de combinar-los amb altres que no ho són.

2.4.1. Tractament farmacològic

Els tractaments farmacològics actuals són capaços d'alleujar els símptomes, però tenen un benefici limitat.

Trobem que el donepezil, la galantamina i la rivastigmina són inhibidors de l'acetilcolinesterasa (IACE), aquest enzim hidrolitza l'acetilcolina impedit la seva correcta funció. L'acetilcolina és un neurotransmissor que té un paper clau en la conservació de la memòria. Aquests tres fàrmacs tenen la capacitat d'augmentar la concentració de l'acetilcolina en el cervell i, per tant, poden minimitzar els símptomes de l'Alzheimer en alguns pacients.

Per una altra banda, la memantina pot protegir les neurones i restaurar-ne la funcionalitat, i també alleujar els símptomes de la malaltia. Se sol utilitzar en fases bastant avançades.

A més a més, probablement els pacients s'hauran de medicar amb altres tractaments pels possibles problemes de comportament.

2.4.2. Tractament no farmacològic

El tractament no farmacològic complementa al tractament farmacològic i ajuda que el pacient porti una vida més plena. Com a mesures no farmacològiques trobem l'estimulació física i cognitiva, i l'estimulació de les activitats de la vida diària i la dieta, com a exemples. Aquestes mesures activen les funcions intel·lectuals de la persona afectada, afavoreixen les relacions socials i la connexió amb l'entorn familiar, augmenten la independència i l'autoestima, ajuden al pacient i la família a acceptar i assumir la malaltia, i milloren la qualitat de vida.

3. LA PROTEÏNA TAU

Com ja s'ha comentat anteriorment, una de les causes principals de l'Alzheimer és l'agregació de la proteïna Tau. Aquesta forma part d'una família més gran que s'anomena proteïnes associades als microtúbuls (MAP) i que en éssers humans es troben en les neurones. Anomenem tautopaties aquelles malalties que són provocades per la presència d'agregats intracel·lulars de la proteïna Tau, com per exemple l'Alzheimer. Les tautopaties s'expandeixen seguint un patró espacial i temporal determinat que varia segons la malaltia. Aquest avenç o evolució d'autoreplicació es coneix com a *seeding*. El *seeding* consisteix que dintre d'una neurona es formen els agregats de la proteïna Tau, que posteriorment s'alliberaran fora de la cèl·lula i els captaran altres neurones o cèl·lules de glia. Un cop l'agregat entra dintre d'una cèl·lula sana actuarà com a *seed* (llavor) que s'encarregarà de reclutar proteïnes Tau sanes.

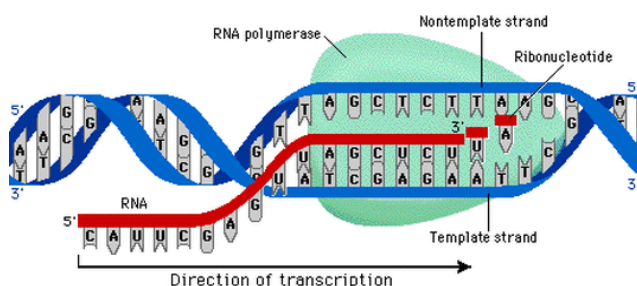
3.1. Síntesi

La proteïna Tau està codificada per un sol gen anomenat MAPT, situat al cromosoma 17. El trobem tant en el cervell com en els teixits perifèrics, com ara la retina o el múscul esquelètic.

Per tal de formar la proteïna se segueix el que es coneix com a transcripció i traducció, d'on passem de tenir el gen MAPT a la proteïna TAU.

3.1.1. Transcripció

Com tots sabem l'ADN on trobem el gen MAPT està dintre del nucli i és incapaç de sortir fora d'aquest. Llavors necessitem una molècula capaç de transportar aquesta informació fins als ribosomes on es farà la traducció. Aquesta molècula és l'RNA missatger (RNAm).



El RNAm se sintetitza com a còpia d'una de les dues cadenes del DNA, però en comptes de tenir una Timina (T) se substitueix per Uracil (U). Per crear aquesta cadena utilitzem l'enzim RNA polimerasa. Aquest actua en un punt concret de l'ADN i el desnaturalitzen separant les dues

Figura 10: Transcripció d'una cadena de DNA per tal d'obtenir una molècula de RNA. <https://selectivitatbiologia>

cadena. Des d'aquest punt l'RNA polimerasa comença a sintetitzar una cadena de RNAm que serà complementària a una de les cadenes del DNA, això vol dir que per

cada nucleòtid amb una base nitrogenada diferent, l'enzim acobla un nucleòtid amb la base nitrogenada complementària, veiem la complementarietat en la figura 10.

El RNAm s'anirà formant fins a arribar a un codó que determinarà el final de transcripció i la macromolècula de RNAm es desprendrà. A mesura que l'enzim RNA polimerasa avança, la cadena de DNA es torna a ajuntar tornant al seu estat original. En aquest punt tenim un RNAm immadur que ha de passar per un *splicing* alternatiu, en el qual es formaran els sis isoformes de la proteïna Tau.

3.1.1.1. *Splicing alternatiu*

El *splicing* és un mecanisme amb el qual se simplifica la lectura d'un gen. Els gens estan conformats per exons i introns, el *splicing* s'encarrega d'eliminar els introns, fent la lectura del gen més fàcil. Si parlem de *splicing* alternatiu, diem que és la capacitat d'expressar o no alguns exons, i llavors d'un mateix gen podem tenir proteïnes amb funcions similars o totalment diferents.

En el moment del *splicing* de la Tau els exons que podran codificar o no i, per tant, crear l'isoforma fetal de la Tau són el 2, 3 i 10. Els exons 2 i 3 s'encarreguen de codificar una regió de 29 aminoàcids en l'extrem N terminal de la proteïna. És important saber que l'exó 3 no s'expressa mai sense l'exó 2. Llavors les isoformes de Tau només poden tenir 0, 1 o 2 repeticions, o sigui, que són 0N, 1N o 2N.

L'exó 10 codifica el que es coneix com a R2. L'R2 és una de les quatre regions repetides de la proteïna amb seqüència altament conservades de 31 aminoàcids. Aquestes quatre repeticions es coneixen com a domini de repetició (RD), aquest domini se situa entre els residus 244 i 368 aproximadament, i constitueix la regió d'unió als microtúbuls d'aquesta proteïna. En canvi, els exons 9, 11 i 12 codifiquen la resta de la seqüència constitutiva. Això i tot, si l'exó 10 no s'expressa, tindrà 3 repeticions en comptes de 4 repeticions, com hauria de ser. Depenent d'això es formaran els isoformes R3 i R4. Amb això ja tenim els sis isoformes de la proteïna Tau que poden ser: N0, N1 o N2 i R3 o R4. Dels sis isoformes que ha format només aquell que sigui N0 i R3 serà fetal per a la cèl·lula, això comporta que els exons 2, 3 i 10 no s'han expressat en el *splicing* alternatiu.

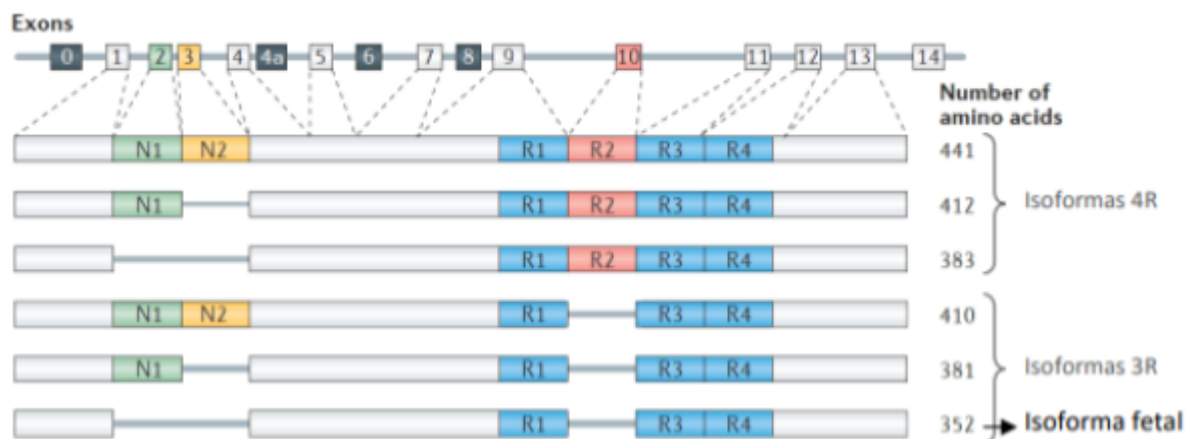


Figura 11: Splicing alternatiu del gen MAPT que codifica el sis isoformes de la proteïna Tau.
<https://matheo.uliege.be/>

3.1.2. Traducció

Un cop sintetitzat el RNAm madur, aquest abandona el nucli i passa al citoplasma fins a arribar a un ribosoma, aquest orgànul està dedicat a elaborar proteïnes i on es realitza la traducció del missatge genètic. En aquest procés interactua l'RNA ribosòmic (RNAr) i l'RNA transport (RNAt), a més a més, del RNAm.

El RNAm amb el RNAr serveixen de motlle perquè se sintetitzi un polipèptid, a partir dels aminoàcids que el RNAt ha fet arribar fins al ribosoma. El RNAm codifica la seqüència d'aminoàcids que formaran el polipèptid, que estarà basada en triplets de nucleòtids (codons).

El RNAt s'encarrega de captar els aminoàcids al citoplasma amb ajuda de diversos enzims i el porta fins als ribosomes. El RNAt és específic per cada aminoàcid i té una estructura bastant peculiar. Aquest conté un sector específicament adaptat per unir-se a l'estructura molecular d'un aminoàcid, i, per una altra banda, té un anticodó que és un triplet de bases nitrogenades amb afinitat amb el codó corresponent del RNAm.

El ribosoma es situa al primer codó del RNAm i el RNAt amb l'anticodó capta el primer aminoàcid i després l'allibera. Seguidament, el ribosoma es desplaça al següent codó i fa el mateix procediment. El nou aminoàcid s'uneix a l'anterior mitjançant un enllaç peptídic i així successivament fins a formar el pèptid. El ribosoma sap que s'ha d'aturar quan arriba al codó que indica la detenció del procés i aquí finalitza la síntesi de la proteïna.

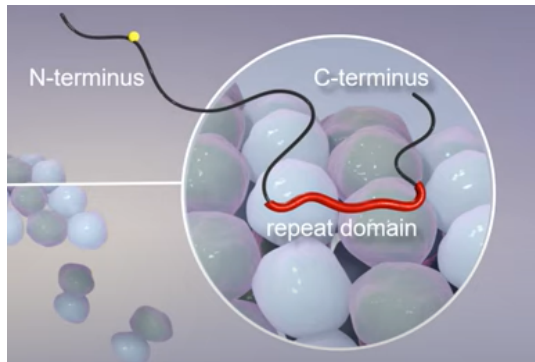


Figura 12: Proteïna Tau amb la RD enganxada al microtúbul. <https://www.youtube.com/>

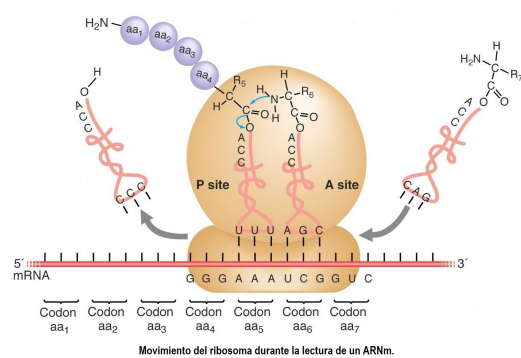


Figura 13: Procés de traducció d'una proteïna en un ribosoma. <https://significadoconcepto.com/>

3.2. Funcions

La funció principal de la proteïna Tau és mantenir l'estructura dels microtúbuls, mitjançant l'adhesió de la RD a l' α -tubulina i la β -tubulina. Cosa que permet que la cèl·lula mantingui la seva estructura i també realitzar efectivament el transport dels mitocondris i les vesícules en la sinapsi. Quan la Tau muta i deixa de fer la seva funció, progressivament la sinapsi deixa d'efectuar-se correctament i els microtúbuls perden la seva estabilitat. Això comporta la pèrdua de mobilitat del mitocondri i les vesícules al llarg de la neurona i, per tant, els neurotransmissors no podran passar d'una neurona a una altra. Al final la sinapsi es deixarà d'efectuar i provocarà la mort de la neurona.

3.3. Agregats

La majoria de proteïnes per si soles no són funcionals, han de tenir plegament i una conformació tridimensional que els hi donen una estructura única, que és indispensable per atorgar a la proteïna la seva funció particular. Aquesta estructura, que varia en cada proteïna, es denomina com a estat natiu, i a més a més, aporta estabilitat a la proteïna. Si el plegament s'altera, ja sigui per mutacions, reaccions químiques, ect., la proteïna no només deixarà de fer la seva funció, sinó que també presenta una alta tendència d'agregació, que pot comportar la desintegració cel·lular.

En el cas de la proteïna Tau la seva estructura nativa no segueix cap dels patrons i, per tant, no té ni una estructura secundària, ni terciària, i com a conseqüència tampoc té una estructura tridimensional. Com s'ha dit anteriorment l'estructura condiciona la funció de la proteïna, i fins fa poc es creia que aquelles proteïnes que no tenien una estructura definida no podia efectuar cap funció, però recents descobriments han desvelat que aquesta teoria no és certa. S'anomenen proteïnes

intrínsecament desordenades aquelles que no segueixen aquesta teoria, així com la Tau.

La Tau no mutada mantindrà la seva estructura desordenada i no hi haurà cap problema. No obstant això, si la Tau s'hiperfosforilada o degut alguna mutació perd la seva funció aquesta formarà uns agregats que afectaran directament a la neurona i el seu funcionament com a cèl·lula.

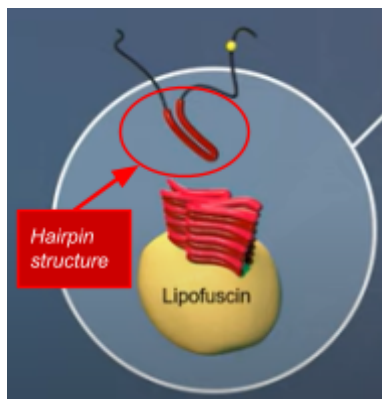


Figura 14: La proteïna Tau s'uneix a una lipofuscina i es transforma en *hairpin structure*.
<https://www.youtube.com/>

Dintre de la neurona es formen residus que la cèl·lula elimina mitjançant els astròcits i les micròglies. A mesura que anem envellint aquest mecanisme deixa de funcionar correctament i, per tant, els residus no s'alliberen al medi exterior. Al no poder eliminar-se es formen cúmuls de lípid amb les restes que han generat els lisosomes, aquest cúmulo se'l coneix com a lipofuscina i el podem identificar perquè és de color grogós/marronós. La Tau confondrà les lipofuscines amb el α -tubulina i la β -tubulina, adient-se a elles en comptes de les proteïnes tubulars i com a conseqüència la seva estructura canviarà a *hairpin structure*.

És la RD que adopta aquesta estructura i facilita que altres Taus també es transformin i acabin formant part de l'agregat. Un cop s'ajunten moltes proteïnes Taus aquestes formen un oligòmer, que posteriorment s'acabarà ajuntant amb d'altres i formaran filaments amb forma d'hèlix. El conjunt d'aquests filaments serà l'agregat de la proteïna Tau.

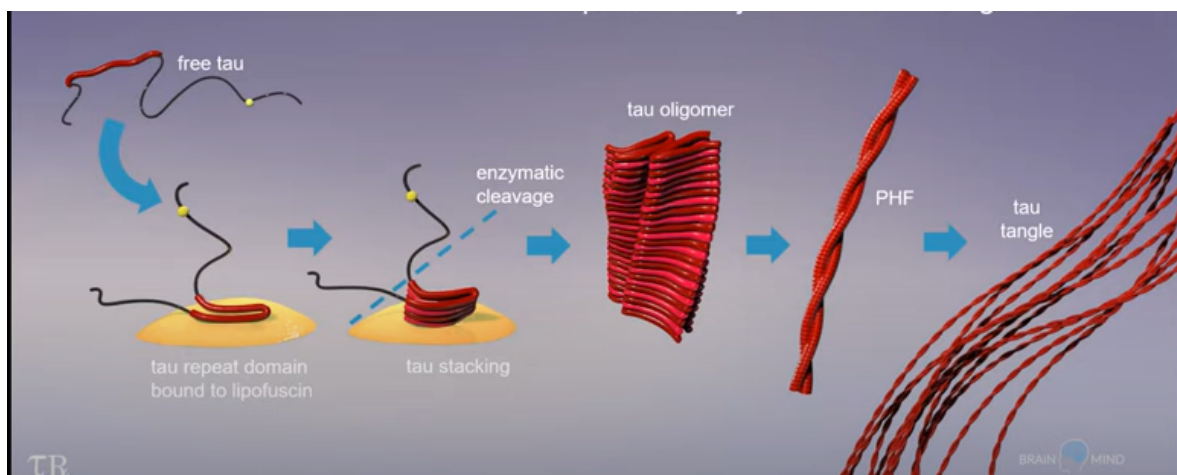
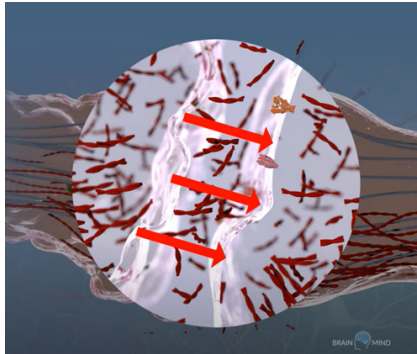


Figura 15: Procés d'agregació de la proteïna Tau. <https://www.youtube.com/>



A més a més, dels agregats es formen dintre de la neurona a la vegada que també tenen la capacitat de poder passar d'una cèl·lula a una altra mitjançant la sinapsi. En tenir l'habilitat de transmetre's d'una neurona a l'altra augmenta la possibilitat de desenvolupament de més agregats i com a resultat també augmenta la velocitat amb la qual la malaltia avança.

Figura 16: Intercanvi d'agregats durant la sinapsi.
<https://www.youtube.com/>

3.3.1. Causa dels agregats

Hi ha dues causes principals que provoquen el comportament anormal de la Tau, mutacions i hiperfosforilació.

Durant el procés de transcripció poden passar certes mutacions que afavoreixen l'agregació de la Tau i que sobretot afecten la RD. Les més conegudes són la P301L i la P301S, aquestes dues mutacions estan relacionades amb la demència frontotemporal (FTLD) de tipus familiar. Quan parlem de la mutació P301S ens referim al fet que en la posició 301 hi hauria d'haver una Prolina (P), però, en canvi, hi ha una Serina (S), és aquest simple canvi d'aminoàcids que fa que les interaccions entre residus es modifiquin i la tendència a què es produeixi l'agregat augmenta considerablement. Aquesta és una mutació genètica i afecta l'ADN i al RNAm fent que no codifiquin correctament els aminoàcids i provocant aquest canvi.

Per una altra banda, la proteïna Tau pot ser hiperfosforilada, especialment en les regions C-Terminal i N-Terminal. Quan parlem d'hiperfosforilació ens referim que els aminoàcids de la Tau se'ls hi annexa més d'un ió fosfat i provoca que la tau es torni anormal.

PART PRÀCTICA

L'objectiu principal d'aquest treball és avaluar l'eficàcia d'un fàrmac per inhibir la formació d'agregats de la proteïna Tau. El fàrmac que observarem ha sigut cedit per una farmacèutica anònima que envia els seus tractaments a laboratoris independents per tal de ser avaluat. Per aquesta raó no tenim el nom del fàrmac. Aquest experiment s'ha realitzat des dels laboratoris de l'IBEC amb l'ajuda de la investigadora Júlia Sala Jarque.

Per tal de dur a terme l'experiment s'han utilitzat unes cèl·lules "biosensores" amb la capacitat de detectar si una certa *seed* de Tau que van desenvolupar en el laboratori del Dr. Marc Diamond és o no patològica. Per fer-ho, van fer servir el que es coneix com a línia cel·lular o línia cel·lular immortalitzada. Les línies cel·lulars són eines molt útils en la investigació científica, i s'usen de manera rutinària en molts laboratoris. S'anomena línia cel·lular a aquelles poblacions de cèl·lules que s'han transformat perquè adquireixin l'habilitat de dividir-se indefinidament, tot i que n'hi ha algunes que no tenen aquesta capacitat.

Les cèl·lules Tau Biosensor que va fer el grup del Dr. Marc Diamond provenen d'una línia cel·lular anomenada HEK293 (és una línia de cèl·lules de ronyó obtingudes a partir d'un embrió humà, i que es fa ús àmpliament en molts laboratoris de tot el món).

Perquè les HEK293 puguin funcionar com a sensors de la presència d'una Tau patològica primer s'ha de modificar el seu codi genètic. Amb aquest fi, els investigadors van introduir a aquestes cèl·lules la seqüència del gen MAPT que codifica les quatre repeticions RD (és a dir la tau K18). A més a més, aquest gen incorpora la mutació P301S. Però addicionalment, per tal de poder visualitzar la proteïna van fusionar el gen MAPT amb la seqüència del gen que codifica per la proteïna GFP "*green fluorescence protein*". La GFP és una proteïna que prové d'una medusa i que quan li apliquem una certa longitud d'ona, s'excita i emet llum verda.

Com ja hem dit al principi, la K18 és necessària i suficient perquè es produeixi l'agregació de Tau, a més conté una mutació que facilita que es produeixi la formació de l'amiloide. Si a tot això li sumem que cada cop que es formi un agregat veurem un cúmul de fluorescència gràcies a la presència GFP, ja tenim la cèl·lula Tau Biosensor.

1. MATERIAL

1.1. Equipament general

- Campana de cultius cel·lulars (campana de bioseguretat)
- Incubador
- Bany d'aigua
- Centrífuga
- Nevera i congelador
- Cambra de Neubauer + material associat
- Microscopi òptic invertit

1.2. Equipament addicional

- Aspirador de buit
- Microscopi invertit de fluorescència

1.3. Material bàsic

- Plaques de cultiu
- Flasks
- Pipetes i pipetor
- Contenidors de material punxant
- Proteïna Tau sana
- Opti-MEM
- Lipofectmine 2000
- Cèl·lules HEK293
- Poli-D-Lisina
- PBS
- Tripsina

2. PROTOCOL

2.1. Coating de la placa de cultiu

Les cèl·lules se sembren en una placa de 96 pous. Aquestes plaques són de plàstic especial i a més estan tractades per tal que les cèl·lules tinguin la capacitat de créixer a la superfície. Hi ha cèl·lules que, a més a més, per tal d'enganxar-se correctament, necessiten que la placa tingui altres tractaments. En el nostre cas necessitarem fer el que s'anomena un *coating* de Poli-D-Lisina (PoliD). La PoliD és una matriu extracel·lular sintetitzada químicament i que serveix per a facilitar l'adhesió de les cèl·lules a la superfície de la placa de plàstic. El *stock* que és la poliD comercial, està a una concentració de 0,1 mg/mL, el *coating* que farem nosaltres ha d'estar a 0,01 mg/mL. Per aconseguir aquesta concentració diluïrem el *stock* en H₂O. Per a fer bé el *coating* posarem 100 µl en cada pou. Un cop preparada la dilució, afegirem el volum especificat en cada un dels pous, i ens esperarem 1 hora abans de poder sembrar. Al cap d'una hora, aspirarem el coating i rentarem la placa amb PBS per eliminar l'excés de poliD.

El PBS (*Phosphate Buffered Saline*) és un tampó que ajuda a mantenir un pH constant i és isotònic i no tòxic per les cèl·lules.

2.2. Obtenció de les cèl·lules

Primer de tot, hem de posar tots els reactius en un bany d'aigua, el qual es troba a 37 °C, durant uns 15 minuts. És important que tot el que entri en contacte amb les cèl·lules estigui al voltant d'aquesta temperatura.



Figura 17: Flascó amb medi adient per les cèl·lules.

<https://www.shutterstock.com/>

Les línies cel·lulars es mantenen en uns recipients que s'anomenen flascs *figura 17*. El que es veu de color rosa és el medi on sobreviuen les cèl·lules, el qual porta tots els nutrients necessaris perquè creixin. Per altra banda, també cal mencionar que el tap no deixa completament aïllat l'interior del flascó de l'exterior, sinó que permet el canvi de gasos de manera que les cèl·lules puguin dur a terme l'intercanvi de gasos.

El primer que farem serà aspirar el medi del flascó i afegirem 7 mL de PBS per poder rentar. Després enretirarem el PBS i afegirem 2 mL de tripsina. La tripsina és un enzim que s'encarregarà de separar les cèl·lules de la superfície del plàstic on estan enganxades. Deixarem 1 minut les cèl·lules amb la tripsina a l'incubador, i ens assegurarem que estan desenganxades mirant pel microscopi. A continuació, afegirem 8 mL de medi fresc al flascó, i recollirem els 10 mL en un flascó de 15 mL com el de la imatge.

El següent pas és centrifugar les cèl·lules durant 5 minuts a 800 rpm i 4°C. En acabar, aspirem tot el medi i ens quedem amb el que hi ha al fons, que s'anomena pel·let, allà és on hi ha les cèl·lules. Afegirem 1 mL de medi nou al pel·let i resuspendrem bé.

2.3. Recompte de les cèl·lules

El nostre protocol diu que hem de sembrar 35.000 cèl·lules en cada un dels pous en 130 µL (35.000 cèl·lules/130 µL). Per sembrar exactament aquesta quantitat, hem de saber primer quina és la quantitat de cèl·lules que tenim en aquest mL que hem afegit de medi nou.

En el nostre cas, el que farem és preparar un tub amb 495 µL de medi, a continuació afegirem 5 µL de les cèl·lules resuspeses en 1 mL, així tindrem una dilució 1/100. D'aquesta dilució utilitzarem només 10 µL que introduïrem a una cambra de Neubauer.



Figura 18: Flascó de 15 mL.
<https://mtcbiotech.com/>

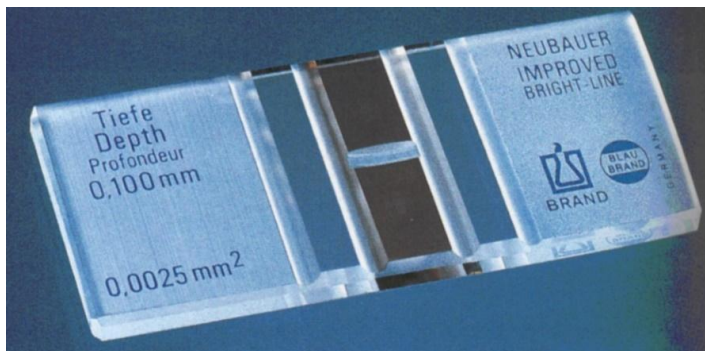


Figura 19: Cambra de Neubauer. <https://www.bodanchimica.it/>

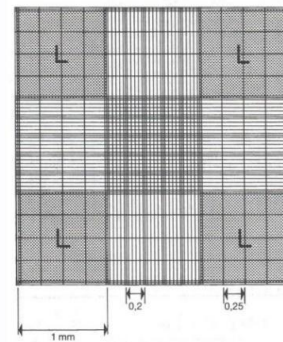


Figura 20: Zona on es distribueixen les cèl·lules en una cambra de Neubauer. <https://www.cls-med.de/>

La cambra de Neubauer és un dispositiu que es fa servir per a tenir una idea de la quantitat de cèl·lules que hi ha en una suspensió. Està formada per una sèrie de requadres com el que hi ha a l'esquema, en el qual es distribuïran les cèl·lules. De tots els quadres que es veuen, només ens interessen les regions indicades per la lletra L (4 en total), formats al seu torn per 16 quadres més petits. Les cèl·lules estaran distribuïdes per tota la superfície i les haurem de contar requadre a requadre. Per saber la quantitat que tenim en 1 mL farem servir la següent fórmula:

$$\text{Partícules per } \mu\text{L volum} = \frac{\text{Partícules contades}}{\text{Superfície contada (mm}^2\text{)} \cdot \text{profunditat dela}^* \text{ cambra (mm)} \cdot \text{Dilució}^*}$$

2.4. Sembra de les cèl·lules

Un cop sapiguem les cèl·lules que tenim, el que volem serà saber quina quantitat de cèl·lules hem de sembrar. Abans ja he dit que volíem que en 130 μL hi hagués 35.000 cèl·lules. La placa on sembrarem les cèl·lules conté 96 pous (normalment com que es cometen errors amb les pipetes se solen fer els càlculs deixant un marge, en aquest cas suposarem que tenim 100 pous en comptes de 96).

Ara que ja sabem la quantitat que hem de sembrar procedirem a la sembra i deixarem les cèl·lules tota la nit a l'incubador perquè creixin. Passat aquest temps, tindrem una densitat suficient de cèl·lules per a dur a terme els tractaments necessaris.

2.5. Tractament de les cèl·lules

Avui les cèl·lules es troben a una confluència del 60%. Aquest nivell de confluència és l'idoni per a dur a terme el tractament de les cèl·lules amb les mostres que hem seleccionat.

Per tal d'obtenir les mostres i observar-les posteriorment en el microscopi i avaluar el fàrmac cal fer diversos passos abans d'obtenir la mostra final:

1. Ajuntarem les mostres de proteïna Tau amb l'inhibidor (fàrmac). D'aquí obtindrem 5 mostres amb diferents concentracions d'inhibidor. Cada mostra serà de 20 μL i estarà composta d'Opti-MEM, un medi bàsic essencial, les Taus i el fàrmac.

MOSTRA	TAU	OPTI-MEM	INHIBIDOR
1	2,5 μL	17,5 μL	—
2	2,5 μL	13,5 μL	2 μL
3	2,5 μL	11,5 μL	4 μL
4	2,5 μL	9,5 μL	8 μL
5	2,5 μL	7,5 μL	10 μL

Figura 21: Concentracions d'Opti-MEM, d'inhibidor (fàrmac) i deTau per generar la mostra. Font pròpia

2. Per tal d'acabar d'ajuntar tot realitzarem un "spin" amb una centrifugadora i emmagatzarem les mostres a 4 $^{\circ}\text{C}$.

3. Prepararem el mix que consisteix a fer una dissolució d'Opti-MEM i de Lipofectamine 2000. Utilitzarem 8,75 μL d'Opti-MEM i 1,25 μL de Lipofectamine 2000. Aquest reactiu es basa en fosfolípids que formen liposomes que tenen la capacitat d'introduir la Tau en el seu interior formant complexos lipídics. Un cop afegim els complexos amb les cèl·lules, la naturalesa lipídica de la membrana dels liposomes i de les cèl·lules facilita que es fusionin, alliberant la tau directament al citoplasma de la cèl·lula.
4. Deixarem reposar el mix durant 10 min a temperatura ambient.
5. A continuació juntarem la mostra amb el mix. Primer afegirem 10 μL de la mostra i després 10 μL del mix, sempre en aquest ordre.
6. Un cop tinguem els dos reactius barrejats, els deixarem reposar durant 1 hora a temperatura ambient. (Això servirà perquè la Lipofectamine 2000 i la Tau formin els complexos)
7. Durant aquesta hora el que farem serà aspirar el medi de les cèl·lules que anirem a tractar i afegirem 130 μL d'Opti-MEM (això ho fem perquè les cèl·lules es vagin acostumant al medi de transfecció).
8. Quan hagi passat l'hora, afegirem els 20 μL de cada mix + mostra al pou amb cèl·lules que li correspongui (el volum total final seran 150 μL).
9. En acabar amb totes les mostres, tornem les cèl·lules a l'incubador.
10. Fixarem les mostres finals amb 100 μL del mix i ho repetirem dos cops més.

2.6. Fixació i observació al microscopi

Avui els cultius porten aproximadament entre 12 i 24 h amb el tractament. En el cas que la mostra que hàgim afegit tingui la capacitat de formar agregats, avui ja els podem veure la seva presència o absència en el microscopi. En qualsevol cas, el que hem de fer és aturar el cultiu en aquest moment precís, per a poder fer fotografies i processar-lo. Quan diem que volem aturar el cultiu, realment el que estem dient és que volem que es pari en les condicions en les quals està en aquell precís moment. El procediment que ens permet fer-ho es diu fixació, i és un pas fonamental per a preservar les cèl·lules. Utilitzarem paraformaldehid al 4% per a fixar les cèl·lules, la qual cosa les matarà, però preservarà la morfologia, així com altres característiques físiques i químiques pròpies del cultiu.

Un cop les mostres ja estan preparades, procedim a observar-les amb el microscopi de fluorescència. Cal que el microscopi estigui en una sala totalment fosca perquè el seu funcionament sigui l'adient. Com s'ha dit anteriorment els agregats desprendran fluorescència gràcies a la proteïna GFP: Un cop obtenim les imatges, gràcies al programa *ImageJ* els hi donem color per poder identificar millor els agregats.

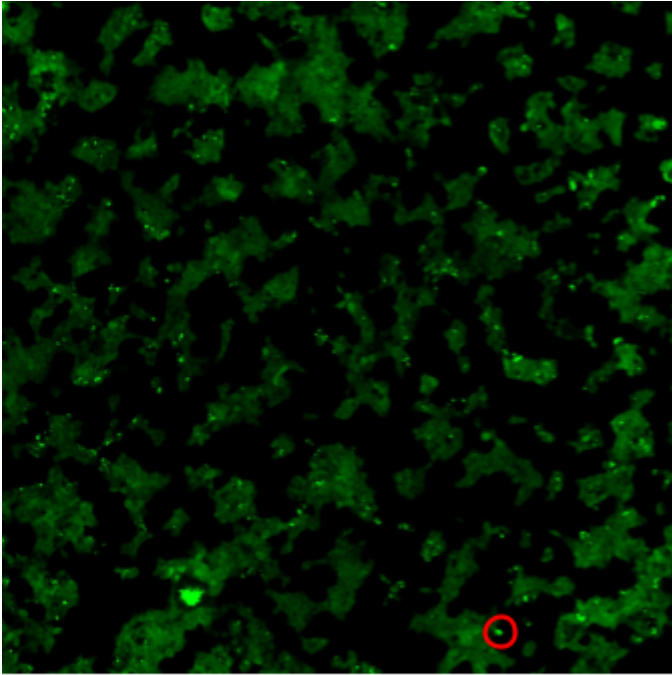


Figura 22: Agregats de Tau en cèl·lules HEK293 passades pel programa *ImageJ* per tornar-les verdes. El cercle vermell senyalitza un agregat de la proteïna Tau.

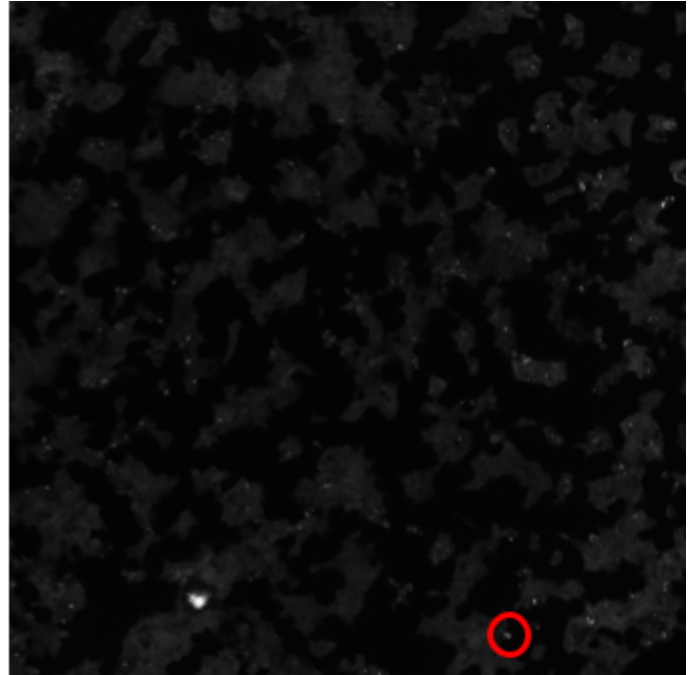


Figura 23: Agregats de Tau en cèl·lules HEK293. El cercle vermell senyalitza un agregat de la proteïna Tau.

RESULTATS

Per tal de poder obtenir uns resultats fiables s'han realitzat 3 rèpliques de cada mostra, utilitzant un total de 15 pous i obtenint 4 imatges per pou, o sigui 60 imatges totals. De cada mostra aconseguim 12 imatges les quals compararem i veurem si totes segueixen el mateix patró.

Tot i que les imatges no han estat analitzades per cap programa específic, es pot observar un clar descens dels agregats a mesura que li afegim més quantitat de tractament a les cèl·lules.

1. Comparació imatges

En la figura 24 no se'ls hi ha implementat el tractament a les cèl·lules. Podem veure que hi ha una gran quantitat d'agregats en comparació a les altres imatges. En aquesta podem veure com es presenten les cèl·lules d'un pacient amb la malaltia de l'Alzheimer sense cap mena de tractament.

En la mesura que augmentem la concentració del fàrmac, podem veure com cada cop es generen menys agregats. *Figures 25, 26, 27 i 28.* En la figura 25 Tenim la concentració més baixa del tractament, i tot i que ha reduït la quantitat d'agregat en comparació figura 24, continua havent-hi bastants agregats.

Si comparem figura 26 amb les dues imatges anteriorment mencionades, veiem que segueix el mateix patró, en tenir més concentració de fàrmac encara hi ha menys agregats que figures 24 i 25, però més que les figures 27 i 28. En la figura 27 el nombre d'agregats s'ha reduït molt en comparació amb la figura 24. En aquest punt el pacient probablement ja notaria una millora en la progressió de la malaltia. I ja finalment en la figura 28 els agregats s'han reduït a més de la meitat sent aquesta concentració la que s'hauria d'implementar en un possible tractament.

També ens fixarem que en les figures 24 i 253 els agregats formen una mena de grumolls, o sigui que s'ajunten uns amb altres, i per això veiem un cúmul fosforescent. En canvi, amb les concentracions de les figures 26, 27 i 28 això no passa i veiem com cada cop els agregats són més petits a mesura que la concentració de fàrmac augmenta.

Si ens fixem en les cèl·lules de la figura 24 la majoria, per no dir totes, contenen més d'un agregat en una sola cèl·lula. Mentre que en la figura 28 hi ha moltes cèl·lules lliures d'agregats, i, per tant, no desenvoluparan la malaltia, o si més no en aquest moment.

Entre les figures 25 i 26 trobem un gran canvi de la quantitat d'agregats, mentre que en la figura 25 hi ha una quantitat molt semblant a la figura 26 la figura 26 s'assembla més a la figura 28, notant un veritable canvi bastant exagerat entre les dues.

El que aquest fàrmac aconsegueix és que les proteïnes Tau no perdin la seva estructura i, per tant, no formin agregats, impedit així l'avançament de la malaltia. Tot i que el tractament endarrerirà el deteriorament de les facultats cognitives en el pacient, és possible que s'acabi desenvolupant la malaltia del tot amb aquestes concentracions estudiades.

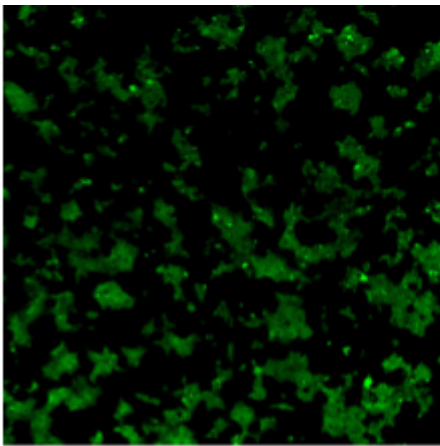


Figura 24: Cèl·lules HEK293 amb el tractament de la mostra 1, o sigui sense fàrmac. Font pròpia.

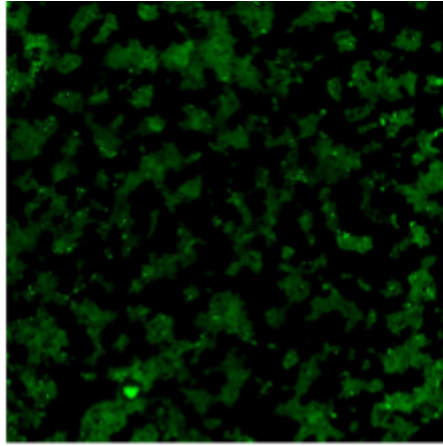


Figura 25: Cèl·lules HEK293 amb el tractament de la mostra 2 (2 µL de fàrmac). Font pròpia.

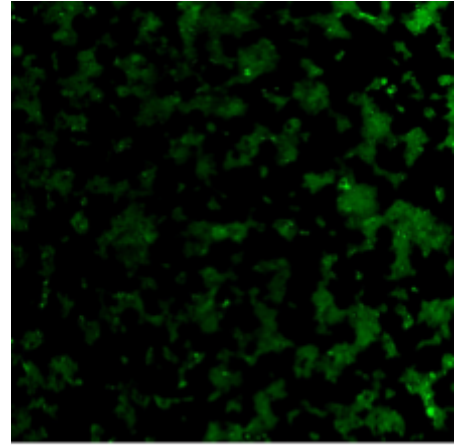


Figura 26: Cèl·lules HEK293 amb tractament mostra 3 (4 µL fàrmac). Font pròpia.

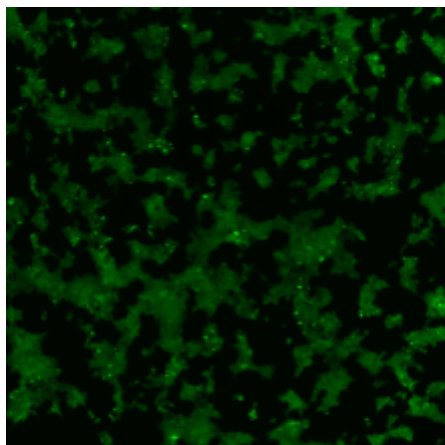


Figura 27: Cèl·lules HEK293 amb tractament mostra 4 (8 µL de fàrmac). Font pròpia.

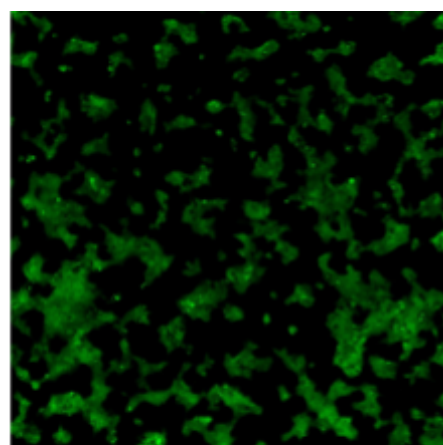


Figura 28: Cèl·lules HEK293 amb tractament mostra 5 (10 µL de fàrmac). Font pròpia.

DISCUSSIÓ

Veient els resultats obtinguts podem afirmar que aquest fàrmac ha sigut capaç de reduir el nombre d'agregats corroborant la hipòtesi principal de la part pràctica. Així i tot, perquè aquest fàrmac pugui ser administrat als malalts cal que passi diverses fases. Un dels majors problemes és com fer arribar aquest fàrmac a les neurones dintre del cervell, ja que superar la barrera hematoencefàlica és molt complicat sense que aquesta quedi malmesa.

Hi ha diversos estudis que han trobat una solució a aquest problema i han creat medicaments capaços de frenar la formació d'agregats de la proteïna Tau en animals amb Alzheimer. Un estudi de l'any 2016 creat pel programa de Neuterapèutica Translacional en el centre mèdic de Georgetown van descobrir que el fàrmac *pazopanib* utilitzat per tractar el càncer era capaç de traspasar la membrana hematoencefàlica i frenar l'agregació de la Tau en animals genèticament modificats per tal que produïssin Tau humana. Un altre estudi creat per la companyia Oligomerix també va ser capaç de produir un medicament subministrat per via oral capaç d'arribar a les neurones danyades dels animals amb Alzheimer.

Això no obstant, aquests estudis només s'han provat en animals i no se sabia quin efecte tindrien sobre els éssers humans.

CONCLUSIONS

L'increment de la mitjana d'edat en la població mundial en els pròxims cinquanta anys esdevindrà un gran repte per la medicina. A conseqüència d'aquest augment hi haurà una gran quantitat de gent gran i, per tant, aquelles malalties relacionades amb l'envelliment estaran més presents. Com a exemple trobem l'Alzheimer, una malaltia neurodegenerativa i la demència més comuna. Aquesta malaltia va deteriorant el sistema nerviós, més concretament les neurones, fet que comportarà la pèrdua de les facultats cognitives, com ara la memòria, l'orientació i el llenguatge, i també la personalitat, el comportament i l'habilitat de resoldre problemes.

Actualment, l'Alzheimer no consta amb una cura; així i tot, hi ha diversos tractaments que alleugen els símptomes i faciliten la vida als malalts que pateixen aquesta demència. Però aquests tractaments no ataquen a la causa primordial de la malaltia. Principalment, hi ha dues teories que expliquen el desenvolupament d'aquesta neurodegeneració, totes dues es basen en l'anormalitat d'una proteïna. La teoria de la β -amiloide defensa que la proteïna precursora de l'amiloide conjuntament amb les restes de dendrites o axons degenerats i fragments de cèl·lules gials formen plaques de β -amiloide, causa que ha estat al capdavant de la investigació, però a poc a poc una segona teoria va agafant força, els agregats de proteïna Tau. Aquesta, a diferència de la primera, s'ha vist com la progressió de la malaltia coincideix en l'increment d'agregats.

La Tau és una proteïna que forma part del que es coneix com a MAPs (*Microtubuls Associated to Proteins*). Aquesta té un paper important en l'estabilització dels microtúbuls i són el 80% d'aquestes proteïnes. Els microtúbuls són filaments proteics encarregats de mantenir l'estructura de les neurones i de transportar les vesícules amb neurotransmissors i els mitocondris, des del nucli fins a la sinapsi a través de l'axó, en procés de sinapsi. Però aquesta funció es veu afectada quan la proteïna Tau perd la seva estructura i genera agregats.

A causa del mal funcionament de l'eliminació de residus dins la cèl·lula es forma el que es coneix com a lipofucsina, que no deixa de ser un cúmul de residus lipídics de la digestió dels liposomes. Aquests faran que la RD de la proteïna Tau adopti una estructura de *hairpin* i acabi formant oligòmers que s'aniran unint entre ells fins a formar els agregats. Aquests agregats s'aniran transmetent de neurona en neurona mitjançant la sinapsi, fins al punt que la cèl·lula acaba morint perquè té molta Tau agregada, i, per tant, els microtúbuls es desestabilitzaran i, com a resultat, ja no es podrà realitzar la sinapsi.

És per això que les farmacèutiques estan desenvolupant nous fàrmacs que frenen i inhibeixen la formació d'agregats de Tau. El tractament avaluat en aquest treball ha contribuït en aquesta recerca passant amb èxit les proves amb cèl·lules patològiques

HEK293. En l'experiment hem pogut observar com a mesura que incrementem la concentració del fàrmac, aquest és capaç de reduir el nombre d'agregats en les cèl·lules fins al punt de disminuir-los fins a la meitat, evitant que les proteïnes Tau s'agregin.

Malgrat que aquest fàrmac només s'ha testat en cèl·lules, s'ha demostrat en altres estudis amb animals amb Alzheimer que els medicaments tractats són capaços d'arribar a les neurones danyades, encara que estiguin dintre del cervell. Això vol dir que han sigut capaços de superar la membrana hematoencefàlica, superant així un dels principals problemes per poder subministrar els fàrmacs.

Per aquestes raons podem dir que enfocant-nos en la proteïna Tau, la medicina en un futur serà capaç de poder trobar una cura per l'Alzheimer i altres tautopaties, tal com afirmava la hipòtesi de partida. Per arribar a aquest punt caldrà passar moltes fases encara, però principalment s'haurà de centrar a trobar una manera de subministrar aquests medicaments a l'ésser humà de manera segura i sense repercussions que afectin la salut.

BIBLIOGRAFIA

Adrover Estelrich, M. (s. f.). *Envel·liment i malalties neurodegeneratives. Quin paper hi tenen les proteïnes?* Universitat de les Illes Balears.

Alzheimer, F. (s. f.). *Síntomas Psicológicos y Conductuales en la enfermedad de Alzheimer*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://www.formacion-alzheimer.es/index.php/blog/item/135-sintomas-psicologicos-y-conductuales-en-la-enfermedad-de-alzheimer.html>

Alzheimer i altres malalties neurodegeneratives. (s. f.). CDINC. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://cdincbarcelona.com/especialitats/alzheimer-malalties-neurodegeneratives/>

Álvarez Villalobos, R. (2022). Proteína tau como biomarcador en Alzheimer preclínico. *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas*, 47(2), 56-67. <https://doi.org/10.11565/arsmed.v47i2.1892>

Amezcu Gil, J. (s. f.). Caracterización del gen para el estudio de la enfermedad de Alzheimer Grupo de Departamento de Bioquímica y Biología Molecular racterización del gen MAPT en modelos celulares [Trabajo de fin de grado]. Universidad de Zaragoza.

Body, V. (s. f.). *Neuronas*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://www.visiblebody.com/es/learn/nervous/neurons>

CogniFit. (2016, 22 enero). *Las Neuronas*. Las Neuronas Y Las Células Cerebrales Activas. <https://www.cognifit.com/es/neuronas>

Definición: Neurona. (2022, 27 junio). Ambientech: Ciencias, Salud y Medio ambiente. Educación Secundaria. <https://ambientech.org/la-neurona>

Encèfal | enciclopedia.cat. (s. f.). En *enciclopèdia.cat*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://www.enciclopedia.cat/gran-enciclopedia-catalana/encefal>

España Oficina Internacional del Trabajo Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. (1998). Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo[. En *SISTEMA NERVIOSO*. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. <https://www.insst.es/documents/94886/161958/Cap%C3%ADtulo+7.+Sistema+nervioso>

Europa Press. (2016, 28 julio). Un fármaco contra el cáncer reduce una proteína tóxica cerebral del Alzheimer. [infosalus.com. https://www.infosalus.com/farmacologia/noticia-farmaco-contra-cancer-reduce-proteina-toxica-cerebral-alzheimer-20160728081441.html](https://www.infosalus.com/farmacologia/noticia-farmaco-contra-cancer-reduce-proteina-toxica-cerebral-alzheimer-20160728081441.html)

García-Sierra, F., Bartos, A., Ricny, J. & Ripova, D. (2012). Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2012/731526>

Gen. (s. f.). Genome.gov. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Gen>

Impuls nerviós | enciclopedia.cat. (s. f.). En *enciclopèdia.cat*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://www.enciclopedia.cat/enciclopedia-de-medicina-i-salut/impuls-nervios>

In Motion Science. (2018, 10 mayo). *Tau-tally Microtubular!* [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=l6plXowjres>

José, J. C. M. (2022). *Manual Merck de Información médica para el hogar*. FisicalBook.

Kolb, B. W. (2016). *Neuropsicología Humana*. Panamericana.

L'encèfal. (s. f.). Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <http://www.xtec.cat/ceipalber/ciencia/nervis/encefal.htm>

Les proteïnes. (s. f.). [Diapositivas]. educacioidigital. https://educacioidigital.cat/iesb7/moodle/pluginfile.php/324502/mod_resource/content/1/LES%20PROTE%3%8FNES.pdf

Manual Merck De Informacion Medica General. (s. f.).

Maragall, F. P. (s. f.). *L'envelliment de la població i la prevalença de la malaltia d'Alzheimer*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://blog.fpmaragall.org/ca/l'envelliment-de-la-poblacio-i-la-prevalen%C3%A7a-de-la-malaltia-d'alzheimer>

National Institute on Aging. (2020, 10 diciembre). *Cómo cambia la enfermedad de Alzheimer al cerebro* [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=kDvdSnqqeSg>

Prbb, E. (2019, 16 julio). *Splicing o empalme*. El·lipse. <https://ellipse.prbb.org/es/splicing-o-empalme/>

¿Qué son las proteínas y qué es lo que hacen?: *MedlinePlus Genetics*. (s. f.). Recuperado 1 de noviembre de 2022, de <https://medlineplus.gov/spanish/genetica/entender/comofuncionangenes/proteina/>

Regalado Reyes, M. (s. f.). *Estudio de la hiperfosforilación de la proteína tau y su efecto sobre la morfología neuronal en el hámster sirio durante la hibernación* [Tesis doctoral]. Universidad Autónoma de Madrid.

RELACIÓ: SISTEMA NERVIÓS: El teixit nerviós. Les neurones. (s. f.). Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://educaciodigital.cat/ioc-batx/moodle/mod/book/view.php?id=3819>

R. (2019, 20 noviembre). Inhibir la proteína tau ofrece resultados prometedores en alzhéimer. abc. https://www.abc.es/salud/enfermedades/abci-inhibir-proteina-ofrece-resultados-prometedores-alzheimer-201911201203_noticia.html?ref=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F

Síntesi de proteïnes | enciclopedia.cat. (s. f.). Recuperado 1 de noviembre de 2022, de <https://www.enciclopedia.cat/enciclopedia-de-medicina-i-salut/sintesi-de-proteïnes>

Sistema Nervioso: Concepto y Funciones. (s. f.). Roche Pacientes. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://rochepacientes.es/esclerosis-multiple/sistema-nervioso.html>

TauRxTherapeutics. (2021, 30 junio). *Tau Protein Pathology in Alzheimer's Disease* [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=izRAjlx876Y>

TauRxTherapeutics. (2020, 17 noviembre). *Targeting Tau in Alzheimer's Disease* [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=UaHO1sdl9S0>

Torras García, M. (s. f.). *Fonaments de psicobiologia*. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de http://cv.uoc.edu/annotation/7b6e2357e5d4bb2c5e757cf383eb9612/441535/PID_00144882/modul_2.html

Torre, E. de la. (2021, 25 agosto). *Qué es y cómo se estructura el sistema nervioso*. Neurocirugía de la Torre. <https://www.neurocirugiaequipodelatorre.es/que-es-y-como-se-estructura-el-sistema-nervioso>

Tractament de la malaltia d'Alzheimer. (s. f.). Medicaments i farmàcia. Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://medicaments.gencat.cat/ca/ciutadania/tractaments/alzheimer/>

treballghandhinervios. (s. f.). Recuperado 2 de noviembre de 2022, de <https://sites.google.com/site/treballghandhinervios/>

Wander, C. (2017, 23 noviembre). *The Tau Post-Translational Modification Puzzle*. The Cohen Lab at UNC Chapel Hill. <https://tcohenlab.web.unc.edu/tau-post-translational-modification-puzzle/>