

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Empregando lévedos para o estudo da enfermidade do Alzheimer

Empleando levaduras para el estudio de la enfermedad de Alzheimer

Using yeasts to study Alzheimer disease



Alejandro Peixoto Rodríguez

Julio, 2016

Dirigido por Dra. María Ángeles Freire Picos

CONTENIDO

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Las levaduras en la industria biofarmacéutica: pros y contras. .	2
1.2. El Alzheimer y sus posibles causas.....	3
1.3. Levaduras humanizadas: estudio del Alzheimer en levaduras...	6
1.4. Público objetivo.....	7
2. OBJETIVOS	8
3. METODOLOGÍAS	9
4. RESULTADOS.....	9
5. BIBLIOGRAFÍA	17
6. ENLACES WEB	18

RESUMEN

El presente trabajo muestra las fases de preparación y el desarrollo de una experiencia divulgativa para mostrar la importancia de la investigación con levaduras para el avance en la cura de enfermedades humanas. Tras una visión general sobre las alteraciones moleculares más comunes que se producen en las neuronas dañadas por la enfermedad de Alzheimer, se recoge la actividad divulgativa en la Semana de las Ciencias de Ponteareas y el cómo adaptamos el tema para un amplio público, su puesta en práctica y la elaboración de posters divulgativos para futuros actos.

RESUMO

O presente traballo mostra as fases de preparación e o desenvolvemento dunha experiencia divulgativa para mostrar a importancia da investigación con lévedos para o avance na cura de enfermidades humanas. Tras unha visión xeral sobre as actuacións moleculares máis comúns que se producen nas neuronas danadas pola enfermidade do Alzheimer, recóllese a actividade divulgativa na Semana das Ciencias de Ponteareas e como adaptamos o tema para un amplo público, a súa posta en práctica e a elaboración de pósters divulgativos para futuros actos.

ABSTRACT

The present work shows the preparation and phases development of an informative experience to point out the importance of research with yeast in order to advance in the cure of human diseases. After an overview of the most common molecular alterations that occur in neurons damaged by Alzheimer's disease, the informative activity was presented in the Week Sciences Ponteareas as well as how to adapt the topic to a broad audience, hands-on and preparation of informative posters for future events.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Alzheimer, neurodegeneración, proteínas TAU, α -sinucleína, péptido amiloide, organismos modelo, levaduras, divulgación.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Las levaduras en la industria biofarmacéutica: pros y contras.

Desde la antigüedad las levaduras han dado múltiples beneficios al ser humano, permitiendo la elaboración de alimentos básicos como el pan y bebidas fermentadas. En la actualidad, se hace un amplio uso industrial a las mismas siendo utilizadas como organismos modelo para estudios de procesos moleculares eucariotas. Cuando estudiamos el fundamento de alguna enfermedad, o buscamos nuevos tratamientos, las levaduras, resultan una herramienta muy conveniente y atractiva para el descubrimiento (Treusch, et al., 2011).

Así por ejemplo, estudios llevados a cabo en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en temas como la reparación de daños en ADN y ó el estudio de patologías por un mal plegamiento proteico, fueron claves en el estudio de la biología de enfermedades humanas. (Tenreiro et al., 2015). Permiten además analizar miles de fármacos en un tiempo breve, permitiendo identificar cuáles son efectivos en eucariotas y posteriormente testarlos en mamíferos tal y como hicieron en el estudio sobre el Parkinson (Tardif et al., 2013; Chung et al., 2013).

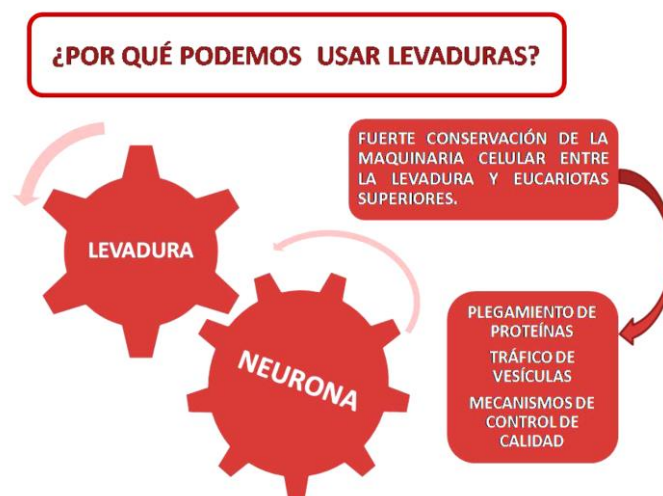


Figura 1. Esquema que muestra la interrelación entre levadura y neurona como sistemas eucariotas

Entre las ventajas de utilizar *S. cerevisiae* para estudiar mecanismos básicos de enfermedades humanas, está el que su genoma está completamente secuenciado y es fácilmente manipulable. Esto permite inducir mutaciones y observar los daños celulares a lo largo de generaciones en pocos días. La experimentación con fármacos en levaduras acarrea menos problemas éticos (Heinisch et al., 2016).

Sin embargo, en biomedicina, no siempre es posible extrapolar cambios de levaduras a humanos, (Tenreiro et al., 2015), puesto que algunos procesos como la glicosilación siguen patrones diferentes al que tienen las células de mamífero, por ello siempre es

necesario verificar los resultados obtenidos en levaduras reproduciendo la situación, primero en células de vertebrados modelo y en caso de ser eficaces, seguir las diferentes fases clínicas de verificación del medicamento.

1.2. El Alzheimer y sus posibles causas

1.1.1. ¿De dónde proviene el término Enfermedad de Alzheimer?

A comienzos del siglo XX, se comenzó a describir la presencia de lesiones extracelulares en el cerebro de algunos pacientes con demencia. El psiquiatra alemán Alois Alzheimer tenía bajo su cargo a una paciente, con estados de paranoia y pérdida de memoria, tras la muerte de esta, la autopsia reveló atrofia cerebral, pérdida neuronal y espesos haces fibrilares en forma de ovillos, estableciendo así las primeras bases patológicas de la enfermedad que porta su nombre. Posteriormente el médico Emil Kraepelin propuso que el conjunto de estos tres síntomas se denominaría "enfermedad de Alzheimer" como actualmente se conoce (revisado por Elliott et al. 2016).

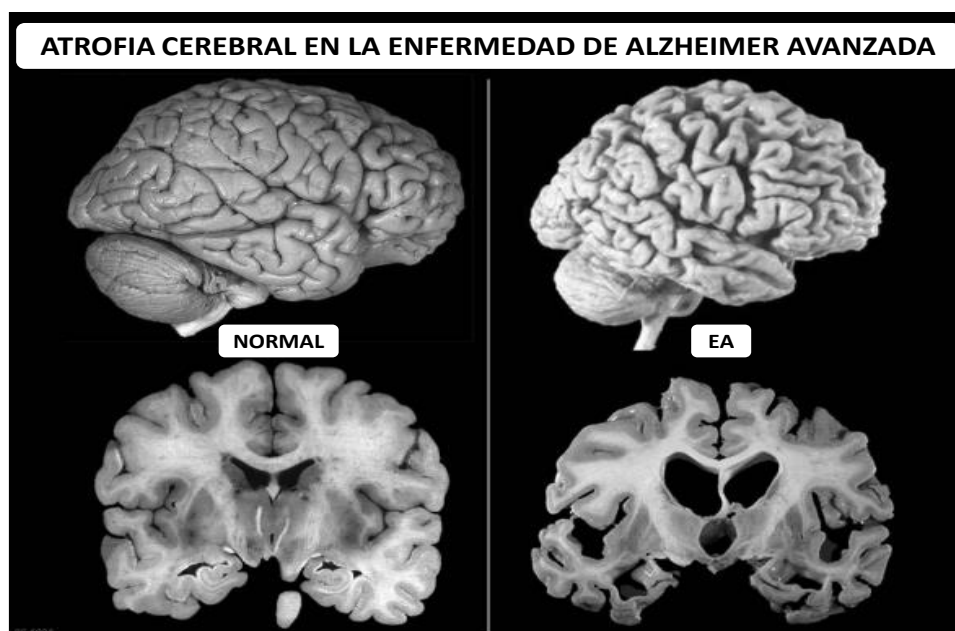


Figura 2. Comparativa entre un cerebro sano y uno enfermo de EA (modificado de <http://es.blastingnews.com/salud-belleza/2015/01/fugas-en-los-vasos-sanguineos-del-cerebro-pueden-conducir-a-la-enfermedad-de-alzheimer-00246837.html>)

La enfermedad de Alzheimer (EA) es definida como "un síndrome debido a una enfermedad del cerebro, generalmente de naturaleza crónica y progresiva, en la que hay déficits de múltiples funciones corticales superiores que repercuten en la actividad cotidiana del enfermo" (OMS, Dickenson et al., 2013; Asward et al., 1987). La EA es la forma más común de demencia: se calcula que representa entre un 60% y un 70% de los casos (OMS; Dickenson et al., 2013).

Entre las funciones corticales superiores que el enfermo va perdiendo progresivamente figuran la memoria a corto plazo, el entendimiento, el juicio, el habla, el cálculo, el pensamiento, la orientación, etc. siendo generalmente la pérdida de memoria uno de los primeros síntomas (Dickenson et al., 2013, Asward et al., 1987, OMS 2016 <http://www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs362/es>).

1.1.2. Aspectos moleculares de la Enfermedad de Alzheimer

Actualmente se considera que hay dos causas principales de la aparición de la enfermedad:

- Origen genético, por mutaciones en tres genes distintos: el gen de la proteína precursora de amiloide (PPA) y los genes de las presenilinas 1 y 2 (Elliott et al., 2016).
- Esporádica, producida por la acumulación de fallos a lo largo del tiempo en la maquinaria neuronal (Saric A et al., 2016, Elliott et al., 2016). Recentemente aparece en la versión digital de una cadena de televisión (19/07/2016 http://www.antena3.com/noticias/salud/descubren-como-forman-placas-alzheimer-cerebro_20160718578d2a704beb2898948b9c09.html).

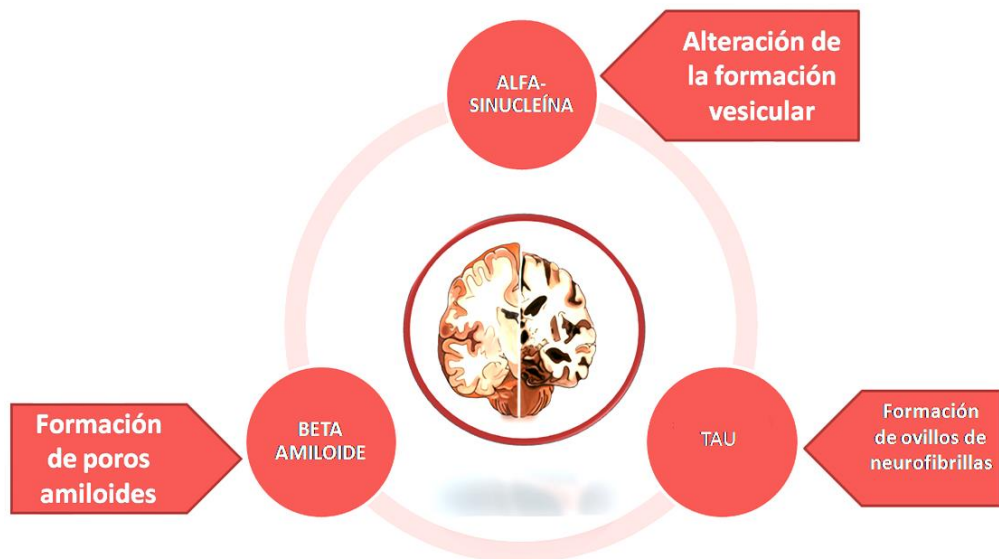


Figura 3. Procesos celulares (flechas) y proteínas (círculos) implicados en la EA

Debemos destacar varias moléculas implicadas en esta enfermedad:

La proteína TAU

TAU es una proteína que contribuye a la organización de los microtúbulos axonales estimulando la polimerización de tubulinas y su estabilización. Cuando TAU se desprende proteolíticamente al citosol se une con otras proteínas TAU creando ovillos de neurofibrillas que causan la desintegración del sistema de transporte de la neurona (Makoto et al., 2003; Elliott et al., 2016).

La interacción de TAU con microtúbulos está regulada por la fosforilación de TAU. Las neuronas presentan, en el Alzheimer grandes inclusiones de TAU en el citoplasma, indicando que TAU se hiperfosforila. Es probable que la fosforilación aberrante de TAU reduzca la capacidad de unión a los microtúbulos axonales, lo que provoca un alteraciones del citoesqueleto en los axones. (Higuchi et al., 2003)

El péptido β -amiloide

Los péptidos β -amiloideos (β A) son fragmentos de 36 a 42 aminoácidos que se generan a partir de la proteína precursora de amiloide (PPA) por fenómenos de proteólisis. En la membrana plasmática de las células cerebrales pueden formar poros (poros de amiloide), que se comportan como canales iónicos selectivos de Ca^{+2} . Se cree que la entrada masiva de Ca^{+2} a través de poros de amiloide es uno de los primeros pasos en la enfermedad de Alzheimer, provocando un desajuste homeostático lo que conlleva a la muerte de la neurona (Asward et al., 1987; Di Scala et al., 2015; Yu et al., 2016; Fantini et al., 2014).

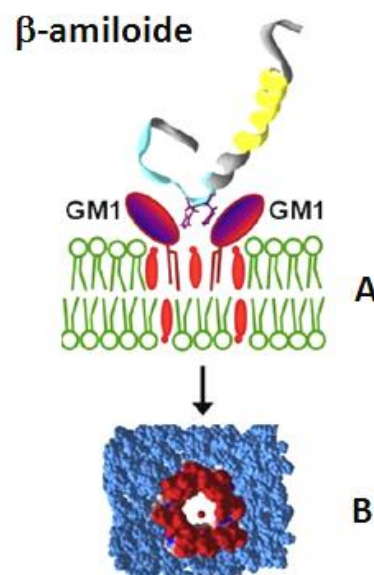


Figura 4. (A) Estructura del péptido β -amiloide anclado en la membrana celular. (B) Representación de un poro amiloide que permite la entrada de Ca^{+2} (Di Scala et al., 2016)

La α -sinucleína (α -syn)

La α -syn es importante en la formación de las vesículas sinápticas. La alteración de la formación vesicular puede disminuir la neurotransmisión y elevar el nivel de los neurotransmisores citosólicos, llegando a producir daños en la neurona.

Ensayos *in vitro* demostraron que, TAU y α -syn pueden polimerizarse conjuntamente formando filamentos patológicos. Al igual que péptido β -amiloide, α -syn genera en la membrana neuronal poros, que se comportan como canales iónicos selectivos de Ca^{+2} , provocando también un desajuste homeostático (Asward D. et al., 1987; Higuchi et al., 2003, Auluck et al., 2010).

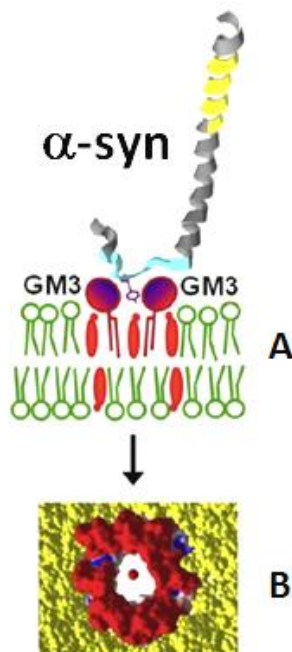


Figura 5. (A) Estructura de la α -syn anclada en la membrana celular.

(B) Representación de un poro de α -syn que permite la entrada de Ca^{+2} (Di Scala et al., 2016)

1.3. Levaduras humanizadas: estudio del Alzheimer en levaduras

Como se comentó en el primer apartado, las levaduras y las neuronas comparten una maquinaria celular muy similar. Presentan los mismos orgánulos y ambas tienen un sistema vesicular complejo (Tenreiro et al., 2015).

Cuando se expresan proteínas causantes de patologías como la α -sinucleína, en levaduras estas se asocian con la membrana plasmática de una manera altamente selectiva, antes de formar inclusiones citoplasmáticas. Este sistema es fácilmente manipulable y brinda la oportunidad de diseccionar las vías moleculares que subyacen a la biología normal o anormal de las proteínas patógenas y las consecuencias de su mal plegamiento. (Fleming et al., 2003).

1.3.1. Búsqueda de nuevos fármacos con levaduras

Actualmente, existen empresas cuyos objetivos son el de investigar enfermedades neurodegenerativas, trabajando con levaduras. Este es el caso de la empresa americana Yumanity Therapeutics. Yumanity (acrónimo de Yeast-Humanity) trabaja en el descubrimiento de fármacos para enfermedades neurodegenerativas causadas por el mal plegamiento de proteínas. Fundada en diciembre de 2014 por la experta científica en plegamiento proteico Susan Lindquist y el líder de la industria biotecnológica Tony Coles. Trabajan en identificar fármacos y desarrollar nuevas terapias para enfermedades con necesidades médicas no cubiertas especialmente en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson entre otras. Actualmente ya han identificado nuevas dianas potenciales para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y desarrollando nuevos compuestos para la enfermedad de Alzheimer (<http://yumanity.com/publications/>) y la esclerosis lateral amiotrófica. (Yumanity Therapeutics <http://yumanity.com/>)

1.3.2. Ejemplo de tratamiento contra el Alzheimer obtenido gracias a investigación con levaduras

Una de las principales dianas en la terapia contra el Alzheimer es intervenir sobre el péptido β A, inhibiendo su producción, su agregación o su respuesta inflamatoria. La inhibición de la agregación de β A es de un interés terapéutico por la extrema toxicidad que este produce en las neuronas (Fantini et al., 2014). El compuesto **2-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-[1]benzotieno[2,3-d][1,3]oxazin-4-ona** tiene la capacidad de inhibir la agregación del péptido β A (1-42) expresado en células de levadura. El compuesto aumenta la supervivencia de las células de levadura *S. cerevisiae*, inhibiendo la agregación intracelular del péptido β A (1-42) humano por lo que una de sus posibles aplicaciones es el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. (Sanz et al., 2013)

1.4. Público objetivo

Nos planteamos extender a la sociedad la utilidad de las levaduras en el estudio de enfermedades humanas, en este caso el Alzheimer. El público al que nos dirigiremos serán jóvenes y adultos de diferentes poblaciones de la geografía gallega que no tienen porqué estar en contacto directo con la ciencia.

2. OBJETIVOS

A fin de dar a conocer el uso de microorganismos en el estudio de enfermedades humanas como el Alzheimer, y de mostrar la importancia de la investigación con organismos modelo como la levadura *S. cerevisiae* para el avance científico hacia una solución, nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Desarrollar actividades y materiales para dar a conocer el uso de levaduras en la investigación biomédica y asociarlo al estudio del Alzheimer.
2. Poner en práctica las citadas actividades.

3. METODOLOGÍAS

3.1. Búsquedas bibliográficas y enlaces web de interés

Como paso previo a la divulgación de un tema científico es imprescindible una preparación del mismo y para ellos comenzamos buscando a través de PubMed, Web of science y otras páginas web. tanto con el estudio de la enfermedad de Alzheimer y la utilización de la levadura *S. cerevisiae* en el estudio de enfermedades humanas.

3.2. Preparación de actividades previas y participación en actividades divulgativas, contemplando

El desarrollo de actividades y materiales divulgativos, planificación de una actividad de divulgación en un punto científico y elaborar láminas y posters para charlas en eventos futuros.

Planificación:

En la planificación de la actividad frente a un público real nos planteamos:

- Que queremos contar
- Cómo ajustar los contenidos al público objetivo.
- Coordinación entre participantes.
- Ajustar el contenido al tiempo de exposición disponible.
- Coordinación con asociaciones e instituciones.
- Elaborar esquemas y preparación de láminas divulgativas y posters: tanto las laminas como los posters se prepararon en Power Point.

4. RESULTADOS

4.1. Preparación del tema para adaptarlo a divulgación científica

Comenzamos por analizar la bibliografía sobre el estudio de enfermedades humanas en levaduras así como los mecanismos moleculares del Alzheimer. En el apartado introducción, se recoge la parte científica, incluyendo alguna de las imágenes que empleamos posteriormente para la exposición pública en actividades divulgativas que aparecen en los distintos apartados de resultados .

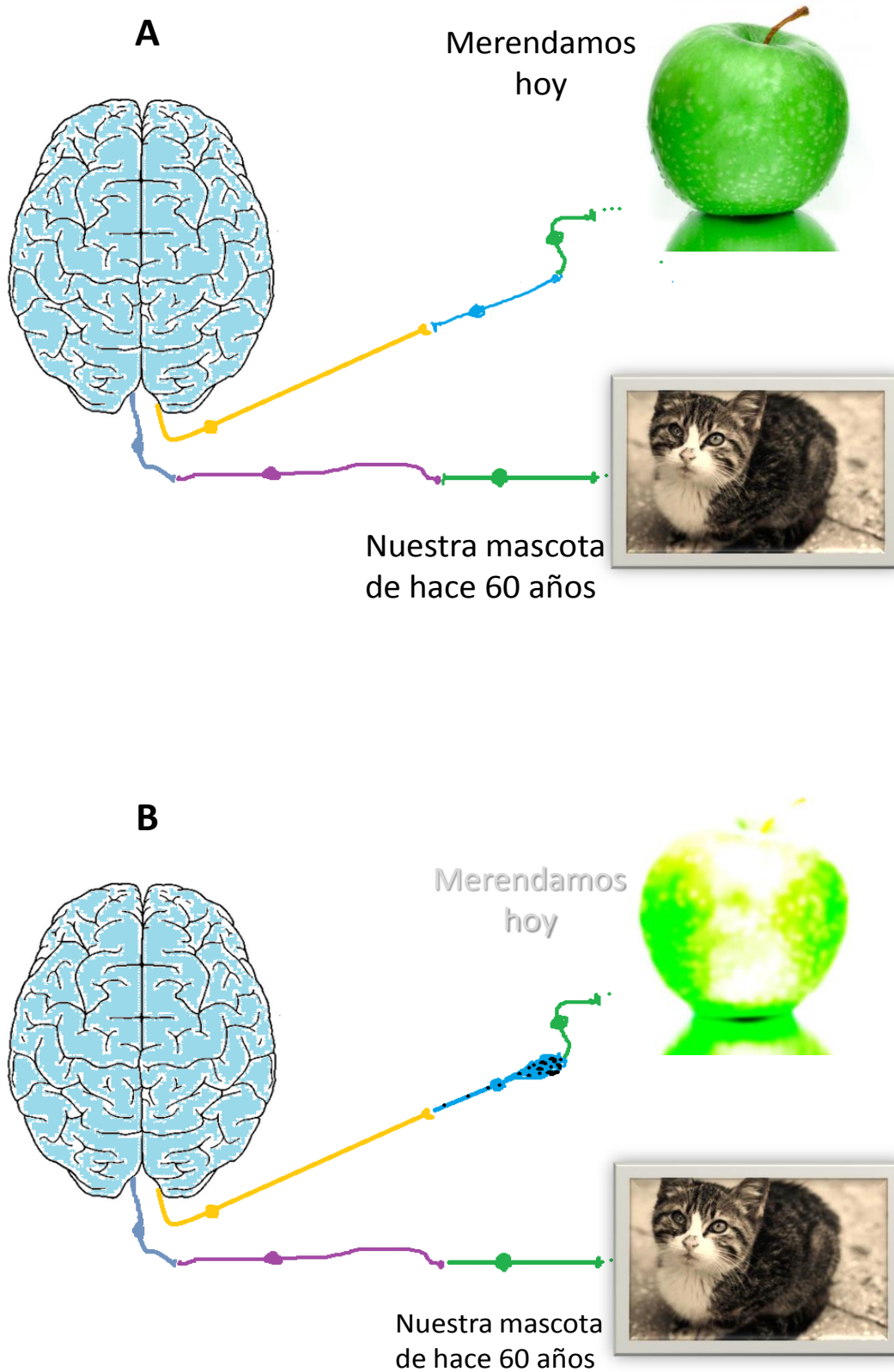


Figura 6. Esquema para explicar (A) la memoria a corto y largo plazo en un individuo sano.
 (B) Caso de un individuo con la memoria a corto plazo dañada.

4.2. Puesta en marcha de una actividad divulgativa

Nos implicamos en una actividad de divulgación organizada por la AGCCCT. La AGCCCT es la Asociación Galega de Comunicación de Cultura Científica e Tecnolóxica, nació en 2011 en Santiago de Compostela. Sus miembros proceden de diversos ámbitos como la docencia, investigación, periodismo, empresa etc. La directora de de este trabajo es miembro de esta asociación y es por eso que nos implicamos en ello puesto que permitió llevar a la práctica parte del trabajo elaborado y tener una experiencia real.

Tras la coordinación de los interesados en la participación en el punto Científico en Ponteareas con la AGCCCT, la asociación y el ayuntamiento de la localidad, se elaboraron los trípticos del Punto Científico.



Figura 7. Tríptico de la actividad organizada por la AGCCCT en Ponteareas, abril 2016.

¿Qué es un punto científico?

Entre las diferentes actividades, la AGCCCT organiza los llamados Puntos Científicos. Un punto científico es un formato de divulgación científica generalmente "a pie de calle" que combina actividades como minicharlas y talleres, con otros formatos aparentemente desvinculados de la ciencia como teatro, música y el mundo audiovisual (PUNTO CIENTÍFICO). La asociación AGCCCT lleva a sus espaldas numerosos éxitos en este formato novedoso (<http://divulgacion.org/>).

4.3.1. Crónica de la charla del Punto Científico: Pódese estudar o Alzheimer en lévedos?

Tras una breve introducción sobre el tema, se explicó que es el Alzheimer, contando lo que es la memoria a corto y largo plazo con ejemplos sencillos (Fig 5 A y B). Empleamos una serie de láminas y materiales como muelles o pelotas para apoyar nuestra exposición. Se expusieron las posibles causas de la aparición de la enfermedad, involucrando al público en un ejemplo de neuronas dañadas y posteriormente se utilizaron láminas y muelles para hablar del plegamiento defectuoso de proteínas a nivel molecular. Para explicar los daños que producen en la neuronas los compuestos culpables de la enfermedad de Alzheimer, se usaron imágenes intuitivas como las que aparecen en la figura (8 A) junto con actividades para fomentar la participación de los espectadores.

Finalmente, una vez explicado lo que sucede molecularmente, se habló de la importancia de experimentar con fármacos en la levadura *S. cerevisiae* para combatir los problemas que se originan en las células afectadas en el Alzheimer.

En la actividad, participó público de todas las edades, como se puede observar en la figura (8 B).



Figura 8. (A) Explicando las bases moleculares del Alzheimer delante del Ayuntamiento de Pontareas.

4.3.2. Visibilidad de la actividad divulgativa.

El acontecimiento tuvo una gran visibilidad, anunciado con anterioridad en Facebook (<https://www.facebook.com/divulgacionAGCCT/?fref=nf>), Twitter (<https://twitter.com/divulgACCION>), página web de la asociación (<http://divulgacion.org/2016/04/18/punto-cientifico-na-semana-das-ciencias-de-pontareas/>) y en el página web del propio ayuntamiento (<http://concellodepontareas.org/portal/semana-das-ciencias/>).

Posteriormente, se redactó un resumen crítico sobre el evento en la página de la asociación (<http://divulgacion.org/2016/04/23/exito-do-punto-cientifico-en-ponteareas/>).



Figura 8. (B) Ejemplo de la variedad de edades del público que participó como voluntarios.

4.3. Preparación de nuevos materiales divulgativos

A partir de la experiencia se prepararon dos posters informativos sobre la enfermedad del Alzheimer y se hizo un esfuerzo de simplificación de contenidos que se recogen en los posters. Para ello, además diseñamos una serie de esquemas que integran la información para que esta resulte más atractiva y fácil de entender.

Se elaboraron dos pósters según el público al que es dirigido

- Póster Nº1: diseñado a público de menor edad ó sin conocimientos científicos, aplicable a una exposición en un colegio o en otro punto científico.
- Póster Nº2: diseñado para el público adulto, con nivel conocimientos científicos medio, aplicable a eventos científicos divulgativos más especializados.

EMPLEANDO LEVADURAS PARA ESTUDIAR LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

ALEJANDRO PEIXOTO RODRÍGUEZ
FACULTADE DE CIENCIAS DA UNIVERSIDADE DA CORUÑA

¿POR QUÉ PODEMOS USAR LEVADURAS?



¿QUE ES EL ALZHEIMER?

"UN SÍNDROME DEBIDO A UNA ENFERMEDAD DEL CEREBRO, GENERALMENTE DE NATURALEZA CRÓNICA O PROGRESIVA, EN LA QUE HAY DÉFICITS DE MÚLTIPLES FUNCIONES CORTICALES SUPERIORES QUE REPERCUTEN EN LA ACTIVIDAD COTIDIANA DEL ENFERMO" OMS



AL IGUAL QUE LAS HOJAS SE DESPRENDEN LENTAMENTE A MEDIDA QUE SE ACERCA EL OTOÑO, LAS NEURONAS SE MUEREN EN UN CEREBRO CON ALZHEIMER

(modificado de <http://naukas.com/2016/06/28/se-puede-diagnosticar-la-enfermedad-de-alzheimer-en-un-simple-analisis-de-sangre/>)



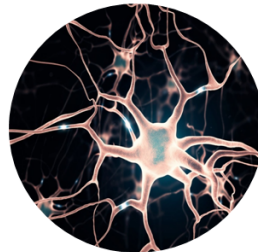
EL COMPUESTO INHIBIE LA AGREGACIÓN INTRACELULAR DEL PÉPTIDO Aβ HUMANO EXPRESADO EN *Saccharomyces cerevisiae*, AUMENTANDO SU SUPERVIVENCIA (Sanz et al., 2013)

¿PUEDEN AYUDARNOS LAS LEVADURAS A COMBATIR EL ALZHEIMER? ¿QUÉ ES LO QUE LO PROVOCA?

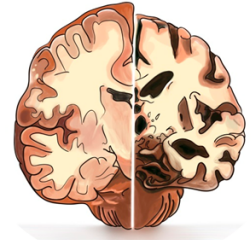
ALEJANDRO PEIXOTO RODRÍGUEZ
FACULTADE DE CIENCIAS DA UNIVERSIDADE DA CORUÑA



MAQUINARIA
CELULAR MUY
CONSERVADA



=



FÁCIL MANIPULACIÓN
GENÉTICA

SISTEMA VESICULAR
COMPLEJO

EXPERIMENTACIÓN
CON FARMACOS CON
RESULTADOS
RÁPIDOS

SUS MUTACIONES
PUEDEN
EXPRESARSE EN
LEVADURAS

TRAFICO
VESICULAR MÁS
COMPLEJO PERO
MUY SIMILAR

ALZHEIMER

FOSFORILACIONES
ABERRANTES
=
FORMACIÓN DE
NEUROFIBRILLAS
=
DESINTEGRACIÓN
SISTEMA VESICULAR
NEURONAL

PROTEÍNAS TAU

ALTERACIÓN PROCESO
VESICULAR
=
RED. NEUROTRASMISIÓN
=
CONCENTRACIÓN
NEUROTRASMISORES
CITOSOLICOS
=
DAÑOS NEURONALES

α-SINUCLÉINA

AGREGACIÓN
=
FORMACIÓN DE POROS
(Ca⁺²) EN LA MEMBRANA
=
ENTRADA MASIVA DE Ca⁺²
=
DESAJUSTE HOMEOSTASIS
=
MUERTE NEURONAL

β-AMILOIDE

*2-metil-5,6,7,8-
tetrahydro-4H-
[1]benzotieno[2,3-
d][1,3]oxazin-4-
ona*

INHIBE LA AGREGACIÓN
DEL PÉPTIDO β-AMILOIDE
HUMANO EXPRESADO EN
LEVADURAS
=
MAYOR SUPERVIVENCIA DE LAS
LEVADURAS
=
PODRÍA USARSE EN HUMANOS

4.4. Reflexión crítica

La elaboración de un proyecto divulgativo exige adaptar el contenido científico a un nivel comprensible para un público no experto. En nuestro caso, se tuvo especial cuidado en ajustar el complejo contenido de un tema como el Alzheimer, eliminando en lo posible aquellos términos que pudieran generar dudas, o bien cambiándolos por otras expresiones más claras. Esta labor fue uno de los puntos más difíciles debido a que la tarea previa de conocer la enfermedad de Alzheimer supone la comprensión de mecanismos y terminología científica específica del tema.

Otro de los puntos que requirió más tiempo fue la preparación de los materiales, buscando su fácil comprensión y con el menor texto posible, como es el caso de los posters. Estos requisitos nos llevaron a ser críticos con cada aspecto de la enfermedad que se pretendía explicar, realizando un ejercicio de simplificación continua. Expresarse en público se vio facilitado por la participación durante los cursos del Grado en Biología en numerosas exposiciones de seminarios en el aula. Además, en el Punto Científico resultó muy satisfactorio colaborar con otros divulgadores, presenciando otras formas de acercarse al público, como el teatro, los juegos o los talleres científicos.

En la puesta en práctica, en Pontearreas, los asistentes además de participar activamente en la propia exposición se sintieron a gusto preguntando de modo coloquial dudas relacionadas con la enfermedad incluso ya finalizado el evento.

Todo lo explicado nos confirmó que nuestra participación fue efectiva, puesto que los receptores de nuestro mensaje estaban muy interesados.

La experiencia adquirida ha servido también para adaptar nuevos contenidos para usos divulgativos, como por ejemplo los dos posters diseñados con posteridad al evento científico.

Desde el punto de vista personal esta experiencia me anima a continuar acercando la ciencia a la gente.

5. BIBLIOGRAFÍA

Asward D., Bowen D., Brinton R., Collier T. et al. (1987) *Molecular Neuropathology of Againt.* (ed. Davies P. and Finch C.) Banbury Report, USA. ISSN: 0198-0067

Auluck K.P, Caraveo G. and Lindquist S.(2010) α -Synuclein: Membrane Interactions and Toxicity in Parkinson's Disease. *Annual Reviews. Cell Dev. Biol.* 26 : 211–33

Chung C.Y, Khurana V., Auluck P.K., Tardiff D. F. et al. (2013) Identification and Rescue of α -Synuclein Toxicity in Parkinson Patient-Derived Neurons. *Science* 342(6161):983-987

Di Sacla C., Yahi N., Flores A., Boutemour S. et al. (2016) Broad neutralization of calcium-permeable amyloid pore channels with a chimeric Alzheimer/Parkinson peptide targeting brain gangliosides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862 : 213–222

Dickenson J., Freeman F., Lloyd C., Sivasubramaniam S. et al. (2013) *Molecular Pharmacology from DNA Drug Discovery.* Wiley-Blackwell, UK. ISBN: 978-0-470-68443-6

Elliott J. M., Milos D. I., Scott E. C., Sylvia E. P. et al. (2016) Molecular and cellular pathophysiology of preclinical Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 311 : 54-69

Fleming T. and Lindquist S. (2003). Yeast Cells Provide Insight into Alpha-Synuclein Biology and Pathobiology. *Science* 302 : 1772-1775

Heinisch J. J. and Brandt R. (2016) Signaling pathways and posttranslational modifications of tau in Alzheimer's disease: the humanization of yeast cells. *Microbial Cell* 3 : 135-146

Higuchi M., Trojanowski Q. J., M. V. and Lee Y. (2003) Pathobiological features in neurodegenerative diseases: an overview. *International Congress Series* 1260 : 69– 75

Javier S. S., Laura R., Catalina L., José Alberto V. et al. (2012) Compuestos inhibidores de la agregación del péptido beta amiloide. Universidad de Zaragoza. Patente WO 2013079745 A1

Šarić A. , Buell A. , Meisl G. and Michaels T. (2016) Physical determinants of the self-replication of protein fibrils. *Nature Physics*. DOI: 10.1038/nphys3828.

Tardiff DF, et al. (2013) Yeast Reveal a "Druggable" Rsp5/Nedd4 Network that Ameliorates α -Synuclein Toxicity in Neurons. *Science* 342 : 979-983

Tenreiro S., Rosado-Ramos R., Gerhardt E., Favretto F. et al. (2015) Yeast reveals similar molecular mechanisms underlying alpha- and beta-synuclein toxicity. *Human. Molecular Genetics* 25 : 275-290

Treusch S., Hamamichi S., Goodman J. and Matlack K. E. S. et al (2011) Functional Links Between A β Toxicity, Endocytic Trafficking and Alzheimer's Disease Risk Factors in Yeast. Science 334 : 1241 - 1245

You Y., Li Y. and Zhang Y (2016) Yeast Two-Hybrid Screening for Proteins that Interact with the Extracellular Domain of Amyloid Precursor Protein. Neurosci. Bull. 32 : 171–176

6. ENLACES WEB

– Alzheimer

<https://www.youtube.com/watch?v=dj3GGDuu15I> , Mechanisms and secrets of Alzheimer's disease: exploring the brain, de donde se saco las imágenes para elaborar los GIFs de la presentación en Power Point.

<http://yumanity.com/> Página oficial de la empresa Yumanity Therapeutics.

<http://yumanity.com/publications/> sección de publicaciones de la página web de Yumanity Therapeutics.

<http://www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs362/es> enlace web de la OMS sobre la demencia.

http://www.antena3.com/noticias/salud/descubren-como-forman-placas-alzheimer-cerebro_20160718578d2a704beb2898948b9c09.html enlace web de la nota de prensa de Antena 3 sobre el descubrimiento de la formación de las placas amiloides en el Alzheimer.

<http://es.blastingnews.com/salud-belleza/2015/01/fugas-en-los-vasos-sanguineos-del-cerebro-pueden-conducir-a-la-enfermedad-de-alzheimer-00246837.html> modificado para hacer la figura 2.

<http://naukas.com/2016/06/28/se-puede-diagnosticar-la-enfermedad-de-alzheimer-en-un-simple-analisis-de-sangre/> imagen modificada para incluir en el póster nº 1

– Divulgación a través de la AGCCCT

<http://divulgacion.org> página oficial de la Asociación Galega de Comunicación de Cultura Científica e Tecnolóxica.

<http://divulgacion.org/2016/04/18/punto-cientifico-na-semana-das-ciencias-de-ponteareas/> enlace web del tríptico del punto científico en Ponteareas.

<http://divulgacion.org/2016/04/23/exito-do-punto-cientifico-en-ponteareas/> enlace web que recoge el éxito del punto científico en Ponteareas.

<http://concellodeponteareas.org/portal/semana-das-ciencias/> página web del Ayuntamiento de Ponteareas donde se hace publicidad al Punto Científico.

– **Otros**

<http://viniculatorresalegrexfamilia.com/blog/elaboracion-vino/2011/11/03/por-que-utilizar-levadura-seleccionada-para-la-elaboracion-de-vino/> imagen modificada para hacer imagen de portada de levaduras.