

RESUMEN

Las enfermedades neurodegenerativas son devastadoras para la salud, principalmente porque son progresivas, complejas y actualmente incurables. La proteostasis es esencial para el correcto funcionamiento celular, y su alteración es una característica de muchos de estos trastornos. Las enfermedades por expansión de poliglutaminas (poliQs) son un grupo de enfermedades de baja prevalencia causadas por expansiones de repeticiones del trinucleótido CAG en genes específicos, lo que produce proteínas con largas colas de poliQs que adquieren una ganancia de función tóxica y tienden a plegarse incorrectamente y a agregarse en el cerebro. Como consecuencia, los sistemas de control de calidad celular se ven comprometidos, lo que conduce a toxicidad y disfunción neuronal progresiva. Entre todas, la enfermedad de Huntington (EH) es la más prevalente. Se sabe que el contexto genómico de los individuos influye en la toxicidad y la agregación de las proteínas, lo que repercute en la patología. Algunos genes son protectores y retrasan la aparición de los síntomas, mientras que otros aceleran la progresión de la enfermedad. Encontrar estos genes modificadores puede ser útil para el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas. En esta tesis, utilizamos el nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como organismo modelo para investigar los mecanismos que regulan la proteostasis y la homeostasis celular e identificar genes modificadores, centrándonos especialmente en dos vías: las sirtuinas mitocondriales y la señalización del calcio dependiente de las fosfolipasas C (PLC).

En el capítulo 1 investigamos el papel de la sirtuina mitocondrial SIR-2.3, el ortólogo del gusano de SIRT4 de mamíferos, en la modulación de la toxicidad de las polyQs y la huntingtina mutante en modelos de gusano y células humanas. Las sirtuinas son enzimas dependientes del NAD⁺ que influyen en diversos procesos, como el metabolismo, la expresión génica y las respuestas al estrés. Observamos que la pérdida de *sir-2.3* reduce la agregación neuronal de polyQ y la toxicidad de la huntingtina mutante. La ausencia de la función *sir-2.3* aumenta la resiliencia neuronal a través de la activación de AMPK y la autofagia. Los factores de transcripción DAF-16/FOXO y NHR-49 contribuyen a estos efectos neuroprotectores. Para investigar la aplicabilidad traslacional de estos resultados, empleamos inhibidores suaves de la ATP sintasa (tomatidina y bedaquilina) para replicar los efectos de la delección de *sir-2.3*. Estos fármacos disminuyeron eficazmente la agregación neuronal de polyQs y la toxicidad de la huntingtina mutante. Estos hallazgos destacan la vía SIRT4-AMPK como un regulador

importante que conecta el metabolismo mitocondrial, la autofagia y el homeostasis neuronal en la EH.

El capítulo 2 se centra en el papel de la dinámica del calcio intracelular, controlada por las PLC, en el mantenimiento de la homeostasis proteica. Estas enzimas catalizan la hidrólisis del PIP_2 en IP_3 y DAG, lo que desencadena la liberación intracelular de calcio y la activación de vías de señalización esenciales para la homeostasis celular. La alteración de las isoformas, incluyendo *plc-1* ($\text{PLC}\epsilon$), *plc-2* y *egl-8* ($\text{PLC}\beta$), *plc-3* ($\text{PLC}\gamma$) y *plc-4* ($\text{PLC}\delta$), en gusanos que expresan proteínas con polyQs en los músculos de la pared corporal condujo a un aumento de los cuerpos de inclusión de polyQs y a defectos motores. Cabe destacar que no todas las isoformas de las PLC se expresan en el tejido muscular, lo que indica que algunas actúan a través de mecanismos no autónomos de las células. A continuación, seleccionamos el ortólogo de $\text{PLC}\epsilon$, *plc-1/PLCE1*, para analizar más a fondo la vía de señalización IP_3 /calcio. La pérdida de función de *plc-1* incrementa la agregación y disminuye la función neuronal. La expresión inducible de una “esponja” que secuestra al IP_3 reprodujo los efectos de la ablación de PLC-1. Identificamos el ortólogo del receptor de IP_3 en *C. elegans*, *itr-1*, como mediador clave de este efecto, ya que mutantes de ganancia de función de *itr-1* rescatan el fenotipo. Además, la pérdida de *plc-1* aumentó la agregación de α -sinucleína, lo que indica un papel más amplio en la proteostasis más allá de la toxicidad relacionada con poliQ. En conjunto, estos hallazgos identifican a la PLC-1 como un regulador conservado que integra la señalización del calcio con la proteostasis a través de mecanismos tanto autónomos como no autónomos de las células.

De manera inesperada, durante los experimentos del capítulo 2, observamos que algunos mutantes *plc-1* desarrollaban grandes quistes en el sistema excretor, lo que recuerda a los mutantes con defectos en la célula excretora. Esto nos llevó a investigar el papel de PLC-1 en la polaridad epitelial. El sistema excretor de *C. elegans* es un órgano tubular simple en forma de H con una célula excretora altamente polarizada, lo que lo convierte en un modelo ideal para estudiar la polaridad apico-basal. Descubrimos que PLC-1 es necesario para la formación adecuada del canal excretor y que interactúa genéticamente con FLN-2 (el ortólogo del gusano de la filamina, una proteína organizadora de actina) y EXC-7 (homólogo más cercano de la proteína de unión a RNA ELAV). Ambas proteínas se localizan en la membrana apical y colocalizan con marcadores apicales de polaridad PAR, lo que sugiere que cooperan para mantener la estructura del citoesqueleto y la polaridad epitelial. Es importante señalar que este efecto es específico de PLC-1, ya que la pérdida de función de otras isoformas de PLC

no produjo quistes. Estos resultados revelan una nueva función de PLC-1 en el desarrollo de órganos tubulares y sugieren que este sistema puede servir como modelo para los trastornos renales humanos que implican defectos de polaridad.

En conjunto, estos hallazgos destacan la utilidad de *C. elegans* como sistema modelo para analizar procesos celulares complejos e identificar modificadores genéticos que influyen en la progresión de las enfermedades neurodegenerativas. Al dilucidar los mecanismos mediante los cuales el eje SIRT4-AMPK y la señalización PLC-1-calcio contribuyen al control de la calidad de las proteínas, este trabajo propone posibles dianas para la intervención terapéutica en estos trastornos.