

PROTEOLISIS CEREBRAL DEL PEPTIDO AMILOIDE β :

RELEVANCIA DE LA ENZIMA DEGRADADORA DE INSULINA EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

MARIA CELESTE LEAL, AGATA FERNANDEZ GAMBA, LAURA MORELLI, EDUARDO M. CASTAÑO

Laboratorio de Amiloidosis y Neurodegeneración, Fundación Instituto Leloir-Instituto de Investigaciones Bioquímicas, CONICET, Buenos Aires

Resumen El aumento global de la expectativa de vida convierte a la enfermedad de Alzheimer (EA) en un problema creciente. Una de las características distintivas de EA es la acumulación excesiva del péptido amiloide β ($A\beta$) en el cerebro. En los últimos años se ha fortalecido el concepto de que la degradación de $A\beta$ por proteasas *in situ* es un mecanismo importante que previene su acumulación cerebral. Datos bioquímicos y genéticos mostraron que la enzima degradadora de insulina (IDE) participa en la homeostasis de $A\beta$ e insulina. La expresión y la actividad de IDE están significativamente disminuidas en cerebros con EA comparados con controles de igual edad. Además, IDE se deposita con $A\beta$ en placas seniles y vasos, indicando un grosero cambio conformacional producto de distintos mecanismos post-traduccionales. Estas alteraciones en la distribución y actividad de IDE resultan en una insuficiente degradación de $A\beta$ e insulina y promueven la formación de oligómeros de $A\beta$ y la resistencia a la hormona, procesos que convergen hacia la neurodegeneración. El estudio de los mecanismos de eliminación de $A\beta$ cerebral no sólo ayudará a comprender la patogenia de EA sino que permitirá una mejor interpretación de los ensayos clínicos en curso y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer, péptido amiloide β , enzima degradadora de insulina

Abstract *Cerebral proteolysis of amyloid- β peptide: Relevance of insulin-degrading enzyme in Alzheimer's disease.* The global increase in life expectancy turns Alzheimer's disease (AD) into a growing problem. One of the distinctive features of AD is the excessive accumulation of amyloid- β ($A\beta$) peptide in the brain. In recent years, a concept that has gained strength is that degradation of $A\beta$ by proteases *in situ* is an important mechanism that prevents cerebral peptide accumulation. Biochemical and genetic data have shown that insulin-degrading enzyme (IDE) participates in $A\beta$ and insulin homeostasis. IDE expression and activity are significantly decreased in AD brains compared to age-matched controls. Also, IDE is deposited with $A\beta$ in senile plaques and blood vessels, indicating a gross conformational change as a consequence of diverse post-translational mechanisms. These alterations in IDE distribution and activity may result in insufficient degradation of $A\beta$ and insulin, promoting the formation of $A\beta$ oligomers and hormone resistance. Both processes might play a fundamental part in neurodegeneration. The study of the clearance mechanisms of cerebral $A\beta$ will not only aid in the understanding AD pathogenesis but will also allow a better interpretation of ongoing clinical trials and the development of new therapeutic strategies.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid- β peptide, insulin degrading enzyme

La Enfermedad de Alzheimer (EA) representa un problema creciente de salud pública mundial. Dado que su principal factor de riesgo es la edad avanzada y la expectativa de vida es cada vez mayor, se estima que el número de individuos con EA se cuadruplicará para 2050¹. En Argentina, el 10% de la población corresponde a mayores de 65 años, siendo el tercer país más envejecido

de América Latina, y se estima que 1 de cada 10 individuos mayores de 65 años padecen^{2, 3} la enfermedad.

La expresión clínica de EA se caracteriza por un periodo inicial de deterioro cognitivo de 2-3 años de difícil diagnóstico y una posterior declinación grosera y progresiva de la memoria, y el desarrollo de afasia, apraxia y agnosia que reflejan el daño en el hipocampo y la neocorteza asociativa. Los cerebros con EA muestran atrofia generalizada y a nivel histológico presentan placas seniles, ovillos neurofibrilares, neuritis distróficas, pérdida de sinapsis, gliosis que predominan en las regiones mencionadas y depósitos vasculares de sustancia amiloide en corteza y leptomeninges.

Recibido: 25-III-2009

Aceptado: 4-V-2009

Dirección postal: Dr. Eduardo M. Castaño, Fundación Instituto Leloir, Avenida Patricias Argentinas 435, 1405 Buenos Aires, Argentina.
Fax: (54-011) 5238 7501 e-mail: ecastano@leloir.org.ar

Las placas seniles en el parénquima cerebral y los depósitos amiloides en vasos están compuestos mayoritariamente por el péptido amiloide β ($A\beta$). Aunque la acumulación de $A\beta$ es común en individuos no dementes de edad avanzada, en EA esta acumulación suele ser mayor y/o más rápida. En la actualidad, las evidencias genéticas, experimentos *in vitro* y en modelos animales sugieren que la acumulación de $A\beta$ cerebral en forma de oligómeros podrían ser un factor importante en el desarrollo del deterioro cognitivo⁴; de allí que la remoción de $A\beta$ del cerebro es una de las estrategias terapéuticas para EA actualmente en fase de ensayo clínico. $A\beta$ es uno de los productos normales de proteólisis interna de una proteína de membrana conocida como APP (de *amyloid precursor protein*). La acumulación excesiva de $A\beta$ en EA podría explicarse por varios mecanismos, algunos de ellos convergentes. Incluyen una producción aumentada de $A\beta$, una cinética de agregación o autoensamblado rápida y una eliminación defectuosa del cerebro como resultado de: 1. un transporte anormalmente lento desde el líquido intersticial cerebral hacia el líquido cefalorraquídeo (drenaje perivascular) o el plasma (transporte a través de capilares) y 2. una degradación proteolítica deficiente⁵. El exceso en su producción o la mayor tendencia de $A\beta$ a la oligomerización pueden explicar el depósito acelerado de $A\beta$ en algunas formas raras de EA hereditaria, causadas por mutaciones en APP o en los genes de las llamadas presenilinas 1 y 2, componentes del complejo γ secretasa responsable de la generación de $A\beta$. En cambio, la eliminación deficiente podría ser relevante en el envejecimiento cerebral normal y podría estar magnificada en las formas más frecuentes de EA denominadas esporádicas. Más allá de un factor de riesgo bien definido, como la herencia de uno o dos alelos $\epsilon 4$ de apolipoproteína E, la forma esporádica de EA tiene probablemente múltiples factores de riesgo que incluyen traumatismos craneanos, episodios isquémicos, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, entre otros, y una patogenia compleja que está aún lejos de ser comprendida. De alguna manera, los mecanismos patogénicos, aunque diversos, convergen parcialmente hacia la acumulación de $A\beta$ cerebral⁶⁻⁹.

En el cerebro, $A\beta$ se puede encontrar en forma de monómeros y oligómeros "solubles" (que no precipitan con la ultracentrifugación y de forma esférica o anular) o como depósitos de fibras insolubles, claramente visibles con el microscopio óptico, como constituyente mayoritario de las placas seniles. La hipótesis dominante en la actualidad propone que los oligómeros solubles de $A\beta$ son agentes que causan daño neuronal y pérdida sináptica. El proceso de auto-ensamblado de $A\beta$ que lleva a la formación de oligómeros, al menos *in vitro*, sigue una cinética de nucleación. En este mecanismo, la nucleación es dependiente de la concentración de $A\beta$ y

del tiempo de permanencia, y tiene lugar cuando se supera la concentración crítica del péptido. Por lo tanto, los niveles estacionarios y transitorios de $A\beta$ monomérico en el cerebro y los mecanismos que los regulan adquieren una gran importancia. La producción de $A\beta$ monomérico depende principalmente de la velocidad con la que se libera a partir de APP por acción secuencial de las llamadas β y γ secretasas, que respectivamente cortan el amino y carboxilo terminales del péptido. En la eliminación de $A\beta$ tiene una participación importante la degradación *in situ* por proteasas. Algunas de las proteasas de $A\beta$ con mayor relevancia fisiológica en el cerebro son la nepri-lisina (NEP), enzima degradadora de insulina (IDE, de *insulin-degrading enzyme*) y la enzima convertidora de endotelina (ECE), como fue demostrado por sobreexpresión o delección de sus respectivos genes en modelos animales¹⁰⁻¹⁴ (Tabla 1). Revisaremos aquí brevemente la posible relevancia de IDE en la patogenia de EA esporádica.

IDE es una zinc metaloendopeptidasa ubicua y muy conservada que pertenece a la familia M16 definida por una secuencia canónica "invertida" en el sitio activo (His-X-X-Glu-His en lugar de His-Glu-X-X-His) comparada con otros miembros del clan¹⁵. Está codificada por un gen en el cromosoma 10q23-q25¹⁶ y presenta 2 codones alternativos de iniciación de la traducción, Met1 y Met42, siendo este último el sitio de iniciación más utilizado¹⁷. Se traduce como un polipéptido único de 115 kDa y ha sido extensamente involucrada en la regulación de la degradación de insulina, su sustrato con mayor afinidad.

A nivel genético existen estudios que vinculan un mayor riesgo de EA esporádica de inicio tardío con un locus en el cromosoma 10, en una región que incluye el gen de IDE^{18, 19}. Por otro lado, se ha sugerido la asociación genética entre IDE y diabetes mellitus tipo 2 (DM2)²⁰,²¹ reforzando los datos epidemiológicos que indican un alto grado de co-morbilidad entre EA y DM2 o EA e hiperinsulinemia. Aunque se ha comunicado que variaciones genéticas en estrecha proximidad al gen de IDE están asociadas a la severidad clínica y patológica de EA²² y a los niveles plasmáticos de $A\beta$ ²³, no se han detectado mutaciones de IDE, y la asociación entre haplotipos y SNPs de IDE con EA es aún controvertida²⁴.

Definir el peso genético de IDE en la variante esporádica de EA requerirá estudios con mayor poder estadístico, en diferentes poblaciones y, posiblemente, estratificados por otros factores de riesgo, como el genotipo de APOE, (apolipoproteína E). Recientemente se ha sugerido a IDE como un gen que podría influenciar la longevidad en humanos debido a que modularía el metabolismo de insulina. Estos posibles haplotipos "protectores" de IDE estarían sobre-representados en poblaciones longevas de sexo masculino, confiriéndole una complejidad mayor a la interpretación del impacto biológico de estos hallazgos²⁶.

TABLA I.- Peptidasas candidatas para degradar A β en el cerebro humano

Tipo	Proteasa	Localización subcelular				Sobre-expresión (Células)	Ratones K.O (A β cerebral)	Cerebro humano con EA	
		MP	V	IC	EC			Actividad	Expresión de la proteína
Zn ²⁺ -Metalo	N NEP	+				↑ A β (EC e IC)	↑	↓*	↑ Neuronas; ↓ Vasos; + Placas (neuritas distróficas)
	N IDE♦	+∅	+	+	+∇	↓ A β (EC e IC)	↑	↓*	↓ Neuronas; ↑ Vasos; + Placas (A β 40)
	N ECE-1♦b	+	+			↓ A β (EC)	↑	ND	↓ Hipocampo y corteza cerebral
	ECE-1a,c,d	+	+						
	A ECE-2	+							↓ ECE-2 en neuronas
	ACE♦	+			+	↓ A β (EC)	Sin efecto	↓	↓
Serin-proteasa	Plasmina	+				ND	Sin efecto	↓*	↓ Hipocampo y corteza cerebral
Zn ²⁺ /Ca ²⁺ Metalo	N MMP-2					ND	ND	↑	↑ neuronas; + placas (neuritas distróficas)
	MMP-3								
	MMP-9**	+			+			↑	↑ Forma latente de MMP-9 (inactiva)

N, neutra; A, ácida; NEP, neprilisin; IDE, enzima degradadora de insulina; ECE, enzima convertidora de endotelina, ACE, enzima convertidora de angiotensina; MMP, metaloproteasas de matriz.; MP, membrana plasmática; V, vesículas; IC, intracelular, EC, extracelular; ♦, variantes genéticas asociadas con EA; +, presencia; ∅, no presenta dominios trans-membrana; ∇, no presenta péptido señal; K.O, knock-out; ε, asociada al alelo e4 de APOE; **, capaz de degradar A β fibrilar; ND, no determinado

Aunque se desconoce el papel fisiológico preciso de IDE (que muy probablemente sea múltiple), la delección de su gen en ratones lleva a un fenotipo bioquímico que incluye hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, niveles elevados de A β soluble en el cerebro y un aumento sustancial en el fragmento (~50 residuos) intracelular de APP^{11,12}. Estos hallazgos, junto al trabajo previo realizado en cultivos celulares, apoyan la noción que IDE participa en la degradación de estos péptidos *in vivo*, regulando sus niveles fisiológicos^{27,28}. También se ha demostrado que IDE degrada un número de péptidos de secuencias y funciones diversas, que incluyen varios con potencial para formar amiloide *in vivo* e *in vitro* como glucagón, péptido natriurético atrial, amilina, calcitonina, etc.²⁹⁻³².

Fisiológicamente, IDE es un dímero de ~250 kDa, su pH óptimo es neutro, requiere un átomo de Zn²⁺ por monómero y presenta posibles sitios de regulación alostérica por ATP y ácidos grasos de cadena larga^{33,34}. La reciente resolución cristalográfica de una mutante inactiva de IDE unida a la cadena β de insulina, glucagón, amilina y A β reveló que el mecanismo de reconocimiento de sustrato es básicamente conformacional, en el que los péptidos monoméricos adoptan una forma extendida sobre el sitio activo y dentro de una cavidad o cámara interna formada por los dominios amino y carboxilo terminales de cada monómero de la enzima (Fig. 1). Este

estudio confirmó, además, que la tríada His₁₀₈-His₁₁₂-Glu₁₈₉ coordina un átomo de Zn²⁺ y la ubicación de Glu₁₁₁ activando una molécula de H₂O que realiza el ataque nucleofílico sobre el sustrato. Una interesante posibilidad es que IDE exista en conformaciones “abiertas” y “cerradas”, que regularían su actividad. Esta posibilidad surge de la comparación de los cristales entre IDE humana y pitrilisina (Ptr) de *E. coli*, una proteasa que también pertenece a la familia M16 y comparte con IDE un 25% de identidad. IDE y Ptr muestran una distribución espacial muy similar, aunque en IDE los dominios amino y carboxilo terminales están en contacto (forma “cerrada”) mientras que en Ptr están rotados, alejados uno de otro y dejando libre acceso a la cavidad de la enzima (forma “abierta”) (Fig. 1). Funcionalmente, esta posible forma de regulación ha sido sostenida por experimentos con mutantes de IDE en los que residuos importantes en los contactos inter-dominio se sustituyeron por cisteínas de manera de manipular las formas abiertas y cerradas según el estado de óxido-reducción³⁵.

La expresión de IDE en el cerebro es ubicua, tanto en forma regional como celular. A nivel subcelular IDE es predominantemente citosólica, próxima al retículo endoplásmico rugoso³⁶, aunque en menor cantidad ha sido descrita en peroxisomas³⁷ y mitocondrias³⁸. Sin embargo, su localización en la membrana plasmática³⁹,

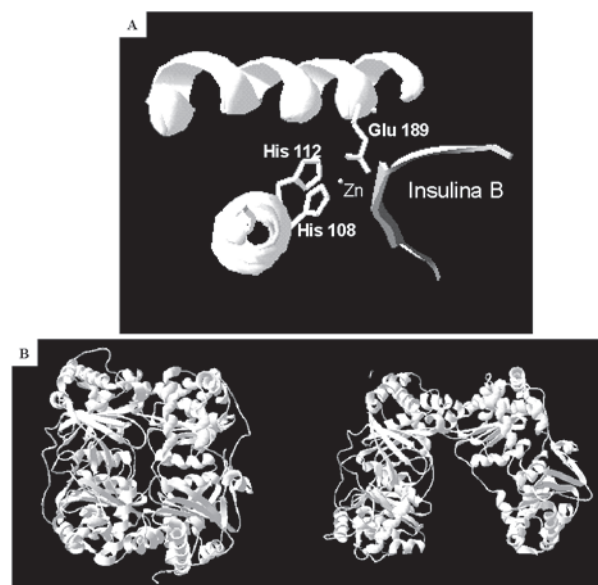


Fig. 1.— Panel A, representación del sitio activo de IDE humana, en la que se observan las dos α hélices que contienen la triada His₁₀₈-His₁₁₂-Glu₁₈₉ que coordina un átomo de Zinc. La región extendida Glu₁₃-Gly₂₀ de la cadena B de insulina se muestra en color gris como sustrato unido al sitio activo (*Protein Data Bank-PDB*, código 2G54). Panel B, comparación estructural de IDE humana con pitrilisina (Ptr) de *Escherichia coli* (PDB, código 1Q2L). A la izquierda, la estructura de IDE donde se pueden observar los extremos amino y carboxilo en contacto (“forma cerrada”); a la derecha, Ptr con los extremos rotados hacia fuera (“forma abierta”). Las figuras fueron realizadas a partir de PDB 2G54 y 1Q2L usando el programa *DeepView/Swiss Pdb Viewer v.3.7*.

endosomas⁴⁰, y medio extracelular²⁷ serían más relevantes para la degradación de A β , un péptido típico de las vías secretoria y endocítica. Con excepción de una señal (Ala-Lys-Leu) para localización peroxisomal en su extremo C-terminal³⁷ y una secuencia en el N-terminal de la variante Met1-IDE que la translocaría a mitocondria³⁸, IDE no presenta otras secuencias o motivos clásicos para determinar su localización subcelular. De allí que los mecanismos y/o modificaciones postraduccionales que intervienen en su unión a membranas y su secreción aún son desconocidos. Se ha descrito la co-existencia de dos isoformas de IDE (15a y 15b), productos del *splicing* alternativo del gen. Dichas isoformas muestran un patrón de expresión similar, pudiendo formar homo o heterodímeros cuya actividad catalítica es significativamente distinta. Este hallazgo abre la posibilidad de una forma de regulación postraducional sobre la actividad de IDE que fisiológicamente podría impactar en la eliminación deficiente de insulina y A β ⁴¹.

Numerosas evidencias acumuladas en los últimos años sugieren que la actividad de las principales proteasas que degradan A β está significativamente re-

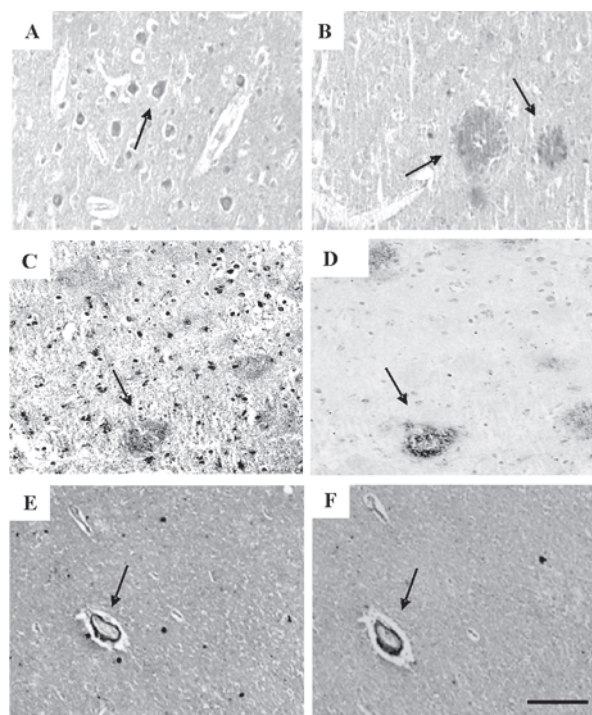


Fig. 2.— Expresión de IDE en corteza cerebral de sujetos controles y con EA. Panel A, imágenes representativas de la presencia de IDE en cuerpos neuronales (flecha) en un corte de parénquima cerebral normal. Panel B, placas seniles (flechas) detectadas con el anticuerpo monoclonal anti-IDE (1C1) en corteza cerebral de EA. Panel C, inmunorreactividad de IDE en placas seniles (flecha) detectadas en cortes adyacentes (Panel D) con un anticuerpo policlonal anti-A β 40. Panel E, inmunomarcación de IDE en vasos corticales de sujetos con EA (flecha) detectados en cortes adyacentes (Panel F) con el anticuerpo anti-A β 40 (flecha). Barra, 70 μ m.

ducida en el cerebro de los individuos con EA esporádica⁴². En el cerebro, IDE se expresa predominantemente en neuronas⁴³, astroglia y en microvasos (pericitos, células endoteliales y musculares lisas)⁴⁴. Considerando que la microvasculatura cerebral está expuesta a altas concentraciones locales de A β debido a que su pasaje a través de la barrera hematoencefálica constituye una de las principales rutas de depuración, esta distribución zonal de IDE refuerza su importancia en la regulación del estado estacionario de A β cerebral.

Mediante hibridización *in situ* se ha detectado una reducción significativa del ARNm de IDE en las células granulares del giro dentado e hipocampo en enfermos con EA⁴⁵. También se ha demostrado la disminución en los niveles de IDE y su actividad en muestras de cerebro de EA al compararlas con individuos no dementes de la misma edad^{46,47}. La reducción de los transcritos de IDE y de los niveles de proteína en individuos con EA pareciera estar influenciada por la portación del alelo ϵ 4 de

APOE⁴⁵. Por otro lado, en microvasos aislados de corteza cerebral con depósitos de A β de cerebros con EA, los niveles de IDE están ligeramente aumentados pero su actividad fuertemente reducida, sugiriendo la inhibición o inactivación de la proteasa por mecanismos aún no establecidos⁴⁴. Estos podrían incluir el daño oxidativo, al cual IDE es muy susceptible⁴⁸ o, alternativamente, un cambio conformacional grosero que lleva a la agregación de IDE. Los depósitos detectables por inmunohistoquímica con diversos anticuerpos específicos para IDE en las placas seniles y microvasos corticales en cerebros con EA⁴⁹ (Fig. 2) están a favor de la última posibilidad, aunque los mecanismos que llevan a la agregación de IDE no están aclarados. Una notable propiedad de IDE que quizás esté relacionada con su agregación cerebral es la de formar complejos altamente estables con A β , que resisten la desnaturalización con caotrópicos, detergentes y ácidos. La estabilidad de estos complejos, que pueden ser detectados en muy pequeñas cantidades en el cerebro normal y en los depósitos amiloides en EA es reminiscente de la auto-asociación de monómeros de A β y podría reflejar una vía no productiva de la interacción conformacional de IDE con sus sustratos arriba mencionada. Los datos de competencia con preincubación con sustratos y la proteólisis limitada seguida de análisis por espectrometría de masa sugieren que parte del dominio catalítico de IDE está involucrado en la formación de complejos estables con la región central de A β , que determina su tendencia a la formación de amiloide. De esta manera, los aductos IDE-A β no podrían unir sustrato y podrían reflejar un cambio conformacional irreversible⁵⁰.

Además de las alteraciones que IDE podría sufrir en EA que impactan en su capacidad de degradar A β cerebral, existen otros mecanismos relacionados con la degradación de insulina por los cuales IDE participaría en el desarrollo de la enfermedad. El reconocimiento de la asociación entre DM2-resistencia a la insulina y el riesgo de EA introduce una nueva posibilidad para la participación de IDE en particular (independiente de otras proteasas de A β , como NEP o ECE), ya que es la principal proteasa que degrada insulina *in vivo*¹¹. En su forma más sencilla, esta hipótesis sostiene que una menor actividad de IDE provocaría una disminución en la remoción de insulina, con el consiguiente desarrollo de resistencia a la hormona en neuronas y células gliales en forma similar a lo que ocurre en tejidos periféricos⁷. En el SNC, la activación de la vía de insulina participa en un balance esencial entre señales de supervivencia o muerte celular, y la resistencia de esta vía ha sido propuesta como un mecanismo involucrado en la neurodegeneración en EA⁵¹. Más aún, la expresión de IDE en neuronas estaría promovida por la vía de insulina-PI3K-Akt⁵² por lo que una menor respuesta a la hormona des-

encadenaría un proceso vicioso que incluiría una menor degradación de A β .

En resumen, la acumulación excesiva de A β y sus oligómeros en el cerebro de los pacientes afectados con EA esporádica es el resultado de múltiples factores genéticos y ambientales. El estudio profundo de la claudicación progresiva de los mecanismos normales de remoción de A β cerebral, incluyendo su degradación por IDE y otras proteasas, es importante no sólo para comprender la compleja patogenia de EA sino para interpretar el resultado de ensayos clínicos en desarrollo y el diseño de nuevas estrategias de tratamiento.

Agradecimientos: Las muestras de cerebros humanos fueron provistas por el Dr. Juan C. Troncoso (*Johns Hopkins University Brain Resource Center, USA*) y el Dr. Francisco Lopera (*Neuroscience Group, University of Antioquia, Colombia*). Este trabajo fue financiado con subsidios de Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica ANPCyT (PICT 05-38009 a LM, PICT 05-2354 a EMC) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET (PIP 6164 a LM). LM y EMC son miembros de la carrera del investigador del CONICET.

Conflictos de interés: Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health* 1998; 88: 1337-42.
2. Mangone CA, Arizaga RL. Dementia in Argentina and other Latin-American countries: An overview. *Neuroepidemiology* 1999; 18: 231-5.
3. Mangone CA, Arizaga RL, Allegri RF, Ollari JA. La demencia en Latinoamerica. *Rev Neurol Arg* 2000; 25: 1085-112.
4. Cerpa W, Dinamarca MC, Inestrosa NC. Structure-function implications in Alzheimer's disease: effect of Ab oligomers at central synapses. *Curr Alzheimer Res* 2008; 5: 233-43.
5. Morelli L, Llovera R, Ibendahl S, Castaño EM. The degradation of amyloid β as a therapeutic strategy in Alzheimer's disease and cerebrovascular amyloidosis. *Neurochem Res* 2002; 27: 1387-99.
6. Bertram L, Tanzi RE. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 768-78.
7. Neumann KF, Rojo L, Navarrete LP, Farías G, Reyes P, Maccioni RB. Insulin resistance and Alzheimer's disease: molecular links and clinical implications. *Curr Alzheimer Res* 2008; 5: 438-47.
8. Van Den Heuvel C, Thornton E, Vink R. Traumatic brain injury and Alzheimer's disease: a review. *Prog Brain Res* 2007; 161: 303-16.
9. Dosunmu R, Wu J, Basha MR, Zawia NH. Environmental and dietary risk factors in Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother* 2007; 7: 887-900.
10. Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, et al. Metabolic regulation of brain A β by neprilysin. *Science* 2001; 292: 1550-2.
11. Farris W, Mansourian S, Chang Y, et al. Insulin-degrad-

- ing enzyme regulates the levels of insulin, amyloid β -protein and the β -amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 4162-7.
12. Miller BC, Eckman EA, Sambamurti K, et al. Amyloid- β peptide levels in brain are inversely correlated with insulin activity levels in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 6221-6.
 13. Eckman EA, Watson M, Marlow L, Sambamurti K, Eckman CB. Alzheimer's disease β -amyloid peptide is increased in mice deficient in endothelin-converting enzyme. *J Biol Chem* 2003; 278: 2081-4.
 14. Leissring MA, Farris W, Chang AY, et al. Enhanced proteolysis of β -amyloid in APP transgenic mice prevents plaque formation, secondary pathology and premature death. *Neuron* 2003; 40: 1087-93.
 15. Roth, RA. Insulysin. In: Barret AJ, Rawlings ND, and Woessner JF, (eds). *Handbook of Proteolytic Enzymes*. New York: Elsevier Academic Press; 2004. p 871-876.
 16. Affholter JA, Hsieh CL, Francke U, Roth RA. Insulin-degrading enzyme: stable expression of the human complementary DNA characterization of its protein product, and chromosomal mapping of the human and mouse genes. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 1125-35.
 17. Baumeister H, Müller D, Rehbein M, Richter D. The rat insulin-degrading enzyme. Molecular cloning and characterization of tissue-specific transcripts. *FEBS Lett* 1993; 317: 250-4.
 18. Bertram L, Blacker D, Mullin K, et al. Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. *Science* 2000; 290: 2302-3.
 19. Myers A, Holmans P, Marshall H, et al. Susceptibility locus for Alzheimer's disease on chromosome 10. *Science* 2000; 290: 2304-5.
 20. Ghosh S, Watanabe RM, Valle TT, et al. The Finland-United States investigation of non-insulin-dependent diabetes mellitus genetics (FUSION) study I. An autosomal genome scan for genes that predispose to type 2 diabetes. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 1174-85.
 21. Karamohamed S, Demissie S, Volcjak J, et al. Polymorphisms in the insulin-degrading enzyme gene are associated with type 2 diabetes in men from the NHLBI Framingham Heart Study. *Diabetes* 2003; 52: 1562-7.
 22. Feuk L, McCarthy S, Andersson B, Prince JA, Brookes AJ. Mutation screening of a haplotype block around the insulin degrading enzyme gene and association with Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 136B: 69-71.
 23. Ertekin-Taner N, Allen M, Fadale D, et al. Genetic variants in a haplotype block spanning IDE are significantly associated with plasma Ab42 levels and risk for Alzheimer's disease. *Hum Mutat* 2004; 23: 334-42.
 24. Björk BF, Katzov H, Kehoe P, et al. Positive association between risk for late-onset Alzheimer disease and genetic variation in IDE. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 1374-80.
 25. Blomqvist ME, Silburn PA, Buchanan DD, et al. Sequence variation in the proximity of IDE may impact age at onset of both Parkinson disease and Alzheimer disease. *Neurogenetics* 2004; 5: 155-9.
 26. Hong MG, Reynolds C, Gatz M, et al. Evidence that the gene encoding insulin degrading enzyme influences human lifespan. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 2370-8.
 27. Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z, et al. Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid β -protein by degradation. *J Biol Chem* 1998; 273: 32730-8.
 28. Sudoh S, Frosch MP, Wolf BA. Differential effects of proteases involved in intracellular degradation of amyloid β -protein between detergent-soluble and -insoluble pools in CHO-695 cells. *Biochemistry* 2002; 41: 1091-9.
 29. Duckworth WC, Kitabchi AE. Insulin and glucagon degradation by the same enzyme. *Diabetes* 1974; 23: 536-43.
 30. Müller D, Baumeister H, Buck F, Richter D. Atrial natriuretic peptide (ANP) is a high-affinity substrate for rat insulin-degrading enzyme. *Eur J Biochem* 1991; 202: 285-92.
 31. Bennett RG, Duckworth WC, Hamel FG. Degradation of amylin by insulin-degrading enzyme. *J Biol Chem* 2000; 275: 36621-5.
 32. Kurochkin IV. Insulin-degrading enzyme: embarking on amyloid destruction. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 421-5.
 33. Song ES, Juliano MA, Juliano L, Fried MG, Wagner SL, Hersh LB. ATP effects on insulin-degrading enzyme are mediated primarily through its triphosphate moiety. *J Biol Chem* 2004; 279: 54216-20.
 34. Hamel FG, Upward JL, Bennett RG. In vitro inhibition of insulin-degrading enzyme by long-chain fatty acids and their coenzyme A thioesters. *Endocrinology* 2003; 144: 2404-8.
 35. Shen Y, Joachimiak A, Rosner MR, Tang WJ. Structures of human insulin-degrading enzyme reveal a new substrate recognition mechanism. *Nature* 2006; 443: 870-4.
 36. Akiyama H, Shii K, Yokono K, et al. Cellular localization of insulin-degrading enzyme in rat liver using monoclonal antibodies specific for this enzyme. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 155: 914-22.
 37. Kuo WL, Gehm BD, Rosner MR, Li W, Keller G. Inducible expression and cellular localization of insulin-degrading enzyme in a stably transfected cell line. *J Biol Chem* 1994; 269: 22599-606.
 38. Leissring MA, Farris W, Wu X, et al. Alternative translation initiation generates a novel isoform of insulin-degrading enzyme targeted to mitochondria. *Biochem J* 2004; 383: 439-46.
 39. Goldfine ID, Williams JA, Bailey AC, et al. Degradation of insulin by isolated mouse pancreatic acini. Evidence for cell protease activity. *Diabetes* 1984; 33: 64-72.
 40. Hamel FG, Mahoney MJ, Duckworth WC. Degradation of intraendosomal insulin by insulin-degrading enzyme without acidification. *Diabetes* 1991; 40: 436-43.
 41. Farris W, Leissring MA, Hemming ML, Chang AY, Selkoe DJ. β -degrading splicing of human insulin-degrading enzyme yields a novel isoform with a decreased ability to degrade insulin and amyloid β -protein. *Biochemistry* 2005; 44: 6513-25.
 42. Miners JS, Baig S, Palmer J, Palmer LE, Kehoe PG, Love S. β -degrading enzymes in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2008; 18: 240-52.
 43. Bernstein HG, Ansoorge S, Riederer P, Reiser M, Frölich L, Bogerts B. Insulin-degrading enzyme in the Alzheimer's disease brain: prominent localization in neurons and senile plaques. *Neurosci Lett* 1999; 263:161-4.
 44. Morelli L, Llovera RE, Mathov I, et al. Insulin-degrading enzyme in brain microvessels: proteolysis of amyloid β vasculotropic variants and reduced activity in cerebral amyloid angiopathy. *J Biol Chem* 2004; 279: 56004-13.
 45. Cook DG, Leverenz JB, McMillan PJ, et al. Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E-epsilon4 allele. *Am J Pathol* 2003; 162: 313-9.
 46. Zhao Z, Xiang Z, Haroutunian V, Buxbaum JD, Stetka B, Pasinetti GM. Insulin degrading enzyme activity selectively decreases in the hippocampal formation of cases at high risk to develop Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 824-30.
 47. Pérez A, Morelli L, Cresto JC, Castaño EM. Degradation of soluble amyloid β -peptides 1-40, 1-42, and the Dutch variant 1-40Q by insulin-degrading enzyme from

- Alzheimer disease and control brains. *Neurochem Res.* 2000; 25: 247-55.
48. Shinall H, Song ES, Hersh LB. Susceptibility of amyloid β peptide degrading enzyme to oxidative damage: a potential Alzheimer's disease spiral. *Biochemistry* 2005; 44: 15345-50.
 49. Dorfman VB, Pasquini L, Ruidavets M, et al. Differential cerebral deposition of IDE and NEP in sporadic and familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2008 Nov 17 [Epub ahead of print].
 50. Llovera RE, de Tullio M, Alonso LG, et al. The catalytic domain of insulin-degrading enzyme forms a denaturant-resistant complex with amyloid b peptide: implications for Alzheimer disease pathogenesis. *J Biol Chem* 2008; 283: 17039-48.
 51. de la Monte SM, Wands JR. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2005; 7: 45-61.
 52. Zhao L, Teter B, Morihara T, et al. Insulin-degrading enzyme as a downstream target of insulin receptor signaling cascade: implications for Alzheimer's disease intervention. *J Neurosci* 2004; 24: 11120-6.

Everything in the universe is attributable in principle to some combination of a contribution from the fundamental laws [of physics]. Since the laws are believed to be simple, we should attribute most of the complexity in the history of the universe to the results of accidents.

En el universo todo es atribuible, en principio, a alguna combinación de una contribución de las leyes fundamentales [de la física] y una de accidentes históricos. Dado que se cree que las leyes son simples, debemos atribuir la mayoría de la complejidad en la historia del universo a resultados de accidentes.

Murray Gell-Man

Consciousness, Reduction, and Emergence. Some Remarks. Ann N Y Acad Sci 2001; 929: 41-9. [Murray Gell Man obtuvo el Premio Nobel de Física en 1969 por sus descubrimientos sobre partículas elementales.]