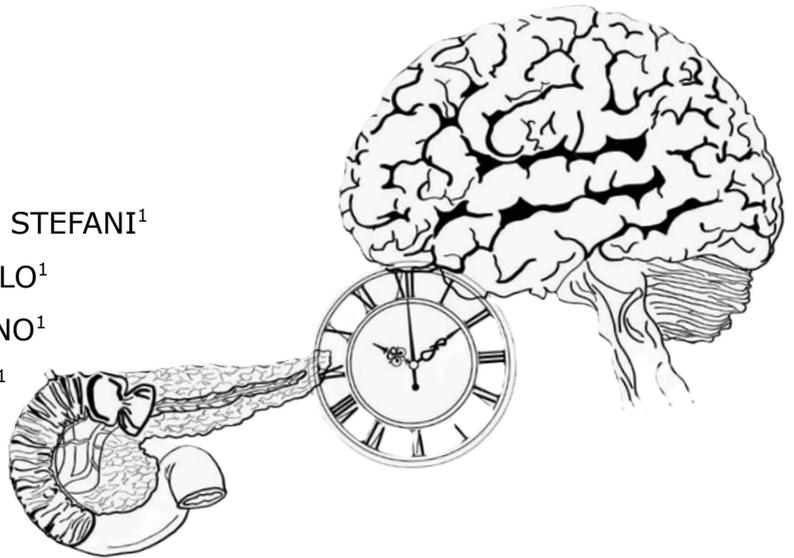




Cruces moleculares entre Diabetes Mellitus tipo 2 y Enfermedad de Alzheimer apoyados en la bioinformática estructural

Ciclo de Metodología Científica II 2024- grupo 112

AUTORES: FERREIRA, MARÍA STEFANI¹
HERNÁNDEZ, PABLO¹
LIESEGANG, BRUNO¹
SILVA, CAROLINA¹
SILVERA, LUCIA¹



ORIENTADORA: COITIÑO, LAURA²
CO- ORIENTADORA: SALAZAR, FABIANA²

¹ Ciclo de Metodología Científica II 2024- Facultad de Medicina- Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

² Laboratorio de Química Teórica y Computacional (LQTC)- Instituto de Química Biológica- Facultad de Ciencias y Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	3
Introducción	6
Objetivo general y específicos	8
Metodología	9
Resultados	12
Discusión	24
Conclusiones y perspectivas	26
Referencias Bibliográficas	27
Agradecimientos	31

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla I - Sistemas moleculares seleccionados en DM2, EA y su cruce, extraídos de PDB	23
Figura 1- Estructura de insulina en distintos estados de agregación	13
Figura 2- Estructura del RI y sus estados conformacionales	15
Figura 3- Estructura de IDE en sus estados conformacionales	16
Figura 4 - Estructura de Aβ 1-42 y Aβ 1-40	17
Figura 5 - Sitios de interacción molecular de RAGE	19
Figura 6 - RI en interacción con insulina	20
Figura 7 - Estructura de RAGE	21
Figura 8 - Interacción de IDE con Aβ e Insulina	23

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Aminoácidos; AGE: Productos finales de glicación avanzada; APOE4: Apolipoproteína E4; APP: Proteína precursora amiloide; A β : β amiloide; BHE: Barrera hematoencefálica; DM2: Diabetes Mellitus tipo 2; EA: Enfermedad de Alzheimer; GSK-3: Glucógeno Sintasa Quinasa 3; HMGB1: Proteína de alta movilidad del grupo 1; IDE: Enzima degradadora de la insulina; IECA: Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina; IGF-I y IGF-II: Factores de crecimiento insulínico I y II; IGFR: Receptor de los factores de crecimiento insulínico; LCR: Líquido cefalorraquídeo; LRP1: Proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad; NFT: Ovillos

neurofibrilares; NMR: Resonancia magnética nuclear; PDB: Protein Data Bank; RAGE: Receptores de los productos finales de glicación avanzada; RE: Retículo endoplasmático; RI: Receptor de insulina; RIPK1: Receptor de protein quinasa 1; ROS: Especies reactivas de oxígeno; S100: Conjunto de proteínas de bajo peso molecular; SNC: Sistema nervioso central

Resumen

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) y Enfermedad de Alzheimer (EA) son enfermedades crónicas prevalentes, especialmente en población añosa, y en los últimos años su relación ha sido objeto de estudio. Uruguay cuenta con población envejecida, por tanto estas entidades ocupan relevancia en los servicios de salud. Se han generado hipótesis sobre la vinculación en sus bases moleculares y su esclarecimiento permitiría conectarlas a nivel diagnóstico y terapéutico, pudiendo ocasionalmente prevenirlas y/o tratarlas mediante un mismo plan terapéutico.

Metodología: Se exploró la bibliografía del campo, identificando los protagonistas proteicos: insulina en DM2, A β y tau en EA, y sus cruces moleculares a través de IDE, RI, RAGE y AGEs, buscando y analizando estructuras que los evidencian.

Las herramientas usadas de bioinformática estructural de proteínas permitieron obtener y analizar: a) secuencias proteicas de estos sistemas extraídos de Uniprot, b) sus estructuras 3D localizadas en PDB y c) las interacciones insulina/AGEs para DM2 y A β para EA en posibles sitios de unión con IDE, RI y RAGE actuando como estructuras comunicantes entre ambas patologías. El análisis se completó con visualización molecular bi/tridimensional usando Discovery Studio Visualizer 2024. **Resultados:** Tenemos tres ejes principales: a) los sistemas moleculares que participan en DM2, describen formas de agregación de la insulina, RI y la IDE, b) los sistemas moleculares en EA, con énfasis en A β 1-40 y 1-42 y la proteína tau, c) el cruce entre DM y EA con RAGE.

Conclusiones: La literatura consultada plantea una relación entre DM2 y el riesgo de desarrollar EA. Los sistemas seleccionados y sus interacciones revelan mecanismos compartidos como la resistencia a la insulina,

neuroinflamación y estrés oxidativo, conectando ambas enfermedades a nivel molecular.

Palabras claves: Diabetes Mellitus tipo 2, Enfermedad de Alzheimer, Glicación, RAGE/AGE.

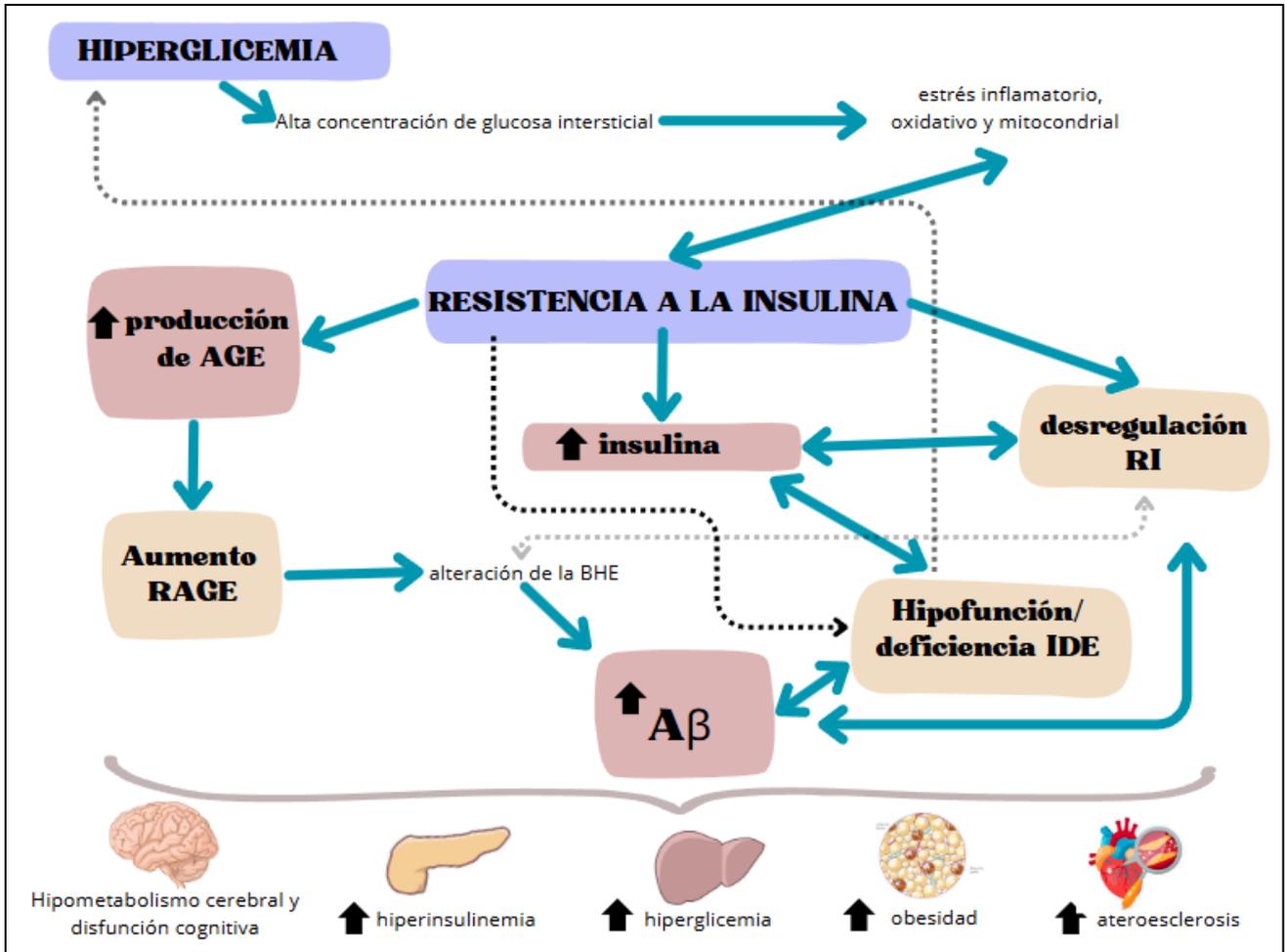
Abstract

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) and Alzheimer Disease (AD) are two very common chronic diseases, particularly in the elderly and their relationship has been investigated in recent years. These conditions are exceedingly relevant in Uruguay, a country with an aging population, and they receive great attention through the health services. At a molecular level, hypotheses have suggested a link between these syndromes, and understanding this connection would enable diagnostics and therapies to be developed to allow for the prevention or treatment of both conditions using a single treatment plan.

Methodology: we explored the literature in the field, identifying the key proteins involved in both pathologies (insulin in T2DM, A β and tau in AD), and their molecular intersections through the IDE, RI and RAGE and AGEs, looking for and analyzing structures that highlight these interactions.

Using structural bioinformatics tools, we examined: a) the protein sequences from UniProt, b) the 3D structures available in PDB, and c) the interactions between insulin/AGEs in T2DM and A β in AD, focusing on potential binding sites with IDE, RI, and RAGE. These molecular interactions could act as "bridges" linking the two diseases. To further explore these connections, we also used Discovery Studio Visualizer 2024 to visualize the structures in both 2D and 3D. Results: Based on three main axes: a) focusing on the molecular systems involved in type 2 diabetes, describing the aggregation forms of insulin, IR and IDE; b) molecular systems in Alzheimer's disease, with emphasis on A β 1-40 and 1-42 and tau protein; c) the intersection between DM2 and AD with RAGE. Conclusions: The reviewed literature suggests a relationship between DM2 and the risk of developing AD. The selected systems and their interactions reveal shared mechanisms such as insulin resistance, neuroinflammation, and oxidative stress, linking both diseases at the molecular level.

Graphical Abstract



Principales conclusiones del presente trabajo.

Introducción

Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por el aumento de las cifras basales de glucemia, un estado de resistencia periférica a la insulina y el déficit de secreción de insulina(1). La hiperglucemia crónica se asocia a lesiones micro y macrovasculares en diferentes órganos diana, como la retina, riñones, nervios y corazón(1). Es una enfermedad prevalente en Latinoamérica, afecta al 9,2 % de la población comprendida en la franja etaria de 20 – 79 años, según estimaciones del año 2017. En el mismo año Uruguay tenía una prevalencia de DM2 de 6%, de acuerdo a la International Diabetes Federation (2).

Existe una relación intrínseca entre la patogénesis de la DM2, es decir de la resistencia a la insulina y la deficiencia de insulina en el sistema nervioso central (SNC) y las enfermedades neurodegenerativas, de tal forma que se conoce como Diabetes Mellitus tipo 3 (3).

Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las patologías neurodegenerativas de mayor prevalencia, siendo la forma más común de trastorno neurocognitivo mayor (4). A nivel neuropatológico, la EA se caracteriza por dos tipos de estructuras patológicas denominadas ovillos neurofibrilares (NFT del inglés) y placas neuríticas. Los NFT son acumulaciones muy densas de filamentos anormales formados por la proteína Tau y por otra parte las placas neuríticas se encuentran formadas por fibrillas insolubles de A β . La fisiopatología se encuentra relacionada con un proceso destructivo que ocurre en áreas corticales y del hipocampo; dichas regiones cerebrales se encuentran asociadas directamente con la función cognitiva y el nivel de daño que sufran se correlaciona con el grado clínico de la demencia en la EA (5).

Se estima que hay 54.000 personas con diagnóstico de demencia en Uruguay (6), con una prevalencia de 4,8% a 6,9%, situación que aumenta al doble cada 5 años a partir de los 60 años (7).

Relación entre DM2 y EA

En los últimos años surgió evidencia de que la EA y DM2 poseen mecanismos

fisiopatológicos comunes. Tanto es así, que estudios señalan que las personas diagnosticadas con DM2 tienen el doble de riesgo de desarrollar EA que aquellas sin esta patología (8). Se investigaron hipótesis de su conexión desde diferentes puntos de vista: fisiopatológico, terapéutico y genético. Dentro de este último, se identificaron 361 genes en común, destacándose aquellos relacionados con PI3K vinculado con la resistencia a la insulina y la función cognitiva, con p53 protagonista al regular el ciclo celular (9). En pacientes con EA existe una disminución en la expresión de los genes que codifican la insulina y los factores de crecimiento insulínico I y II (IGF-I y IGF-II) en el tejido cerebral, así como en los genes que codifican los receptores de insulina (RI) e IGF-I; evidenciando que existen alteraciones en los RI en ambas patologías, siendo la resistencia a la insulina un punto clave en el desarrollo y progresión de estas enfermedades (10).

En cuanto a la fisiopatología hay vías metabólicas, inflamatorias y proteínas que influyen en ambas patologías, por ejemplo cambios estructurales y de plegamiento de proteínas, como se ve en la proteína precursora amiloide (APP) y A β , junto a la agregación de tau (11). Durante tres décadas la principal hipótesis que relaciona la EA con DM2 fue la "hipótesis de la cascada amiloide", teniendo a tau como el encargado de modificar el metabolismo de APP y su agregación (12).

En varias enfermedades neurodegenerativas se ha visto la acumulación anormal de tau, la misma se agrega y deposita en NFT en los cuerpos neuronales o hilos neurofibrilares cuando se encuentran en las dendritas o axones; lo cual tiene como consecuencia afectar la respiración mitocondrial y transporte axonal, base de la hipótesis tau (13). Tras el plegamiento anormal de tau en filamentos amiloides y su posterior propagación mediante uniones sinápticas, constituye en la EA la etapa final de un proceso en que maduraron los NFT (14).

Una de las hipótesis más relevantes es la vinculada con los receptores de productos de glicación avanzada (RAGE); donde los productos de glicación avanzada (AGE) se ven aumentados en estados de hiperglucemia(15).

Los RAGE interactúan con distintos ligandos, como son: AGE, A β , proteínas S100, proteína RIPK1, al interactuar generan la expresión de quimiocinas y

citocinas proinflamatorias tales como TNF- α o IL-1 β (16).

Se conoce también la función transportadora de A β a través de los RAGE hacia el cerebro, una mayor producción y menor degradación de A β y la acumulación del mismo en placas estimularía la inflamación de forma secundaria (17).

La relevancia de los AGE radica en diversos estudios experimentales que relacionan el aumento de la concentración de AGE en pacientes con EA, en comparación con cerebros sin la patología (18).

La actividad de la IDE, una endopeptidasa, es clave dado que también juega un papel importante en la degradación de insulina (19).

Se ha relacionado DM2 con EA y también con otros tipos de deterioro cognitivo. La insulina promueve la expresión de citocinas proinflamatorias a nivel del SNC, lo que lleva a la activación de las células de la microglía y astrocitos. Además, genera una supresión de la eliminación de A β al evitar que se libere a través de la barrera hematoencefálica (BHE), promoviendo su acumulación en forma de depósitos, lo que genera a su vez especies reactivas de oxígeno (20).

Han sugerido que el tratamiento con reguladores de glucosa podría llegar a resultar beneficioso en la prevención del deterioro cognitivo (21).

En el presente trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica mediante la cual seleccionamos un conjunto reducido de péptidos y proteínas que interconectan ambas enfermedades. Buscamos en las bases de datos de proteínas, visualizamos y analizamos las estructuras por medio de herramientas de bioinformática estructural. A partir de ello, vinculamos la función con la estructura, identificamos a nivel tridimensional las proteínas seleccionadas (22).

Objetivos

Objetivo general

Explorar las posibles conexiones moleculares entre DM y EA a través de revisión bibliográfica y análisis estructural de los principales protagonistas proteicos implicados en dichas patologías.

Objetivos específicos

- 1-** Profundizar en la bibliografía sobre la etiopatogenia de DM2, EA y posibles puntos en común a nivel molecular.
- 2-** Identificar el rol de los principales péptidos y proteínas involucrados en la fisiopatología de ambas enfermedades y su interconexión molecular.
- 3-** Obtener de las bases de datos las estructuras moleculares seleccionadas para su visualización y análisis.
- 4-** Analizar a nivel bioinformático las interacciones de los tres sistemas de cruce molecular identificados.

Metodología

Búsqueda bibliográfica y criterios de inclusión

La búsqueda bibliográfica se realizó de forma electrónica en la colección Scopus de Timbó de la editorial Elsevier y Pubmed, con filtro según publicaciones más recientes. A partir de las citas presentes en la selección inicial de artículos, se amplió la lista de documentos consultados a un periodo más amplio.

Adicionalmente, realizamos una búsqueda de otras monografías relacionadas en el repositorio Colibrí de Udelar (23).

Las palabras claves fueron: Diabetes Mellitus tipo 2, Enfermedad de Alzheimer, Glicación, RAGE/AGE, insulina, receptor de insulina, beta amiloide, tau, IDE las cuales fueron buscadas en idioma inglés.

Dichas palabras se consultaron en Descriptores de Ciencias de la Salud (DeCS/MeSH), desarrollado por la U.S National Library of Medicine (24), en donde se visualizaron además términos alternativos.

Se utilizaron operadores booleanos AND y OR, las combinaciones utilizadas fueron: Insulin AND expression system, Insulin receptor AND diabetes, Insulin AND chemistry, Insulin protein structure OR ultrastructure, Insulin AND molecular structure, Diabetes mellitus AND Alzheimer Disease, IDE AND ABeta, AGE RAGE AND amyloid beta, Beta amyloid AND tau AND Alzheimer's disease, Beta amyloid AND Alzheimer's disease, Tau AND Alzheimer's disease, Beta amyloid OR Tau AND Alzheimer's disease.

Estudio In Silico: Obtención, visualización y análisis de sistemas moleculares

Bases de datos de secuencias y estructuras de péptidos y proteínas en Uniprot y PDB Databank

Se accedió a la base de datos de secuencias proteicas Uniprot (25) para obtener información general sobre secuencia, localización, función y enlaces a estructuras disponibles en la base de datos de acceso público Protein Data Bank (PDB) (26) para los distintos sistemas moleculares en estudio.

La búsqueda se centró, en primera instancia, en los sistemas moleculares que emergieron como pertinentes y relevantes a los objetivos planteados tanto en vínculo a DM2 (insulina, RI, RAGE y la IDE) como en vínculo a EA (péptido A β en sus dos variantes A β 1-40 y A β 1-42 y proteína tau).

En segunda instancia, se amplió la búsqueda de estructuras 3D a aquellas que evidencian la interacción a nivel molecular entre los sistemas DM2-EA identificados a partir de la búsqueda bibliográfica (RI, RAGE e IDE) y los péptidos/proteínas o AGEs de bajo peso molecular en la etiología de DM2 (insulina y un derivado del metilglioxal) y de EA (A β 1-40 y A β 1-42 y tau).

Para localizarlos se colocó el nombre en inglés de cada péptido, proteína o estructura macromolecular más compleja, como los receptores RI y RAGE solos y en interacción con distintos efectores, y se tomaron como filtros el organismo de origen (homo sapiens), taxonomía (células eucariotas), tipo de entidad (péptido o proteína) y en el caso de las estructuras experimentales el método de determinación (difracción de rayos X en cristales y Resonancia Magnética Nuclear RMN en solución). Esto permitió localizar los códigos PDB (una combinación única de 4 caracteres alfanuméricos que identifican a cada estructura tridimensional depositada en el PDB Databank, que también tiene cada una un DOI asignado), como se ve en tabla I, presente en la sección de Resultados. Se extrajo para cada sistema molecular de interés, información relevante como el peso molecular expresado en kDa, el método de determinación experimental de la estructura 3D con su resolución en Å para el caso de haber sido obtenida por cristalografía de rayos X y la presencia de una o más cadenas proteicas. En el caso de tratarse de fragmentos de la estructura completa de la proteína/péptido de interés o de una estructura cuaternaria

más compleja con varias cadenas la indicación de la extensión del fragmento en cantidad de aminoácidos y su secuencia, de ser pequeño, se relevó también esa información. Finalmente, en los casos para los que no se halló la estructura completa de los sistemas moleculares más complejos, se recurrió a complementar la descripción estructural a partir de la consulta al portal educativo PDB-101 (27), para extraer ilustraciones de los mismos a partir de fichas de la serie "Molecule of the month" (28). Luego de relevar la información y visualizar rápidamente las estructuras en línea, para cada sistema molecular localizado se descargó el correspondiente archivo en formato PDB que contiene la información sobre la posición de los átomos y enlaces formados en cada sistema molecular, que dan el insumo para visualizar y analizar la estructura, que se abordó con el paquete de uso gratuito Biovia Discovery Studio Visualizer (DSV) (29).

Bioinformática estructural con DSV 2024: análisis de la forma y superficie de reconocimiento molecular y los sitios de unión en las bases moleculares de EA y DM2 y sus cruces

Se procedió a cargar y abrir en el software DSV2024 los archivos PDB obtenidos para cada sistema molecular identificado y localizado.

Se analizaron según el caso las distintas cadenas proteicas y su disposición relativa, los motivos estructurales secundarios (alfa hélice y lámina beta, giros y loops, etc.) y la forma en su estructura terciaria y cuaternaria identificando la ubicación y naturaleza de los sitios de unión. También se generaron superficies de reconocimiento molecular, sobre las cuales se mapea la carga parcial por residuo aminoacídico con colores asociados a sus valores positivos/negativos que determinan la complementariedad electrostática entre los sistemas moleculares. Finalmente se trabajó con distintas representaciones moleculares (sticks, ball&stick, etc.) y esquemas de color para evidenciar en la visualización e imágenes generadas las distintas cadenas, motivos estructurales relevantes y aminoácidos involucrados en el reconocimiento con péptidos y proteínas asociados con ambas enfermedades.

Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la investigación sobre los cruces moleculares entre la DM2 y la EA. Se organizó el análisis en tres ejes principales, donde se identificaron y exploraron las interacciones clave entre las estructuras peptídicas involucradas en ambas enfermedades. Un primer eje centrado en los sistemas moleculares que participan en DM2, donde se describen las formas de agregación de la insulina, el RI y la IDE; un segundo eje con los sistemas moleculares en EA, con énfasis en el péptido A β y sus variantes 1-40 y 1-42 y la proteína tau, como tercer eje el entrecruzamiento DM y EA con RAGE.

Concluyendo la sección con las vinculaciones específicas de varias de estas moléculas y sus implicancias en el desarrollo de las patologías.

IDE, degrada a la insulina y también regula la acumulación de A β , con papel dual en ambas patologías. Además, RI y RAGE actúan como pilares moleculares, vinculando la resistencia a la insulina y el impacto de los productos finales de los AGEs en el cerebro. Estas interacciones favorecen la acumulación de A β , exacerbando el daño neuronal. En conjunto la (insulina, RI, RAGE e IDE en DM2; A β y tau en EA) y sus interacciones revelan mecanismos compartidos, como la resistencia a la insulina, la neuroinflamación y el estrés oxidativo, conectando ambas enfermedades a nivel molecular.

Sistemas moleculares en Diabetes Mellitus tipo 2

La DM se caracteriza por una función alterada de la actividad de la insulina y diversas vías contribuyen en su fisiopatología. Hemos destacado la importancia de tres proteínas claves señaladas anteriormente: la insulina, el RI y la IDE. A continuación, desarrollaremos estos tres sistemas moleculares.

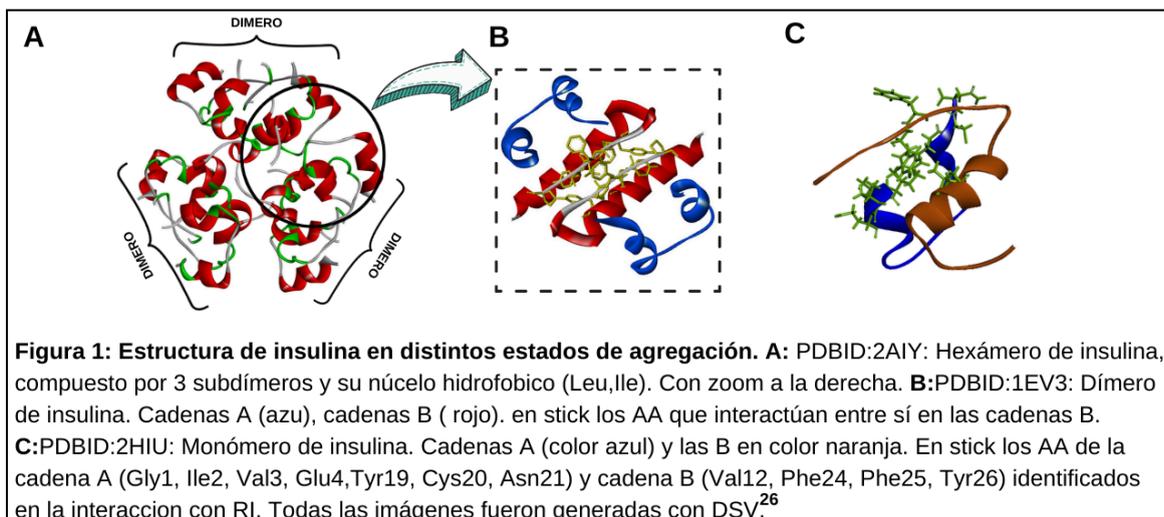
Estructura de la Insulina

Las células beta del páncreas son las encargadas de producir y almacenar la insulina. Desde el punto de vista estructural, la insulina es una proteína globular compuesta por 51 aminoácidos, formada por una cadena A y otra B que se estabilizan con la formación de 3 puentes disulfuro, uno interno a la

cadena A y otros dos entre A y B. La insulina presenta varias formas de las cuales ya abordamos su forma hexamérica, los dímeros libres de zinc y los monómeros (30). En las células β del páncreas, se encuentra en forma de hexámero (**Figura 1a**), estos al igual que los dímeros se mantienen unidos gracias a un núcleo hidrofóbico S (31). Dichos hexámeros se disocian al ser secretados a la circulación portal, como un monómero libre de Zinc (32).

Los monómeros libres son los que interactúan con el RI y lo activan. Dicha activación se logra por medio de tres regiones: la hélice α de la cadena B de insulina y los segmentos amino y carboxilo terminales de la cadena A. Las regiones mencionadas anteriormente están cerca de la superficie de la insulina, por lo que interactúan con el receptor de insulina y, por lo tanto, se convierten en sitios de unión del ligando (31) (**Figura 1c**).

Se han identificado mutaciones en la insulina que afectan su unión al RI en: valA3, leuA3, y pheB24 y 25. La mutación leuA3 es la más crítica, reduciendo en aproximadamente 500 veces, sugiriendo cambios estructurales que dificultan la interacción RI-insulina (33). Además, la presencia de tioles libres, así como cisteína y el glutatión reducido comprometen la estabilidad conformacional de la insulina. En estas condiciones, la red rígida de enlaces disulfuro nativos se vuelve flexible y la desnaturalización de la proteína es escoltada por la isomerización de disulfuro (34).



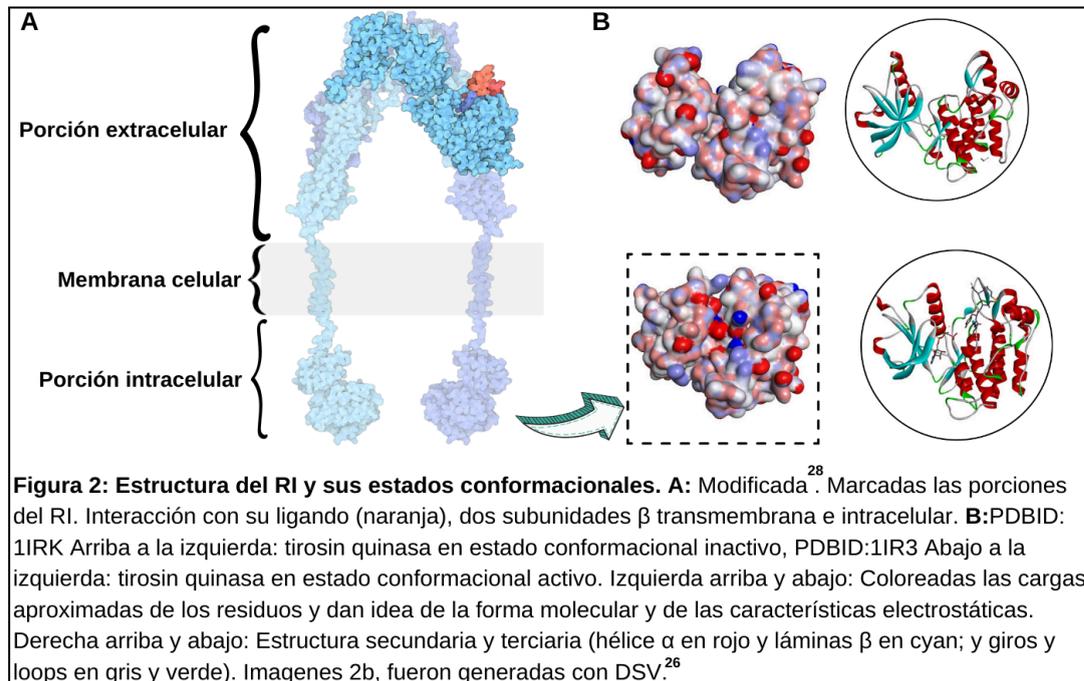
Estructura del RI

El RI es una glicoproteína de superficie que pertenece a la superfamilia de receptores con actividad tirosina quinasa. La unión del receptor a la insulina

desencadena una cascada de señalización intracelular que en última instancia impactan en diversos aspectos de la fisiología celular (35). El RI tiene dos isoformas principales: RI-A y RI-B. El RI-A se expresa en células con alta demanda de proliferación: tejidos fetales y algunos tipos de células cancerosas. Por otro lado, el RI-B se encuentra principalmente en tejidos diferenciados, tejidos diana de la insulina, como son el hígado, el músculo y el tejido adiposo, donde desempeña un papel clave en el control del metabolismo de glucosa y lípidos (36). Ambos, la insulina y su receptor, están distribuidos en el cerebro, en particular el receptor, su isoforma A se ha visto vinculado con las funciones cognitivas. Pacientes con EA presentan la actividad del RI cerebral reducida, así como una menor concentración de insulina en el LCR en comparación con los pacientes sin esta patología, lo que indica un deterioro del transporte de insulina al cerebro(37). Sumado a esto, la hiperglucemia genera que aumenten los AGE, lo cual lleva a la destrucción de proteínas estructurales (38).

Desde el punto de vista estructural, el RI es un como un dímero de heterodímeros tipo $(\alpha\beta)_2$ unidas por enlaces disulfuro a nivel de su porción extracelular, tanto entre las subunidades α y β de cada heterodímero $\alpha\beta$ como entre las subunidades extracelulares α y α' de cada uno de ellos. La cadena α y algunos aminoácidos en el extremo N terminal de la subunidad β conforman la región extracelular del receptor, llamada ectodominio (**Figura 2b**), mientras que la actividad tirosina quinasa se encuentra en el dominio citoplasmático de la subunidad β (39). Como expusimos previamente, existen dos isoformas del RI y su diferencia radica en un segmento de 12 AA situado entre los residuos 716 y 717 dándole una afinidad superior a la forma A (40). La estructura extracelular del RI se compone de la subunidad α y la sección amino terminal de la subunidad β (41). El dominio intracelular está formado por 250 aminoácidos con un dominio yuxtamembrana de 45 aminoácidos. Gutman et al. reportaron en 2018 (42) la existencia motivos estructurales tirosina quinasa tanto en conformación abierta como cerrada, no sólo para el caso del RI abordado en este trabajo (ver Figura 2B) sino también en el caso de receptores de IGF (RIGF). Para que los sustratos accedan al sitio activo se debe generar un cambio conformacional, lo cual ocurre al autofosforilar tres

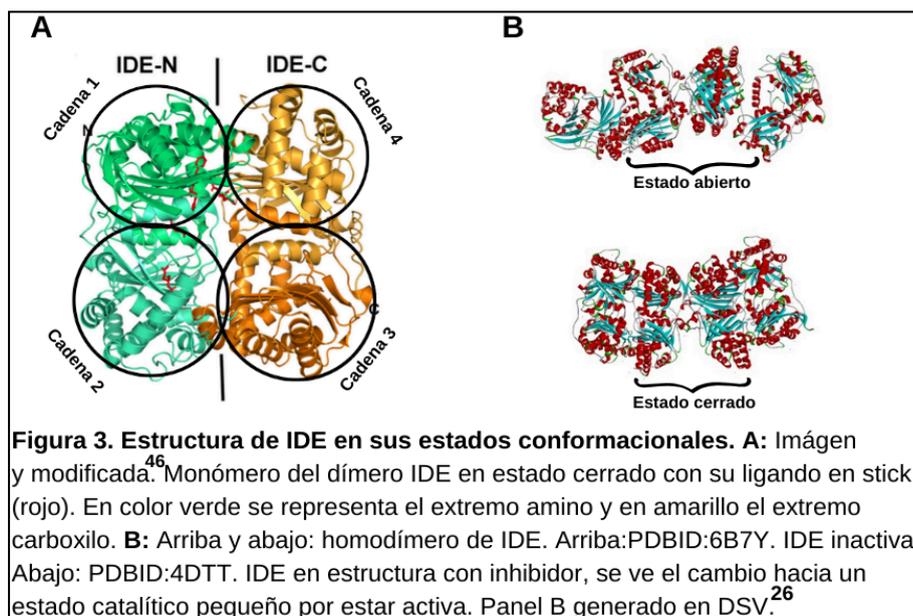
residuos de tirosina (43). En un trabajo de revisión de Siddle publicado en 2012 (44)



Estructura de IDE

La IDE pertenece a la familia de las metaloproteasas que controlan diversas funciones biológicas. Se expresa en todos los tejidos y se puede encontrar en casi todos los compartimentos subcelulares, a pesar de estar fabricada como proteína citosólica. IDE degrada la insulina, la amilina y el glucagón, hormonas pancreáticas que controlan los niveles de glucosa en sangre, así como A β (45). Desde el punto de vista estructural, la IDE consta de 4 subdominios que se aprecian en **Figura 3a**; 1 y 2 que constituyen amino terminal cargada de forma negativa con muchos residuos hidrofóbicos y 3-4 que constituyen carboxilo terminal cargado de forma positiva, con el sitio de zinc catalítico en el dominio 1; lo que protagoniza al extremo amino como la porción catalítica. La porción C de la enzima se ve implicada en el anclaje y coordinación con el sustrato, también participando en la catálisis (46). La IDE tiene dos estados básicos, abierto y cerrado, alternando entre los 2 estados para poder funcionar como agente catalítico(47). En estado abierto como se ve en la **Figura 3b** captura sustratos y libera productos, en estado cerrado realiza la catálisis propiamente dicha. La selectividad por sustratos se basa en interacciones

complementarias de tamaño y carga, facilitando la degradación de péptidos menores a 80 aminoácidos (45). En cuanto a la distribución de carga de la hendidura catalítica, se une preferentemente a péptidos que poseen un momento dipolar aumentado. Al aferrar el extremo N del sustrato, esto facilita el despliegue del sustrato y posteriormente se genera su ruptura en al menos nueve residuos de AA (48).



Sistemas moleculares en la Enfermedad de Alzheimer

Se encontraron dos péptidos cruciales en EA: A β y tau.

Estructura de A β

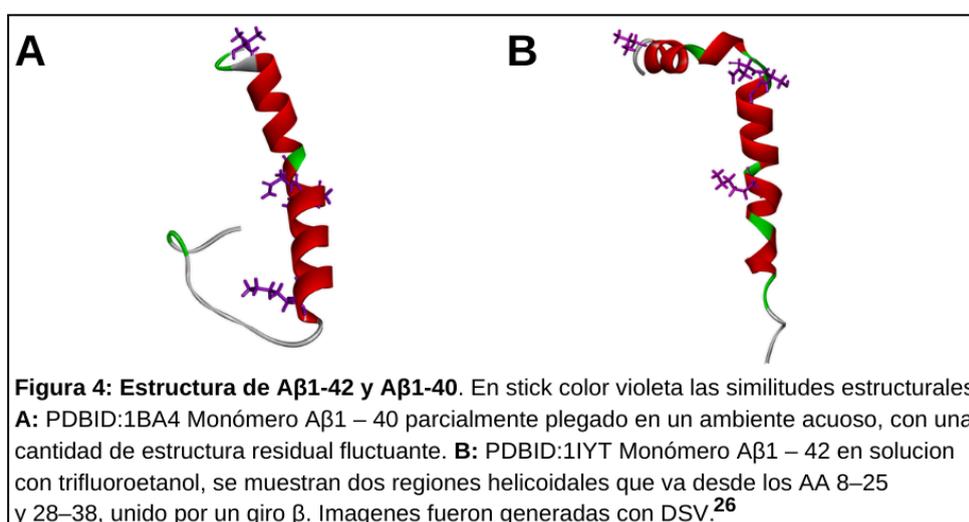
A β tiene un papel clave en la patogénesis de la EA, reducir su producción o aumentar su eliminación puede ser una forma de inhibir la cascada de eventos patológicos inducidos por su acumulación(49). Dentro de las enzimas que escinden A β , destacamos el papel de la IDE, mencionada previamente (50). Además de su rol en la degradación proteolítica, la BHE es responsable de la eliminación del 85% de las formas de A β relacionadas con la EA. La expresión aberrante de los receptores directamente implicados en el transporte de A β a través de la BHE está fuertemente relacionada con la patogénesis de la EA. Este transporte se encuentra regulado por receptores, como los RAGE o la proteína LRP1, entre otros (51).

La agregación de A β genera daño de múltiples formas: a través de la producción de radicales libres; generando una respuesta crónica del sistema inmunológico innato al activar la microglía, lo que puede conducir a la pérdida neuronal a través de la fagocitosis directa, liberando mediadores inflamatorios; provocando la interrupción de la cadena de transporte de electrones y la disfunción mitocondrial; entre otros mecanismos (52).

Es de señalar que existe una forma hereditaria de EA, en la cual existen mutaciones en genes PSEN1 y PSEN2; afectan el procesamiento de A β (53) , mientras la mayoría de casos son esporádicos y es el gen APOE4 el factor de riesgo para el desarrollo de la patología (54).

Desde el punto de vista estructural A β es el componente principal de las placas seniles y deriva de la escisión proteolítica de la glicoproteína APP (55). La APP humana puede procesarse a través de dos vías alternativas, la no amiloidogénica y la amiloidogénica, resultando de la última las formas A β 40 de 40 AA y en menor medida el A β 42 de 42 AA (56).

La última dotada con dos residuos más en C-terminal (Alanina y isoleucina) que le dan una propensión mayor a la agregación (57). Aunque A β es producto normal del metabolismo celular y de hecho cumpliría un rol, su acumulación anormal en la EA es patológica (58). Los monómeros A β se pueden agregar en varios tipos de ensamblajes: oligómeros, protofibrillas y fibrillas amiloides (59). Las fibrillas amiloides son grandes e insolubles, y pueden ensamblarse en placas amiloides, mientras que los oligómeros amiloides son solubles y se diseminan por todo el cerebro. Por tanto A β puede acumularse en forma extracelular o unirse a una variedad de receptores y se cree que estas



interacciones receptor/ligando transducen señales neurotóxicas en las neuronas (52).

En tanto a las similitudes estructurales encontradas entre A β 1-42 y A β 1-40 se encuentran los residuos Lys16 y Val40 incluido el giro que involucra a Gly25, Ser26 y Asn27 (60), representado en la **Figura 5a y b**.

Estructura de tau

Por otra parte, tau está compuesta por cuatro porciones: dominio amino terminal, dominio rico en prolina, el de unión a microtúbulos y dominio carboxilo terminal(61). La hipótesis tau propone que la EA está principalmente causada por la formación de NFT en los cuerpos neuronales o hilos neurofibrilares cuando se encuentran en las dendritas o axones; lo cual tiene como consecuencia al afectar la respiración mitocondrial y transporte axonal (47).

Fue descartada dado que no hemos obtenido una imagen completa del péptido y también debido a que se ha visto en la bibliografía asociada más con un factor protector.

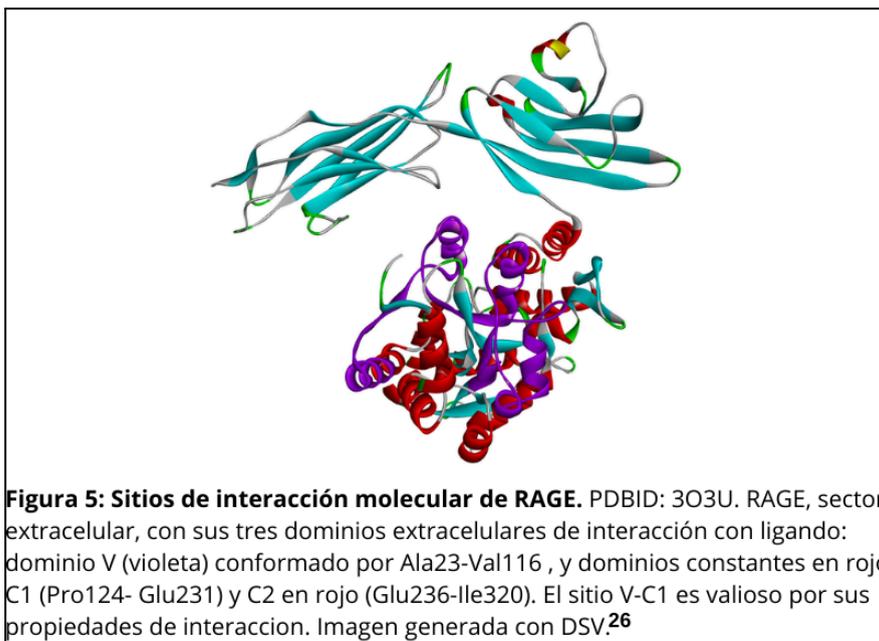
Cruce molecular en DM2 y EA: RAGE

Los receptores de tipo RAGE pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas, poseen una estructura que incluye tres porciones extracelulares, una porción transmembrana y una cola intracelular (62). Existe también una versión soluble de RAGE, que carece de conexión con el interior celular, actuando como un factor protector al no desencadenar cascadas inflamatorias y sirviendo de cebo para las moléculas (62).

La porción extracelular de RAGE se divide en tres dominios: el dominio V, y los dominios constantes C1 y C2, representado en la **Figura 5** (63). Los dominios V y C1 parecen formar una unidad estructural, se ligan mediante enlaces hidrofóbicos y puente de hidrógeno(64).

RAGE puede interactuar con varios compuestos, entre los que destacan el A β , relacionado con la EA, y los AGE vinculados sobre todo con la DM (65) (**Figura 7**). Los AGE son aductos glicosilados generados en reacciones de Maillard que se producen naturalmente pero se encuentran elevados en diferentes

localizaciones en DM Y EA.(66) Estos compuestos pueden aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que a su vez incrementa la cantidad de A β , HMGB1 y S100, que son ligandos de RAGE (67). Por tanto, se encuentran implicados en la perpetuación inflamatoria lo que a la larga regula negativamente la vía de la insulina y contribuye a la regeneración de resistencia hacia la misma (68).



Interacción entre insulina y receptor de insulina

La interacción entre insulina y su receptor se da en dos sitios de unión, como se puede ver en la **Figura 6**: el sitio de unión primario, de alta afinidad, y el sitio de unión secundario, sitio de menor afinidad. Cuando se genera la interacción, cambian estructuralmente los dominios extracelulares del receptor. Posteriormente se transmite la señal a través de la membrana celular, con la consecuente activación de las subunidades intracelulares tirosina quinasa(69). El sitio de baja afinidad es el primero al que se une la insulina, específicamente en una subunidad α y luego al segundo sitio de la otra subunidad α del RI. Una segunda molécula de insulina une los sitios de unión primario y secundario restantes, lo cual acelera la disociación de la primera molécula de insulina unida. Esto explica la curva en forma de campana y la cooperatividad negativa, proporciona una base molecular para la activación de la tirosina quinasa del RI, aproximando los dos dominios de la quinasa y

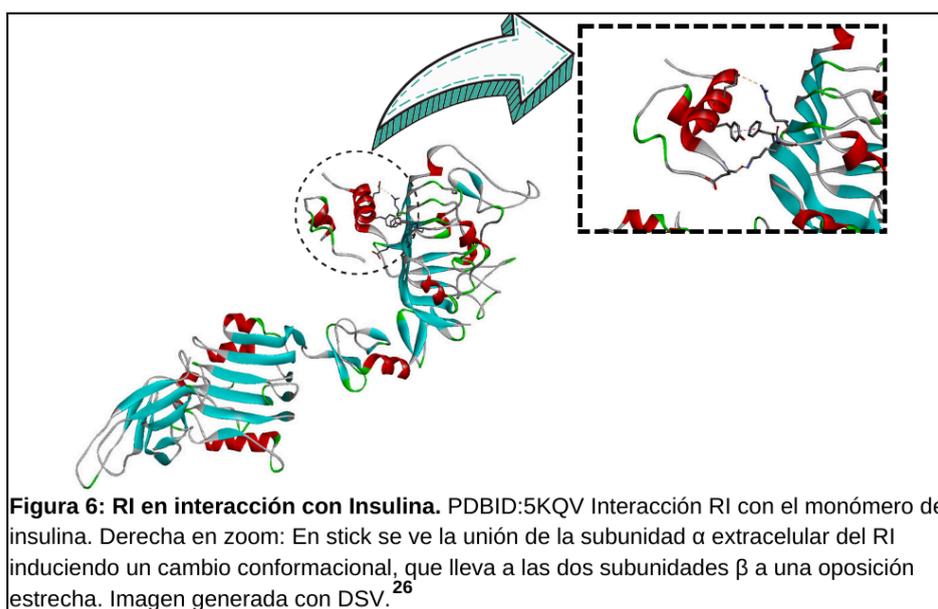
permitiendo la transfosforilación. El dominio más importante para la trans y autofosforilación es en los AA numerados 1146, 1151 y 1152 (37).

La unión insulina - RI, activa dos vías de señalización (PI3K-AKT y MAPK) (70).

Para que se produzca la unión insulina - receptor, el segmento Carboxilo terminal de la cadena B de insulina se desprende de su núcleo: generando de esta forma un cambio conformacional al unirse al receptor (71).

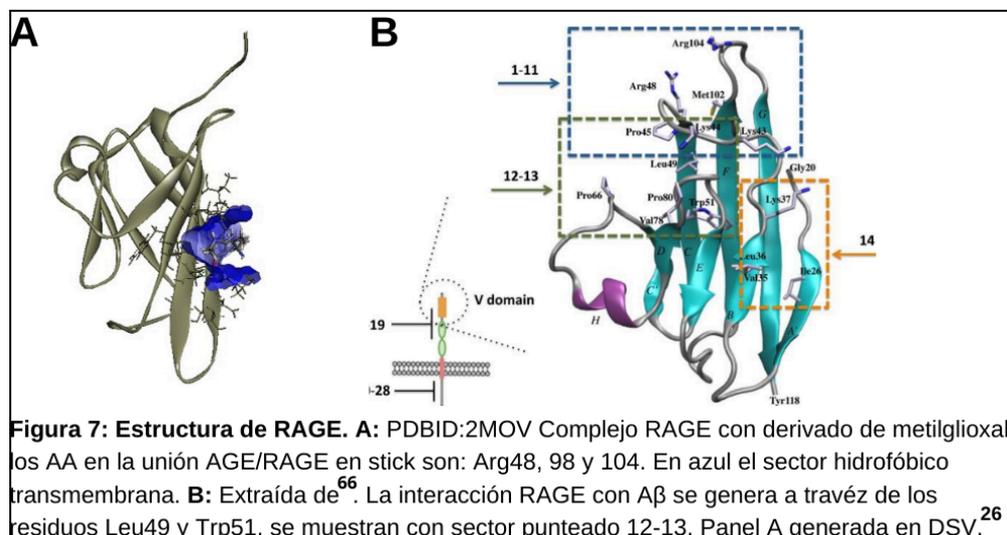
Cuando existe una mutación en Asn y Ala en el RI tipo A resulta en un receptor desprovisto de alguna posibilidad de unión a la insulina, mientras que una mutación similar en el RI tipo B genera una disminución de aproximadamente 63 veces en su afinidad. En tanto si se genera una mutación de Leu37 - Ala en RI tipo B se reduce 40 veces la afinidad. Mutaciones de Tyr708 o Asn711 en el dominio C-terminal de la subunidad α tienen un mayor efecto sobre la afinidad de la isoforma B con respecto a la isoforma A, mientras que ocurre lo contrario para las mutaciones en Leu709, Val713, Val715, Asp707 y Phe714 (40).

Cuando están separados los dos dominios de tirosina quinasa, se impide el bucle de activación del RI. Al aproximarse una molécula de insulina, se unen los dos dominios extracelulares lo cual activa los dominios de tirosina quinasa (39).



RAGE- A β - AGE

Las interacciones AGE-RAGE como también A β -RAGE activan vías que culminan con inflamación y daño tisular. Una de las vías que activa es NF- κ B la que por medio de retroalimentación positiva interactúa con una región promotora para la expresión de RAGE (64). RAGE a su vez regula la vía de NADPH y la óxido nítrico sintasa, lo que incrementa el deterioro mitocondrial y estrés oxidativo. Este estrés oxidativo eleva la actividad de la β -secretasa, enzima clave en la formación de A β y por ende en la generación de placas amiloides (67). Estudios indican que las regiones donde se reconocen y unen los AGE están localizadas en el dominio V de RAGE, específicamente en áreas cargadas positivamente aunque determinar los aminoácidos exactos involucrados en la unión AGE/RAGE es difícil debido a la diversidad de AGE (**Figura 7a**). Tanto para RAGE como para A β son importantes los parches cargados positivamente en el dominio V y C1, con numerosos residuos de Arg y Lys, como se ve en la **Figura 7b** son cruciales para la unión con muchos de sus ligandos negativos (72). Esta interacción además de inflamación aumenta el transporte de A β sérico a través de la BHE por medio de RAGE, promoviendo su acumulación en el cerebro, lo que respalda la teoría de que RAGE está implicado en la progresión de la EA (73). Estudios han demostrado un aumento periférico de RAGE en EA, lo que ha llevado al desarrollo de inhibidores como FPS-ZM1, que bloquean el sitio de anclaje de A β . En modelos de ratón, FPS-ZM1 se une específicamente a RAGE, inhibiendo la actividad de β -secretasa, la producción de A β , la activación de la microglía y la respuesta neuroinflamatoria, este bloqueo también reduce la concentración de A β 40 y A β 42 que cruza la barrera hematoencefálica (74).



Interacción entre insulina e IDE

La IDE degrada la insulina en dos partes sin romper sus enlaces disulfuro intermoleculares entre las cadenas A y B. El extremo amino de la insulina interactúa con el otro extremo amino de IDE mientras tanto el extremo carboxilo de IDE interactúa con la porción carboxilo terminal de la insulina, dichas estructuras se representan en la **Figura 8c**. Ambas estructuras son la base molecular de la manera en que IDE escinde la insulina en dos, sin elegir cuál cortar primero. Cuando la IDE se encuentra en estado catalítico abierto, de esta forma captura sustratos peptídicos grandes, como son A β e insulina (45).

Interacciones entre la IDE y β amiloide 1-42

IDE actúa en las formas monoméricas y es relevante para la degradación de A β . Uno de los puntos claves en la fisiopatología de EA como ya fue expuesto es en efecto la formación de placas de A β resultado de la acumulación de dichas moléculas; se sabe que en dicha patología existe acumulación no solo por mayor generación sino también por un menor clearance de estas moléculas. No se tiene en claro el fragmento al que se une A β a la IDE pero se conoce que es cercano a los sitios de zinc. Residuos que se han visto implicados con la interacción con el ligando; se cree que se vinculan sobretodo con las zonas de A β en donde se encuentran láminas β expuestas las que en caso de no degradarse muchas veces se agregan con otras láminas β expuestas de otro compuesto amiloide(75). El residuo Try831 del dominio 4 forma puentes de hidrógeno con el ligando, lo cual ayuda a ubicar la molécula en el sitio catalítico. Los puntos de corte de IDE en A β 1-42 son a nivel de los residuos Glu3-Phe4, Phe4-Arg5 y entre los residuos His13-Phe20 y Lys28-Gly29, representado en **Figura 8b**(46).

La acumulación de A β se ve aumentada en DM2 debido a un descenso de la actividad de las IDE. A su vez la agregación de A β impide el correcto funcionamiento de la insulina, lo cual genera un círculo vicioso que termina en una producción elevada de A β . Bajos niveles de insulina en pacientes con EA pueden explicar una actividad disminuida de IDE y acumulación A β (76).

Experimentos en ratones en knock-out a IDE demuestran su relevancia en la depuración de A β en donde existía un decrecimiento de la capacidad de degradarlas mayor a un 50% respecto a los normales y lo contrario sucedía con la sobreexpresión de la enzima, donde los valores de A β se desplomaron (46).

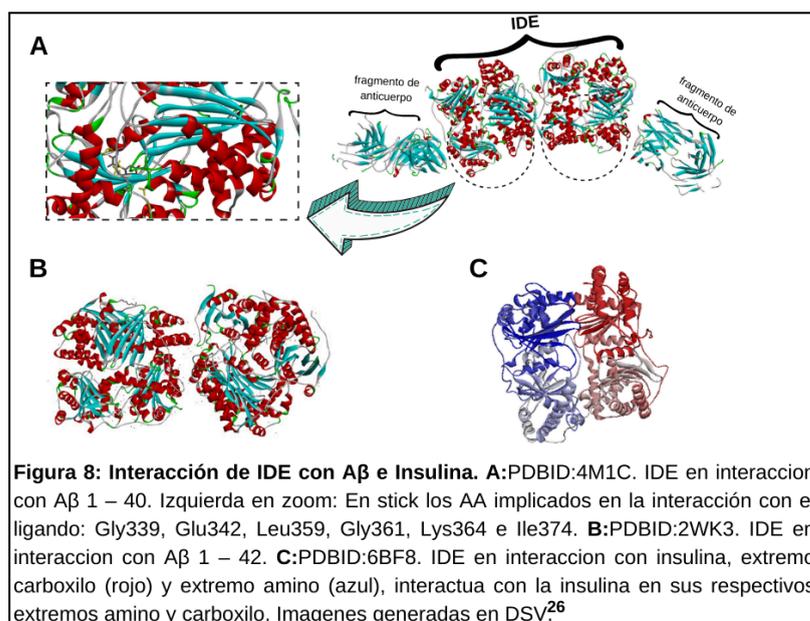


Tabla I- Sistemas moleculares seleccionados en DM2, EA y su cruce, extraídos de PDB

PDB ID	MOLÉCULA	PESO MOLECULAR (kDa)	CADENA	LONGITUD	MÉTODO	RESOLUCIÓN (Å)
RECEPTOR DE INSULINA						
5KQV	Receptor de insulina en interacción con insulina (DM2)	247,03	E,F	2120	Rayos X	4,4
1IR3	Porción activa del receptor de insulina (DM2)	37.54	A,B	309	Rayos X	1.90
1IRK	Porción inactiva del receptor de insulina (DM2)	35.25	A,B,C	303	Rayos X	2.10
RAGE						
3O3U	RAGE extracelular (DM2)	64.03	A,B,C	580	Rayos X	1.50
2MOV	Complejo RAGE con derivado de metilgloxal (DM2)	11,8	A,B	105	NMR en solución	
IDE						
6B7Y	IDE en estado abierto (DM2)	223.73	A,B	1888	Cryo EM	6.50
4DTT	IDE cerrado con inhibidor (DM2)	230.75	A,B	1910	Rayos X	3.22
2WK3	IDE en interacción con A β 1 – 42	245.11	A-D	1934	Rayos X	2.59
6BF8	IDE en interacción con Insulina (DM2)	223.73	A,B	1888	Microscopía electrónica	4.20
INSULINA						
2HIU	Insulina monomérica (DM2)	5.82	A,B	51	NMR en solución	
2AIY	Hexámera de insulina simétrica (DM2)	35.47	A-D,G,H,I	306	NMR en solución	
1EV3	Dímero de insulina (DM2)	12.16	A-D	98	Rayos X	1.78
β AMILOIDE						
1IYT	A β 1 – 42 (EA)	4.52	A	42	NMR en solución	
1BA4	A β 1 – 40 (EA)	4.34	A	40	NMR en solución	
4M1C	A β 1 – 40 en interacción con IDE	346.29	A-D	2692	Rayos X	3.50

Discusión

Muchos son los puntos de cruces que se encontraron en el transcurso del estudio. Como punto de partida, ambas enfermedades están marcadas por daños relacionados con estados inflamatorios, que provocan alteraciones en el organismo y contribuyen al desarrollo y progresión de las dos enfermedades. Dicha inflamación se da a través de vías de señalización como en el caso de la RI o RAGE, moléculas ($A\beta$ o insulina) y también de manera indirecta mediante enzimas que participan en eventos patológicos (hipoactividad de IDE). La acumulación de insulina en etapas tempranas, característica de la DM2, provoca un daño que favorece condiciones para la EA, ya sea por medio directo por la resistencia a la insulina, que por un lado aumenta la inflamación, y por otro, reduce la expresión de los RI, que cabe recordar se ha visto implicado en procesos de aprendizaje y funciones cognitivas relacionado directamente con la clínica de las enfermedades neurocognitivas y que a su vez determina una mayor resistencia a la insulina y descontrol metabólico de los glúcidos que se acumulan y distorsionan el medio. Muchos de estos glúcidos se convierten en AGE, quienes como ya se mencionó, impulsan de forma directa un ambiente inflamatorio nocivo e interacción con RAGE potenciando estos efectos.

Dos vías estimulan la mayor producción y acumulación de $A\beta$ en EA: a) estimulando la expresión la gamma secretasa, una de las enzimas que lo procesa, y b) una mayor entrada del $A\beta$ desde la circulación periférica hacia la cerebral, facilitada por RAGE que lo transporta a través de la BHE. Este proceso es crítico en la determinación de la concentración cerebral de dicha molécula.

Como fisiológicamente estos procesos ocurren y causan daños asociados a la edad, el cuerpo tiene medios para contrarrestar dichos eventos como es el caso de la IDE. En estados de DM se pone a la IDE al límite de su capacidad funcional. Sumado a esto, tenemos que la insulina no es el único sustrato para IDE sino que también y no por casualidad degrada a $A\beta$, quien también se encuentra en grandes cantidades en este contexto. Por lo tanto, tenemos una enzima que no es capaz de contrarrestar todos los daños que pueden ocasionar estas moléculas. Además, la IDE puede adquirir mutaciones que la

vuelven hipoactiva o menos afín a sus sustratos, lo que expondría aún más al individuo a ambas patologías.

A lo largo del recorrido en la búsqueda bibliográfica realizada se encontraron distintas hipótesis, una de ellas es la "hipótesis de la cascada amiloidea", la cual se centra en la desproporción entre la producción y eliminación de $A\beta$ que conlleva a la formación de placas amiloides, causantes de EA. Hoy en día se le ha quitado el peso que tuvo durante 30 años, ya que se ha visto en autopsias de pacientes con EA que no presentaban placas amiloides, de todas formas sigue relacionada fuertemente con el tipo de EA hereditario de aparición temprana. Varios experimentos han fracasado en cuanto al tratamiento de EA, uno de ellos es la creación de anticuerpos contra $A\beta$ (77). Actualmente gracias a los avances tecnológicos revelaron que en sujetos sin EA tienen depósitos amiloide.

En cuanto a tau, se lo considera como un mecanismo que intenta ser protector, perdiendo de esta forma ambas proteínas papel central en la patogenia de EA (78).

La utilización de glucosa por el SNC ha tomado relevancia en cuanto a su relación con la EA, y por esto la DM2 se considera que influye en la patogénesis de EA (12). Debido a esto, otras investigaciones se han centrado en buscar otras asociaciones, como la Diabetes Mellitus tipo 3.

Estudios in vitro vinculan las patologías desde locus genéticos, tanto neuronas como células β pancreáticas tienen similitudes genotípicas y fenotípicas, por tanto, la expresión genética de un órgano puede afectar al otro (79).

Investigaciones con animales demuestran la relación existente entre la resistencia a la insulina y la formación de acúmulos de APP. Un estado inflamatorio persistente y descontrolado en el tejido neuronal genera la agregación de $A\beta$ y tau, lo cual desencadena la EA (80).

Uno de los artículos que marcó cierta relevancia es el centrado en el tipo de $A\beta$ -56, que se aisló en animales transgénicos y al ser introducido en otros animales no transgénicos se vio que generaba un déficit cognitivo. Este artículo tiempo después fue retractado, por encontrarse que las imágenes fueron manipuladas, y no era ético que continuara en circulación (77).

En cuanto a propuestas terapéuticas podrían estar centradas en el eje RAGE/AGE en donde se encuentran 3 puntos grandes: a) colocar a la enzima como diana, b) en los AGE o c) aumentar sRAGE. Los antioxidantes puede que jueguen un rol relevante para una menor producción de ROS que se eleva en etapas tempranas de la EA, reduciendo daños oxidativos e inflamatorios (81). Los AGE pueden reducirse por un menor consumo de alimentos que los contengan (carne roja, cerdo, pescado y huevos), reducción en las formas de cocción que aumentan los AGE (frituras, grill, rostizado), cese del tabaco y aumento de la actividad física o por ingredientes que inhiban su formación (67). Para RAGE podemos optar por agentes que regulen su expresión en baja o aquellos que bloqueen su sitio de anclaje. Se ha visto que RAGEs puede elevarse ante el consumo de algunas estatinas o con la administración exógena de la molécula(67).

Conclusiones y perspectivas

De acuerdo con la búsqueda bibliográfica realizada la insulina y A β tienen como punto en común la patogénesis de EA. En las patologías mencionadas en esta monografía está aumentada la concentración de RAGE, desencadena vías proinflamatorias y de estrés oxidativo al unirse a los AGE.

Los AGE reaccionan con lípidos, ácidos nucleicos y grupos aminos de proteínas mediante reacciones no enzimáticas, situación que ocurre en estados patológicos como DM2 y EA.

La IDE es otra proteína relacionada con estas patologías, su función enzimática interactúa tanto con la insulina como con A β , liberando al medio el producto escindido. Cuando se encuentra en hipofunción conduce a un aumento de A β , ya sea en su forma de monómero, oligómeros, protofibrillas o fibrillas amiloides. Esto teniendo en cuenta que degrada principalmente la forma de A β soluble. Este último se encontró que es tóxico cuando se acumula. Por otro lado, una deficiencia de la IDE genera hiperglucemia.

La hiperglucemia junto a la producción muy baja de insulina o una insulina no funcional son la base patológica de la DM2, se ha encontrado además que los RI presentan una función disminuida, debido a mutaciones en los aminoácidos que conforman el sitio de unión al ligando.

Con respecto a la EA y pese a lo expuesto previamente, la causa de la mayoría de los pacientes aún se desconoce. Se caracteriza principalmente por la formación de placas amiloides en el cerebro, aunque estudios posteriores sugirieron que no existe una correlación directa entre estas placas y la pérdida de sinapsis y neuronas en cerebros con EA. Sin embargo, el A β acumulado primero forma oligómeros gradualmente se deposita como fibrillas y placas seniles, y tanto la acción de los oligómeros uniéndose a sus receptores como la agregación de los mismos en fibrillas, a la larga determina disfunción neuronal y sináptica eventual y, finalmente, EA. En apoyo a lo previo, las mutaciones en el gen APP humano causan el desarrollo de placas amiloides, especialmente en la EA familiar de inicio temprano. Las mutaciones en el gen APP humano están cerca del sitio de la γ -secretasa y pueden aumentar la relación A β 42/A β 40.

Referencias bibliográficas

1. Farreras-Rozman C. Medicina interna. Metabolismo y nutrición. Endocrinología. 18.^a ed. Vol. 2. España: Elsevier; 2018.
2. Aguilar Salinas, Achner P. Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia. Rev ALDAD Permanyer. 2019.
3. Baduini IR, Castro Vildosola JE, Kavehmoghaddam S, Kiliç F, Nadeem SA, Nizama JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus and neurodegenerative disorders: The mitochondrial connection. *Pharmacol Res.* 2024 ;209:107439.
4. Toloza-Ramírez D, Méndez-Orellana C, Martella D. Diagnóstico neuropsicológico diferencial en enfermedad de Alzheimer y demencia frontotemporal: una revisión sistemática cualitativa. *Neurol Perspect.* 2021;1(1):82-97.
5. Wu J, Su Y, Reiman EM, Caselli RJ, Chen K, Thompson PM, et al. Investigating the Effect of Tau Deposition and Apoe on Hippocampal Morphometry in Alzheimer's Disease: A Federated Chow Test Model. En: 2022 IEEE 19th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI) [Internet]. Kolkata, India: IEEE; 2022 . p. 1-5. Disponible en: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9761576/>
6. El tratamiento de las demencias en el sistema de salud de Uruguay. *Psicol Conoc Soc.* 2018 ;8(2). Disponible en: <https://revista.psico.edu.uy/index.php/revpsicologia/article/view/505/369>
7. Día Mundial del Alzheimer. Ministerio de Salud Pública. 2024.
8. Mittal K, Mani RJ, Katare DP. Type 3 Diabetes: Cross Talk between Differentially Regulated Proteins of Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease. *Sci Rep.* 2016;6(1):25589.
9. Cho SB. Comorbidity Genes of Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes Associated with Memory and Cognitive Function. *Int J Mol Sci.* 2024;25(4):2211.
10. Hernández-Contreras KA, Martínez-Díaz JA, Hernández-Aguilar ME, Herrera-Covarrubias D, Rojas-Durán F, Aranda Abreu GE. Mecanismos de asociación entre Enfermedad de Alzheimer y Diabetes Mellitus: La paradoja de la insulina. *Arch Neurocienc* [Internet]. 2021;25(4). Disponible en: <https://archivosdeneurociencias.org/index.php/ADN/article/view/212>

11. Moreno-Gonzalez I, Edwards Iii G, Salvadores N, Shahnawaz M, Diaz-Espinoza R, Soto C. Molecular interaction between type 2 diabetes and Alzheimer's disease through cross-seeding of protein misfolding. *Mol Psychiatry*. 2017;22(9):1327-34.
12. Yonamine CY, Michalani MLE, Moreira RJ, Machado UF. Glucose Transport and Utilization in the Hippocampus: From Neurophysiology to Diabetes-Related Development of Dementia. *Int J Mol Sci*. 2023;24(22):16480.
13. Kametani F, Hasegawa M. Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2018;12:25.
14. Merz GE, Chalkley MJ, Tan SK, Tse E, Lee J, Prusiner SB, et al. Stacked binding of a PET ligand to Alzheimer's tau paired helical filaments. *Nat Commun*. 2023;14(1):3048.
15. Hai Y, Ren K, Zhang Y, Yang L, Cao H, Yuan X, et al. HIF-1 α serves as a co-linker between AD and T2DM. *Biomed Pharmacother*. 2024;171:116158.
16. Kim HJ, Jeong MS, Jang SB. Molecular Characteristics of RAGE and Advances in Small-Molecule Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6904.
17. Zhou X, Zhu Y, Gao L, Li Y, Li H, Huang C, et al. Binding of RAGE and RIPK1 induces cognitive deficits in chronic hyperglycemia-derived neuroinflammation. *CNS Neurosci Ther*. 2024;30(3):e14449.
18. Chakraborty A, Sami SA, Marma KKS. A comprehensive review on RAGE-facilitated pathological pathways connecting Alzheimer's disease, diabetes mellitus, and cardiovascular diseases. *Egypt J Intern Med*. 2021;33(1):47.
19. Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, Frosch MP, et al. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid β -protein, and the β -amyloid precursor protein intracellular domain *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci*. 2003;100(7):4162-7.
20. Mohamed-Mohamed H, García-Morales V, Sánchez Lara EM, González-Acedo A, Pardo-Moreno T, Tovar-Gálvez MI, et al. Physiological Mechanisms Inherent to Diabetes Involved in the Development of Dementia: Alzheimer's Disease. *Neurol Int*. 2023;15(4):1253-72.
21. Biessels GJ, Despa F. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(10):591-604.
22. wwPDB consortium, Burley SK, Berman HM, Bhikadiya C, Bi C, Chen L, et al. Protein Data Bank: the single global archive for 3D macromolecular structure data. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D520-8.
23. Colibri [Internet]. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/>
24. Descriptores en Ciencias de la Salud. [Internet]. Disponible en: <https://decs.bvsalud.org/es/>
25. The UniProt Consortium, Bateman A, Martin MJ, Orchard S, Magrane M, Ahmad S, et al. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):D523-31.
26. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28: 235-242
27. Zardecki C, Dutta S, Goodsell DS, Lowe R, Voigt M, Burley SK. PDB-101: Educational resources supporting molecular explorations through biology and medicine. *Protein Science*, 2022, 31: 129-140
28. Goodsell DS, Dutta S, Zardecki C, Voigt M, Berman HM, Burley SK. The RCSB PDB "Molecule of the Month": Inspiring a Molecular View of Biology. *PLoS Biol*, 2015, 13(5): e1002140.
29. BIOVIA, Dassault Systèmes. Discovery Studio Visualizer [Visualization software], Version 2024, San Diego: Dassault Systèmes, 2024.
30. Weiss M, Steiner DF, Philipson LH. Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships. Endotext MDTtextcom Inc South Dartm MA.
31. Whittaker L, Hao C, Fu W, Whittaker J. High-Affinity Insulin Binding: Insulin Interacts with Two Receptor Ligand Binding Sites. *Biochemistry*. 2008;47(48):12900-9.
32. Huang K, Chan SJ, Hua Q xin, Chu YC, Wang R ying, Klapproth B, et al. The A-chain

- of Insulin Contacts the Insert Domain of the Insulin Receptor. *J Biol Chem.* 2007;282(48):35337-49.
33. Lawrence MC. Understanding insulin and its receptor from their three-dimensional structures. *Mol Metab.* 2021;52:101255.
34. Jiang C, Chang JY. Unfolding and breakdown of insulin in the presence of endogenous thiols. *FEBS Lett.* 2005;579(18):3927-31.
35. Losada Calderón BN, Almeida Mora PA, García Mármol JG, Corrales Santander HR. Síndromes de insulinoresistencia severa ligados a mutaciones en el gen que codifica el receptor de la insulina. *Rev Colomb Endocrinol Diabetes Metab [Internet].* 2024;11(3). Disponible en: <https://revistaendocrino.org/index.php/rcedm/article/view/884>
36. Moruzzi N, Lazzeri-Barcelo F, Valladolid-Acebes I, Moede T, Paschen M, Leibiger B, et al. Tissue-specific expression of insulin receptor isoforms in obesity/type 2 diabetes mouse models. *J Cell Mol Med.* 2021;25(10):4800-13.
37. Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/Insulin-Like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease. *Endocr Rev.* 30.
38. Matar-Khalil SR, Rubio-Sandoval FC. El deterioro cognitivo como una complicación de la Diabetes Mellitus Tipo 2. *Nova.* 2021;19(37):25-41.
39. Escribano O, Beneit N, Rubio-Longás C, López-Pastor AR, Gómez-Hernández A. The Role of Insulin Receptor Isoforms in Diabetes and Its Metabolic and Vascular Complications. *J Diabetes Res.* 2017;2017:1-12.
40. Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/Insulin-Like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease. *Endocr Rev.* 30.
41. White MF, Kahn CR. Insulin action at a molecular level – 100 years of progress. *Mol Metab.* 2021;52:101304.
42. Gutmann T, Kim KH, Grzybek M, Walz T, Coskun Ü. Visualization of ligand-induced transmembrane signaling in the full-length human insulin receptor. *J Cell Biol.* 2018;217(5):1643-9.
43. Uchikawa E, Choi E, Shang G, Yu H, Bai X chen. Activation mechanism of the insulin receptor revealed by cryo-EM structure of the fully liganded receptor–ligand complex. *eLife.* 2019;8:e48630.
44. Siddle K. Molecular Basis of Signaling Specificity of Insulin and IGF Receptors: Neglected Corners and Recent Advances. *Front Endocrinol.* 2012;3. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2012.00034/abstract>
45. Zhang Z, Liang WG, Bailey LJ, Tan YZ, Wei H, Wang A, et al. Ensemble cryoEM elucidates the mechanism of insulin capture and degradation by human insulin degrading enzyme. *eLife.* 2018;7:e33572.
46. Żukowska J, Moss SJ, Subramanian V, Acharya KR. Molecular basis of selective amyloid- β degrading enzymes in Alzheimer's disease. *FEBS J.* 2024;291(14):2999-3029.
47. Zheng Q, Lee B, Kebede MT, Ivancic VA, Kemeh MM, Brito HL, et al. Exchange Broadening Underlies the Enhancement of IDE-Dependent Degradation of Insulin by Anionic Membranes. *ACS Omega.* 2022;7(28):24757-65.
48. Tang WJ. Targeting Insulin-Degrading Enzyme to Treat Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 2016;27(1):24-34.
49. Folch J, Ettcheto M, Petrov D, Abad S, Pedrós I, Marin M, et al. Una revisión de los avances en la terapéutica de la enfermedad de Alzheimer: estrategia frente a la proteína β -amiloide. *Neurología.* 2018;33(1):47-58.
50. Sun X, Chen WD, Wang YD. β -Amyloid: the key peptide in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Pharmacol.* 2015 ;6.
51. Sousa JA, Bernardes C, Bernardo-Castro S, Lino M, Albino I, Ferreira L, et al. Reconsidering the role of blood-brain barrier in Alzheimer's disease: From delivery to target. *Front Aging Neurosci.* 2023;15:1102809.

52. Chen G fang, Xu T hai, Yan Y, Zhou Y ren, Jiang Y, Melcher K, et al. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol Sin.* 2017;38(9):1205-35.
53. Sims-Robinson, Kim, B, Rosko, A. How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology?. *Nat Rev Neurol.* 2010;6:551-9.
54. Liraz O, Boehm-Cagan A, Michaelson DM. ApoE4 induces A β 42, tau, and neuronal pathology in the hippocampus of young targeted replacement apoE4 mice. *Mol Neurodegener.* 2013;8(1):16.
55. Nilsson P, Iwata N, Muramatsu S, Tjernberg LO, Winblad B, Saido TC. Gene therapy in Alzheimer's disease - potential for disease modification. *Journal of cellular and molecular medicine.* 2010;14(4):741-57.
56. Lopez Sanchez MIG, Waugh HS, Tsatsanis A, Wong BX, Crowston JG, Duce JA, et al. Amyloid precursor protein drives down-regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation independent of amyloid beta. *Sci Rep.* 2017;7(1):9835.
57. Gonçalves PB, Sodero ACR, Cordeiro Y. Natural products targeting amyloid- β oligomer neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 2024;276:116684.
58. Morley J, Farr S, Banks W, Johnson S, Yamada K, Xu L. A Physiological Role for Amyloid Beta Protein: Enhancement of Learning and Memory. *Nat Preced.* 2008
59. Carvajal CC. *BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.* . ISSN. 33.
60. Crescenzi O, Tomaselli S, Guerrini R, Salvadori S, D'Ursi AM, Temussi PA, et al. Solution structure of the Alzheimer amyloid β -peptide (1-42) in an apolar microenvironment: Similarity with a virus fusion domain. *Eur J Biochem.* 2002;269(22):5642-8.
61. Zeng Y, Yang J, Zhang B, Gao M, Su Z, Huang Y. The structure and phase of tau: from monomer to amyloid filament. *Cell Mol Life Sci.* :1873-86.
62. Xie J, Reverdatto S, Frolov A, Hoffmann R, Burz DS, Shekhtman A. Structural Basis for Pattern Recognition by the Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE). *J Biol Chem.* 2008;283(40):27255-69.
63. Reddy VP, Aryal P, Soni P. RAGE Inhibitors in Neurodegenerative Diseases. *Biomedicines.* 2023;11(4):1131.
64. Koch M, Chitayat S, Dattilo BM, Schiefner A, Diez J, Chazin WJ, et al. Structural Basis for Ligand Recognition and Activation of RAGE. *Structure.* 2010;18(10):1342-52.
65. Dong H, Sun Y, Nie L, Cui A, Zhao P, Leung WK, et al. Metabolic memory: mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):38.
66. Bongarzone S, Savickas V, Luzi F, Gee AD. Targeting the Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE): A Medicinal Chemistry Perspective. *J Med Chem.* 2017;60(17):7213-32.
67. Prasad K. AGE-RAGE stress: a changing landscape in pathology and treatment of Alzheimer's disease. *Mol Cell Biochem.* 2019;459(1-2):95-112.
68. Zhou M, Zhang Y, Shi L, Li L, Zhang D, Gong Z, et al. Activation and modulation of the AGEs-RAGE axis: Implications for inflammatory pathologies and therapeutic interventions - A review. *Pharmacol Res.* 2024;206:107282.
69. Macháčková K, Mlčochová K, Potalitsyn P, Hanková K, Socha O, Buděšínský M, et al. Mutations at hypothetical binding site 2 in insulin and insulin-like growth factors 1 and 2 result in receptor- and hormone-specific responses. *J Biol Chem.* 2019;294(46):17371-82.
70. Choi E, Bai XC. The Activation Mechanism of the Insulin Receptor: A Structural Perspective. *Annu Rev Biochem.* 2023;92(1):247-72.
71. Lawrence MC. Understanding insulin and its receptor from their three-dimensional structures. *Mol Metab.* 2021;52:101255.
72. Tolstova AP, Adzhubei AA, Mitkevich VA, Petrushanko IYu, Makarov AA. Docking and Molecular Dynamics-Based Identification of Interaction between Various Beta-Amyloid Isoforms and RAGE Receptor. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11816.
73. Hampel H, Hardy J, Blennow K, Chen C, Perry G, Kim SH, et al. The Amyloid- β

- Pathway in Alzheimer's Disease. *Mol Psychiatry*. 2021;26(10):5481-503.
74. Deane R, Singh I, Sagare AP, Bell RD, Ross NT, LaRue B. A multimodal RAGE-specific inhibitor reduces amyloid β -mediated brain disorder in a mouse model of Alzheimer disease. *J Clin Invest*.
75. Kozin SA. Role of Interaction between Zinc and Amyloid Beta in Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Biochem Mosc*. 2023;88(S1):S75-87.
76. Żukowska J, Moss SJ, Subramanian V, Acharya KR. Molecular basis of selective amyloid- β degrading enzymes in Alzheimer's disease. *FEBS J*. 2024;291(14):2999-3029.
77. Lesné S, Koh MT, Kotilinek L, Kaye R, Glabe CG, Yang A, et al. RETRACTED ARTICLE: A specific amyloid- β protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*. 2006;440(7082):352-7.
78. Castellani RJ, Nunomura A, Lee H gon, Perry G, Smith MA. Phosphorylated Tau: Toxic, Protective, or None of the Above. Avila J, Perry G, Smith MA, editores. *J Alzheimers Dis*. 2008;14(4):377-83.
79. Baduini IR, Castro Vildosola JE, Kavehmoghaddam S, Kiliç F, Nadeem SA, Nizama JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus and neurodegenerative disorders: The mitochondrial connection. *Pharmacol Res*. 2024;209:107439.
80. Nisar O, Pervez H, Mandalia B, Waqas M, Sra HK. Type 3 Diabetes Mellitus: A Link Between Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. 2020.
81. Matar-Khalil SR, Rubio-Sandoval FC. El deterioro cognitivo como una complicación de la Diabetes Mellitus Tipo 2. *Nova*. 2021;19(37):25-41.

Agradecimientos

Especial agradecimiento a las orientadoras Laura Coitiño y Fabiana Salazar, quienes nos han ayudado en este camino que nunca habíamos experimentado. Agradecer a todos los trabajadores del Laboratorio de Química Teórica y Computacional (LQTC)- Instituto de Química Biológica- Facultad de Ciencias, donde nos han permitido utilizar las instalaciones y nos apoyaron con sus conocimientos para iniciarnos en la bioinformática estructural.