

Universidad de Sevilla



---

# *APOE Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER*

---

Facultad de Farmacia



MARÍA RUEDA SOLÍS



UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA  
TRABAJO FIN DE GRADO  
GRADO EN FARMACIA

---

***APOE Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER***

---

María Rueda Solís

Departamento: Bioquímica y Biología Molecular

Tutor: José Luis Venero Recio

Revisión bibliográfica

Sevilla, junio de 2021

## **RESUMEN:**

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a un creciente número de personas en todo el mundo. Se caracteriza por ser una proteopatía (acumulación del péptido  $\beta$ -amiloide y de la proteína tau hiperfosforilada) y por una marcada neuroinflamación mediada principalmente por la microglía, lo que conduce a una neurodegeneración.

De los dos tipos de EA que existen (familiar y esporádica), la EA esporádica, que es la más frecuente, tiene varios factores de riesgo (edad, genética, ambiente), siendo APOE4 su principal factor de riesgo genético y parece ser que su función en esta patología está estrechamente relacionada con el receptor desencadenante expresado en las células mieloides 2 (TREM2), que es expresado en la microglía.

En esta revisión se repasará la implicación de estos dos factores de riesgo genético en la patogenia del Alzheimer y la relación entre ambos en el desarrollo de la EA, para lo cual se han llevado a cabo numerosos estudios en varios modelos de ratón.

Este trabajo se centra principalmente en su implicación en la patología  $A\beta$ , la tautopatía y la neuroinflamación. Por lo que se estudiará el vínculo de la microglía con el desarrollo del efecto patógeno de APOE.

Además, se destacará la importancia de conocer con exactitud la fisiopatología del Alzheimer para el desarrollo de nuevos tratamientos que sean eficaces para detener la progresión de esta enfermedad, ya que los tratamientos comercializados hasta ahora solo servían para tratar los síntomas, aunque recientemente ha sido aprobado un nuevo medicamento por la FDA.

Por tanto, es necesario continuar realizando estudios para comprender mejor esta enfermedad, ya que todavía quedan múltiples dudas por resolver.

Palabras claves: Alzheimer, APOE,  $\beta$ -amiloide, TREM2, microglía.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
1.1. Enfermedad de Alzheimer.....	5
1.2. APOE.....	8
1.3. Receptor TREM2.....	10
<b>2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....</b>	<b>13</b>
<b>3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>14</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>15</b>
4.1. Papel de APOE en EA.....	15
4.1.1. APOE y patología A $\beta$ .....	15
4.1.2. APOE y patología tau.....	18
4.1.3. APOE y neuroinflamación.....	19
4.1.4. Mutación APOE Christchurch.....	20
4.2. Papel de TREM2 en EA.....	20
4.2.1. Mutaciones de TREM2.....	21
4.2.2. TREM2 y patología A $\beta$ .....	22
4.2.3. TREM2 y patología TAU.....	23
4.3. APOE, TREM2 y EA.....	24
4.4. La microglía en la EA.....	26
4.5. Estrategias para futuros tratamientos de la EA.....	27
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>30</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>31</b>

## **1. INTRODUCCIÓN.**

### **1.1. Enfermedad de Alzheimer.**

La enfermedad de Alzheimer (EA) se presenta como el principal motivo de demencia en todo el mundo.

Existen dos tipos: EA familiar de inicio temprano (los síntomas aparecen antes de los 65 años) y EA esporádica de aparición tardía (LOAD), suponiendo esta última la mayoría de los casos (representa en torno al 95% de todos los casos) que suele presentarse a una edad superior (>65 años) (Shah et al., 2017; Shen and Jia, 2016).

La EA familiar es producida por mutaciones genéticas en la proteína precursora de amiloide (APP) o en las presenilinas (PSEN1, PSEN2), lo que afecta a la producción de A $\beta$ , y tiene una herencia autosómica dominante; mientras que en LOAD están implicados factores genéticos (se han identificado más de 30 loci de riesgo), ambientales (como el estrés crónico) y la edad (Gratuze et al., 2018; Wolfe et al., 2019; Lane et al., 2018).

#### Clínica y fisiopatología de la EA:

Entre los síntomas de esta enfermedad, los más destacados son: la pérdida de memoria paulatina, déficits cognitivos y alteraciones en la conducta. Pero un gran inconveniente es que estos síntomas aparecen incluso décadas después del comienzo de esta patología lo que dificulta la posibilidad de realizar un diagnóstico precoz (Gratuze et al., 2018; Shi and Holtzman, 2018; Bennett et al., 2015).

En cuanto a las características patológicas del Alzheimer, las dos principales son las placas extracelulares formadas por el péptido  $\beta$ -amiloide (placas A $\beta$  o placas seniles) y la acumulación intraneuronal de proteína tau hiperfosforilada formando ovillos neurofibrilares (NFT) (Gratuze et al., 2018; Wolfe et al., 2019; Forloni, 2020).

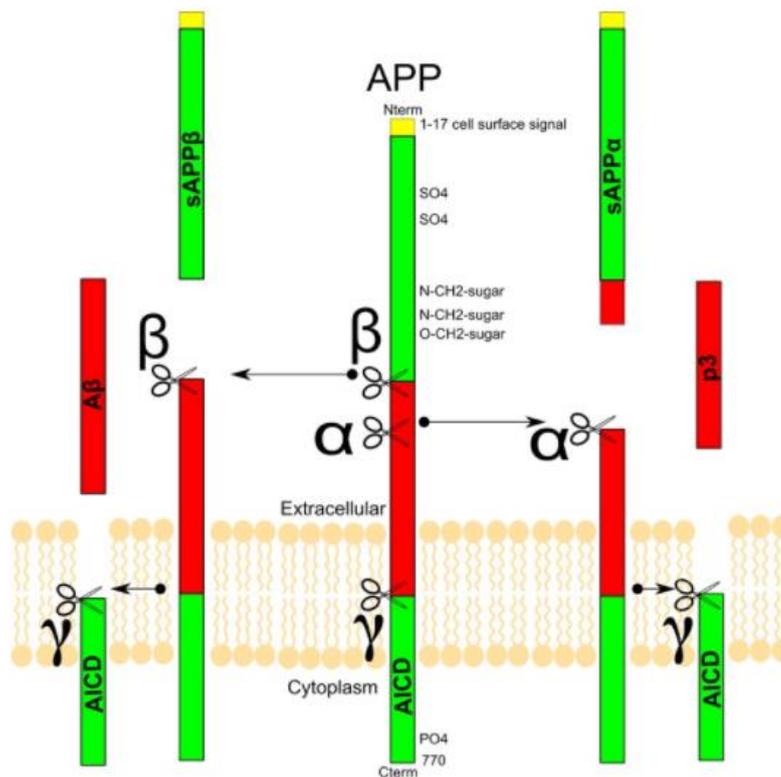
El primer suceso patológico que ocurre en la EA es la agregación del péptido  $\beta$ -amiloide, seguido por la patología tau. Además, esta enfermedad se caracteriza por una neuroinflamación en la que tiene una gran implicación la microglía (Shi and Holtzman, 2018; Tai et al., 2015).

La proteína precursora amiloide (APP) es una proteína transmembrana que sufre una escisión mediada por enzimas proteolíticas ( $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas) dando lugar al péptido amiloide-  $\beta$ .

Se distinguen dos tipos de rutas de escisión en función de los productos obtenidos: no amiloidogénica y amiloidogénica (figura 1). En la vía no amiloidogénica se produce inicialmente el corte de APP por la  $\alpha$ -secretasa dando lugar a la liberación de sAPP $\alpha$  fuera de la membrana celular y quedando retenido dentro de la membrana otro fragmento (C83) que puede volver a ser escindido, esta vez por la  $\gamma$ -secretasa, liberándose así el fragmento p3.

Por otro lado, en la vía amiloidogénica la primera escisión es mediada por la  $\beta$ -secretasa liberándose sAPP $\beta$  al exterior celular. Igual que en la ruta anterior el fragmento que queda retenido dentro de la membrana (C99) puede volver a ser cortado por la  $\gamma$ -secretasa, pero en esta ocasión el producto liberado es el péptido A $\beta$  (de entre 39 y 43 aminoácidos de longitud). Sus dos principales isoformas son A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42, siendo la primera la más abundante pero la segunda la más tendente a la agregación, por lo que A $\beta$ 42 constituye el principal componente de las placas seniles (Arbor et al., 2016; Guo et al., 2020).

La  $\gamma$ -secretasa es un complejo proteico constituido por 4 subunidades: presenilina (PSEN) tipo 1 o 2, potenciador de presenilina 2 (Pen2), nicastina (Nct) y faringe anterior defectuosa-1 (Aph-1). Por tanto, mutaciones en APP, PSEN1 o PSEN2 conducen a una regulación positiva de A $\beta$ , dando lugar la EA familiar (Arbor et al., 2016).



**Figura 1.** Rutas de escisión de la proteína precursora amiloide (APP). La escisión por la enzima  $\alpha$ -secretasa de la APP dará lugar finalmente a la proteína p3, que no se acumula. Sin embargo, la escisión por la  $\beta$ -secretasa conduce al péptido A $\beta$  que forma las placas amiloides (Arbor et al., 2016).

En cuanto a los ovillos neurofibrilares (NFT), están formados por tau hiperfosforilada, que se trata de una proteína de unión a microtúbulos que es expresada principalmente en las neuronas y localizada mayoritariamente en los axones.

Tau sufre diversas modificaciones postraduccionales entre las que destaca la fosforilación, para lo cual presenta 85 sitios potenciales de fosforilación.

La hiperfosforilación conlleva la separación de tau de los microtúbulos y favorece su agregación, por tanto, estos agregados también desempeñan un papel importante en la EA. Dicha fosforilación es regulada por diversas quinasas y fosfatasas (Guo et al., 2020; Perea et al., 2020).

Esta revisión bibliográfica se enfocará en los factores de riesgo genéticos de LOAD, centrándose principalmente en APOE y TREM2, dada su importancia en esta enfermedad.

## **1.2. APOE.**

Se ha demostrado (tanto in vitro como in vivo) que APOE es una molécula que juega un papel importante en la patología del Alzheimer, siendo APOE4 el principal factor genético de riesgo para LOAD (Gratuze et al., 2018; Shi and Holtzman, 2018).

Se trata de una glicoproteína, de 299 aminoácidos, encargada de transportar colesterol y otros lípidos en el sistema nervioso central (SNC) y en plasma. Los transporta en partículas similares a HDL en el cerebro mientras que en plasma se asocia con partículas de LDL (Giau et al., 2015; Serrano-Pozo et al., 2021; Tudorache et al., 2017).

En el cerebro es producida principalmente por los astrocitos y, en ciertas circunstancias, por la microglía (neurodegeneración y/o inflamación) y las neuronas (envejecimiento y estrés); y es lipídada por la proteína transportadora ABCA1 (Chen et al., 2020; Najm et al., 2019).

Hay 3 alelos en humanos: APOE $\epsilon$ 2, APOE $\epsilon$ 3 y APOE $\epsilon$ 4, siendo el primero un factor protector, el segundo el alelo más común y el tercero un factor de riesgo (Sanz et al., 2019; Shi and Holtzman, 2018).

Una única copia del alelo  $\epsilon$ 4 supone un aumento del riesgo de EA en unas 3 veces y con dos copias aumenta el riesgo en unas 12 veces. Sin embargo, el  $\epsilon$ 2 supone una reducción del riesgo en 0,6 veces (Bales and Paul, 2019).

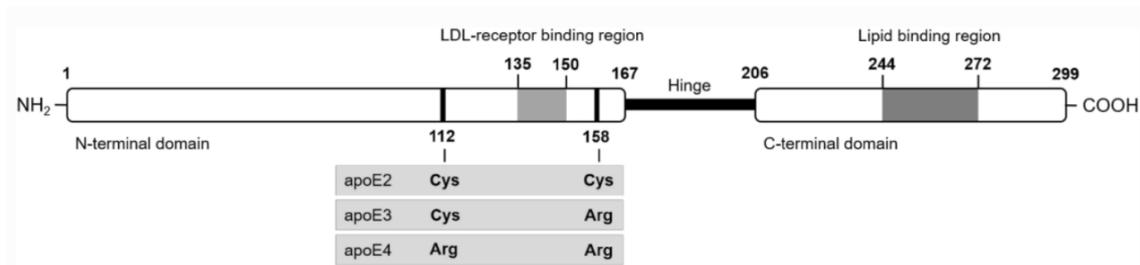
Asimismo, los pacientes portadores de APOE4 presentan los síntomas a una edad más temprana y sufren una progresión más rápida de la patología (Wolfe et al., 2019).

También se ha postulado que la lipídación de APOE tiene un estrecho vínculo con la patología de la EA (Chen et al., 2020; Shi and Holtzman, 2018).

En cuanto a la estructura de APOE, está constituida por dos dominios: el N-terminal y el C-terminal, enlazados por la región bisagra. En el dominio N-terminal (1-167) se encuentra la región de unión al receptor de LDL (135-150) y en el dominio C-terminal

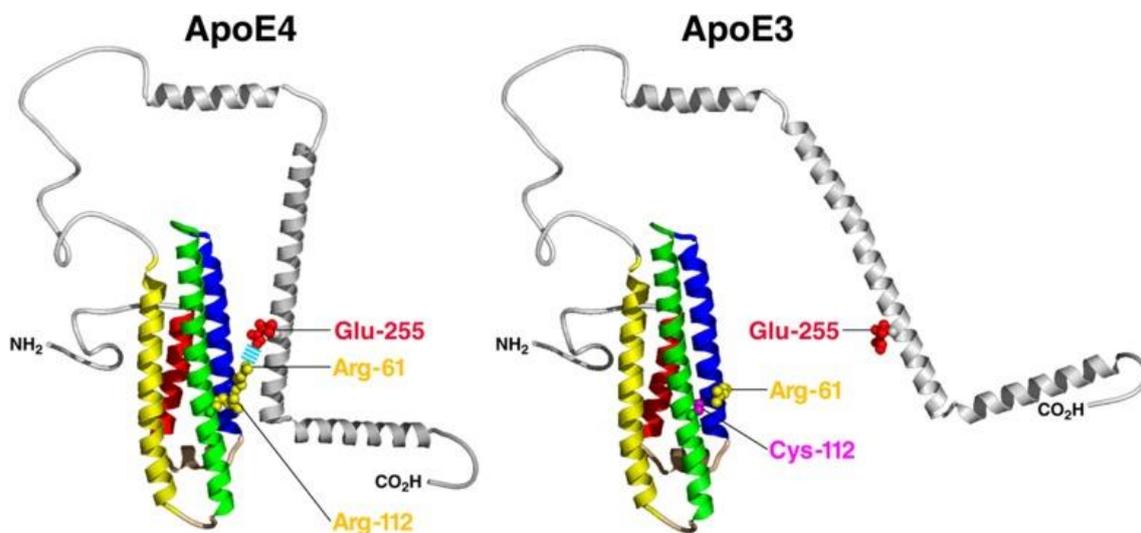
(206-299) se observa la región de unión a lípidos (244-272) (Figura 2) (Chen et al., 2020; Mahoney-Sanchez et al., 2016; Sanz et al., 2019).

Las 3 isoformas de APOE se distinguen únicamente en los aminoácidos de las posiciones 112 y 158: APOE2 tiene Cys en las posiciones 112 y 158, APOE3 Cys en la posición 112 y Arg en la 158 y APOE4 Arg en 112 y 158. (Figura 2) (Chen et al., 2020; Sanz et al., 2019; Yamazaki et al., 2019; Kotze et al., 2015).



**Figura 2.** Estructura e isoformas de APOE. La región bisagra une los dos dominios principales de APOE: el amino-terminal y el carboxilo-terminal. Además, se observan las dos posiciones (112 y 158) en que difieren las tres isoformas de APOE: APOE2, APOE3 y APOE4 (Sanz et al., 2019).

Estas variaciones de aminoácidos en las distintas isoformas dan lugar a diferencias en la estabilidad y funciones de la proteína. Como APOE4 tiene Arg<sup>112</sup> en vez de Cys<sup>112</sup>, pierde el enlace iónico entre Glu<sup>109</sup> y Arg<sup>61</sup>, de tal forma que Arg<sup>61</sup> queda libre pudiendo interactuar con Glu<sup>255</sup>, dando lugar a la interacción entre los dominios amino- y carboxilo-terminales, tal y como se puede ver en la figura 3 (Sanz et al., 2019; Najm et al., 2019).



**Figura 3.** Conformaciones de APOE4 y APOE3. En apoE4, Arg<sup>61</sup> interactúa con Glu<sup>255</sup>, produciendo la interacción dominio-dominio. Sin embargo, en apoE3, Arg<sup>61</sup> no puede interactuar con residuos situados en el dominio C-terminal, por lo que presenta una conformación distinta. (Najm et al., 2019).

Todo esto afecta a la estabilidad de las isoformas, siendo APOE4 la menos estable y APOE2 la más estable (Sanz et al., 2019).

#### Receptores de APOE:

Los principales receptores de APOE son el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR), la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas (LRP1), el receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLR) y el receptor de APOE2 (APOER2), que presentan una afinidad diferente por las distintas isoformas.

De tal forma que APOE2 presenta una baja unión al LDLR, lo que parece estar implicado en el incremento del riesgo en sujetos  $\epsilon 2/\epsilon 2$  de hiperlipoproteinemia familiar tipo III ( Zhao et al., 2018). Por tanto, los pacientes  $\epsilon 2/\epsilon 2$  están protegidos frente a la EA, pero suelen tener dislipemias.

Además de los mencionados, APOE se une a un receptor presente en la microglía, el receptor TREM2 (Liao et al., 2017).

### **1.3. Receptor TREM2.**

TREM2 forma parte de la superfamilia de receptores de activación expresados en células mieloides (TREM). Se trata de una glicoproteína formada por un dominio extracelular de inmunoglobulina V, uno transmembrana y una cola citoplasmática, y el gen que la codifica se localiza en el cromosoma 6p21.

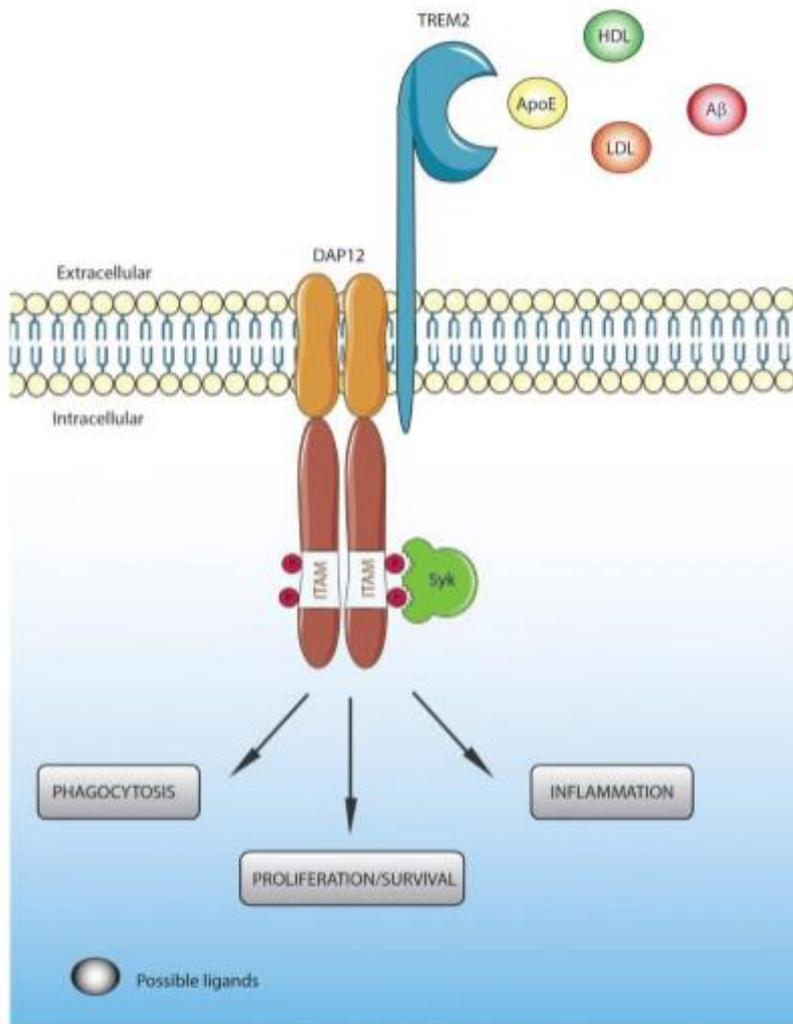
Es expresado por macrófagos, granulocitos, células dendríticas, osteoclastos y microglía, y dicha expresión está regulada por la inflamación (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

#### Ligandos de TREM2:

Entre los ligandos de este receptor se encuentran: lipopolisacáridos (LPS), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y distintas apolipoproteínas, habiéndose demostrado que APOE actúa como ligando y que puede estar lipídada o no. Además, se ha visto que A $\beta$  se une y activa a TREM2 (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

Sin embargo, la señalización no se puede iniciar únicamente con la unión de los ligandos, es necesario que TREM2 se asocie a DAP12 (proteína de activación de DNAX12) mediante una interacción electrostática entre un residuo de Lys en TREM2 y un residuo de Asp en DAP12.

Como consecuencia, tras la unión del ligando se produce la fosforilación de residuos de tirosina de DAP12 localizados en el motivo de activación inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM) por la acción de quinasas, siendo SYK la principal quinasa reclutada. De esta forma se inicia una cascada de señalización dando lugar a la activación de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y a un aumento del calcio intracelular. Todo esto conduce a la regulación de la fagocitosis (TREM2 mejora la fagocitosis), proliferación/supervivencia (mejora la proliferación y supervivencia de células mieloides) e inflamación en la microglía (figura 4) (Ulrich et al., 2017; Gratuze et al., 2018; Konishi and Kiyama, 2018).



**Figura 4.** Representación de los ligandos y señalización de TREM2. (Gratuze et al., 2018).

Hay que destacar que existen diversas variantes de TREM2 que aumentan el riesgo de EA de inicio tardío de forma similar al alelo APOE $\epsilon$ 4, de las cuales hablaremos más adelante (Qin et al., 2021; Ulrich et al., 2017).

## **2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.**

Esta revisión bibliográfica tiene como objetivos:

1. Analizar los factores de riesgo genéticos del Alzheimer de aparición tardía.
2. Estudiar al APOE como principal factor de riesgo genético y su relación con el receptor TREM2.
3. Relacionar dichos factores de riesgo con los eventos patológicos de la enfermedad (patología A $\beta$ , tautopatía, neuroinflamación).
4. Comprender la importancia del estudio de estos factores para el desarrollo de nuevos tratamientos.

### 3. METODOLOGÍA.

Para la realización de esta revisión bibliográfica se procedió a la búsqueda de información principalmente en la base de datos científica PubMed, aunque también se utilizó ScienceDirect.

En PubMed se seleccionaron inicialmente las siguientes palabras claves generales: “Alzheimer” y “APOE”, obteniendo así un gran número de resultados. Por ello posteriormente se incluyeron palabras claves más específicas para acotar la búsqueda, como fueron: “amyloid- $\beta$ ”, “tau”, “TREM2”, “microglía”.

Toda la bibliografía seleccionada estaba en inglés.

Los criterios utilizados para la elección de los artículos fueron:

- ✓ Que las palabras claves se encontrara en el título o resumen (“title/abstract”).
- ✓ Que el tipo de artículo (“publication type”) fuera una revisión (“review”).
- ✓ Que la fecha de publicación (“date publication”) fuese entre el 1/01/2015 y la fecha actual, es decir, que hubiese sido publicado en los últimos 6 años.
- ✓ Que estuviera disponible el texto completo (“full text”).

Para la búsqueda en ScienceDirect se utilizaron criterios similares:

- ✓ Se escogieron como palabras claves “Alzheimer”, “APOE” y “TREM2”.
- ✓ La fecha de publicación de 2015 a 2021.
- ✓ También se eligió como tipo de artículo la revisión.

Además, se consultó en Google académico, que aportó algunos artículos, y páginas webs, como Food and Drug Administration (FDA).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

LOAD, como ya hemos comentado, no tiene una única causa concreta, sino que es muy importante el papel que juegan numerosos factores (edad, genética, entorno) (Guimas et al., 2018).

Cabe destacar que los factores genéticos están implicados en la determinación del inicio y patogenia de esta enfermedad.

En un principio se pensaba que APOE era el único factor de riesgo genético implicado en LOAD pero posteriores estudios de secuenciación del genoma completo (GWAs) demostraron que existían otros factores genéticos que suponían un riesgo considerable, como son los siguientes: TREM2, CD33, CR1, ABCA7, BIN1, CLU, EPHA1 y PICALM (Guo et al., 2020; Kim, 2018; Zhang et al., 2015).

### 4.1. Papel de APOE en EA.

En la actualidad todavía no se conoce con exactitud como actúa la APOE en la EA, pero se han ido desarrollando diversas hipótesis. Sigue sin estar claro si el efecto perjudicial de APOE4 se debe a un aumento de toxicidad o a una disminución de la función protectora (Iacono and Feltis, 2019).

#### 4.1.1. APOE y patología A $\beta$ .

La proteína APOE se une a A $\beta$  constituyendo así complejos APOE/A $\beta$ . Se ha comprobado que cada isoforma (APOE2, APOE3 y APOE4) afecta de una forma distinta a la agregación y aclaramiento del péptido  $\beta$ -amiloide (Hunsberger et al., 2019).

#### APOE y agregación y formación de placas A $\beta$ :

Los resultados obtenidos son aparentemente contradictorios ya que APOE parece que puede tanto aumentar como disminuir la agregación de A $\beta$  (Najm et al., 2019; Uddin et al., 2019).

En varios estudios se vio que APOE conducía a un aumento de oligómeros de A $\beta$ , lo que dependía de la isoforma de la siguiente manera: ApoE4 > ApoE3 > ApoE2. Esto lleva a pensar que APOE influye al metabolismo de estos oligómeros.

También se observó que APOE4 produce una mayor estabilización de A $\beta$  en comparación con APOE3 y que favorece su producción por diversos mecanismos (Zhao et al., 2018; Uddin et al., 2019).

Todos estos resultados llevan a la conclusión de que posiblemente APOE4 suponga un incremento del riesgo de EA al aumentar la formación y agregación de A $\beta$  en el cerebro. Mientras que parece ser que APOE2 conduce a una patología más leve, por lo que se considera un factor protector para la EA. Sin embargo, se requieren más investigaciones acerca de la relación entre APOE4 y la agregación de A $\beta$  *in vivo*, ya que los resultados no están del todo claros (Zhao et al., 2018; Fan et al., 2019).

Además, se llevaron a cabo otros estudios, de manera que en unos modelos se indujo una disminución de APOE y en otros un aumento de APOE, y se comprobó que el efecto de las isoformas de APOE en la agregación de las placas A $\beta$  dependía del estadio de la patología. Se observó que una disminución de APOE antes del depósito de placas A $\beta$  provoca una disminución de la patología A $\beta$ , pero si esta reducción se produce después de la deposición no tiene un efecto significativo. De la misma forma, el aumento de la expresión de APOE antes de que se iniciara el depósito de placas A $\beta$  induce un incremento de la patología A $\beta$ , pero cuando ocurre después no se observa ningún efecto relevante (Chen et al., 2020).

#### APOE y aclaramiento de placas A $\beta$ :

También ha sido investigado el papel de APOE en la eliminación de A $\beta$ , ya que la acumulación de A $\beta$  puede ser debida no solo a su producción en exceso sino también a una depuración ineficaz.

El aclaramiento de A $\beta$  puede llevarse a cabo por varias vías: la degradación proteolítica, el aclaramiento celular mediado por receptores y el aclaramiento cerebrovascular (figura 5) (Zhao et al., 2018).

Algunos autores sugieren que la eliminación de A $\beta$  depende de la isoforma, de manera que: APOE2 > APOE3 > APOE4 (Najm et al., 2019).

Por un lado, algunos estudios indican que la APOE facilita el aclaramiento de A $\beta$  al ayudar a su captación mediada por receptores (LRP1 y LDLR) mediante la formación de complejos APOE-A $\beta$ . Por tanto, la eliminación de estos receptores conduciría a un

aumento del depósito de A $\beta$ , mientras que un incremento de sus niveles conduciría a un aclaramiento celular de A $\beta$  más eficaz.

Aunque no está del todo claro, parece ser que la unión APOE3-A $\beta$  es más fuerte que la unión APOE4-A $\beta$ , lo que llevaría a pensar que esta isoforma es menos eficaz en el aclaramiento de A $\beta$  que APOE3 (Zhao et al., 2018).

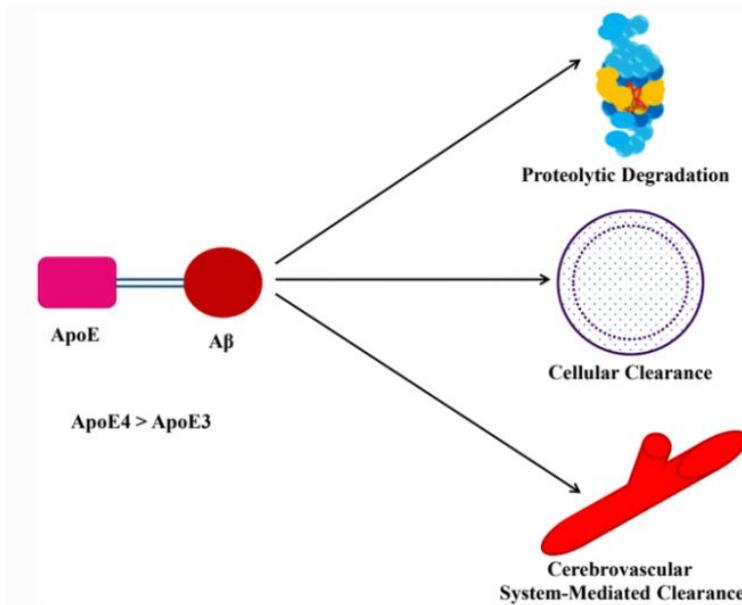
Según otros autores es la isoforma APOE4 la que se une más rápidamente a A $\beta$  cuando se encuentra deslipidada, lo que destaca la importancia del estado de lipidación de APOE (Chen et al., 2020).

Sin embargo, otros estudios muestran como dicho aclaramiento puede ser inhibido por APOE al competir con los receptores (apoE4 > apoE3).

Sería conveniente destacar al receptor LRP1, por su labor en el aclaramiento de A $\beta$  (Uddin et al., 2019). Lo que ocurre es que APOE4 también actúa como ligando de LRP1 por lo que compite con A $\beta$  por la captación celular en astrocitos. De esta forma impide la unión A $\beta$ /LRP1, lo que conlleva un incremento de forma general de A $\beta$  (Hunsberger et al., 2019).

Además, recientes hallazgos muestran que disminuye la eliminación de A $\beta$  del cerebro a la sangre cuando se forman complejos APOE- A $\beta$  en comparación con A $\beta$  libre.

A pesar de todos estos resultados aún siguen siendo necesarios más estudios para conocer de forma exacta la implicación de APOE en el aclaramiento de A $\beta$  (Uddin et al., 2019).



**Figura 5.** Esquema de las principales vías de aclaramiento de A $\beta$ : degradación proteolítica, aclaramiento celular y aclaramiento cerebrovascular (Uddin et al., 2019).

Debido a que el depósito de A $\beta$  se puede apreciar en el cerebro años antes de que empiecen los primeros síntomas, la identificación del período de tiempo que transcurre entre la formación de las placas y el comienzo de los síntomas podría presentarse como una gran oportunidad en terapéutica (Hunsberger et al., 2019).

#### 4.1.2. APOE y patología tau.

El otro evento patológico del Alzheimer es la acumulación de tau hiperfosforilada que conlleva la formación de ovillos neurofibrilares (Hunsberger et al., 2019).

En varios ensayos in vitro se vio que APOE3 presenta una mayor interacción con tau que APOE4.

De manera general APOE es producida por la glía, principalmente por astrocitos, pero en ciertas circunstancias (lesión, estrés) también es expresada por neuronas, lo que se observa en el cerebro de pacientes con Alzheimer. Se ha visto en varios ensayos como la sobreexpresión de APOE4 humana en neuronas (no en astrocitos) conduce a un

incremento de tau fosforilada en cerebros de ratón si se compara con APOE3 (Shi and Holtzman, 2018).

Además, en aquellos pacientes que presentan el alelo APOE4 se detectó más tau en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (Uddin et al., 2019; Rodriguez-Vieitez and Nielsen, 2019).

Otro punto clave es que la APOE no solo afecta a la patología tau, sino que también está implicada en la neurodegeneración inducida por tau (Shi and Holtzman, 2018).

Lo que ocurre es que APOE4 sufre una proteólisis en las neuronas, dando lugar a unos fragmentos que son neurotóxicos (APOE4 tiene mayor susceptibilidad a la proteólisis que APOE3). Dichos fragmentos llegan al citosol y allí promueven la fosforilación de tau e interaccionan con las mitocondrias, dando lugar a la neurodegeneración. Por tanto, se observó una mayor neurodegeneración en pacientes portadores del alelo APOE4 en comparación con pacientes portadores de APOE2 y APOE3. (Najm et al., 2019).

Un estudio post-mortem en cerebros con Alzheimer mostró una mayor unión de APOE4 con tau cuando está presente A $\beta$  en el cerebro, lo que puede llevar a pensar que los efectos de APOE4 sobre tau son dependientes de A $\beta$ . No obstante, también se ha visto en otros estudios que estos efectos de APOE sobre la tautopatía pueden ser A $\beta$ -independientes.

Algunos estudios anuncian que APOE también puede intervenir en la fosforilación de tau mediante algunas quinasas.

Es importante seguir investigando para conocer realmente cómo afecta cada isoforma a la función de la proteína tau (Hunsberger et al., 2019).

#### *4.1.3. APOE y neuroinflamación.*

Otra característica patológica de la EA es la neuroinflamación, que está mediada por la activación glial (astrocitos y microglía).

A pesar de que se piensa que la neuroinflamación tiene una gran importancia en el desarrollo de esta enfermedad, sigue sin entenderse completamente su mecanismo.

Se sabe que APOE afecta a la neuroinflamación gracias distintas vías: modificación del nivel de citocinas, migración microglial y fagocitosis  $\beta$ -amiloide.

Además, como ya hemos mencionado APOE se une al receptor TREM2 que es expresado en la microglía (Liao et al., 2017).

Algunos autores sugieren que APOE modula la neuroinflamación de distinta manera según la isoforma. Un estudio notificó que aquellos animales que habían expresado el alelo APOE $\epsilon$ 4 tenían un mayor nivel de las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- $\alpha$  si se comparaba con los que expresaban el alelo APOE $\epsilon$ 3, lo que insinúa que se produce una respuesta inflamatoria mayor en los pacientes que presentan APOE4 en comparación con los que portan APOE3. (Uddin et al., 2019).

Todo apunta a que los efectos de APOE sobre la microglía se deben, en parte, al receptor TREM2 (Serrano-Pozo et al., 2021).

Por tanto, todo esto sugiere que la activación anormal de la glía es un suceso tóxico que ocurre al comienzo de la EA (Guo et al., 2020).

#### *4.1.4. Mutación APOE Christchurch.*

Se ha reportado un caso de una mujer colombiana que era portadora de una mutación familiar PS1 E280A autosómica dominante y que presentaba una gran carga de A $\beta$  y a pesar de ello mantuvo una función cognitiva normal más tiempo de lo esperado (hasta los 70 años). Este hecho se correlacionó con la presencia de dos copias de una mutación protectora en el alelo APOE3 (Christchurch R136S).

Esta mutación bloquea la oligomerización de A $\beta$  y conduce a una patología tau limitada por lo que ofrece resistencia frente al desarrollo de la EA (Guo et al., 2020; Serrano-Pozo et al., 2021).

## **4.2. Papel de TREM2 en EA.**

TREM2 tiene diversas implicaciones en la patología de la EA (tabla 1).

#### *4.2.1. Mutaciones de TREM2.*

Como mencionamos anteriormente, existen diversas variantes de pérdida de función de TREM2 que suponen un aumento del riesgo de desarrollar LOAD de 2 a 4 veces (Painter et al., 2015).

La mutación más común asociada al incremento del riesgo de esta enfermedad es rs75932628, que consiste en una modificación sin sentido de arginina por histidina en la posición 47 (R47H).

No obstante, solo se ha demostrado que esta variante supone un riesgo en la población europea, mientras que la relación de esta mutación con un aumento del riesgo de LOAD no se ha visto en la población china ni afroamericana.

Según indican algunos estudios, parece ser que los pacientes que presentan la mutación R47H manifiestan los síntomas antes que los no portadores.

A pesar de ser la más conocida, esta no es la única variante de TREM2 que supone un factor de riesgo para LOAD, entre otras encontramos las siguientes: R62H, D87N, T96K, L211P y R136Q (Gratuze et al., 2018; Nizami et al., 2019).

Todo apunta a que estas mutaciones conducen a un ligero cambio conformacional, afectando principalmente a la fagocitosis, la maduración y la afinidad del ligando por el receptor TREM2. En efecto, ensayos de unión *in vitro* mostraron que las variantes R47H, R26H y D87N, que se asocian a LOAD, presentan menor afinidad por sus ligandos, entre los que se encuentra la APOE (Gratuze et al., 2018).

Además, se ha visto que también afectan *in vitro* a la fagocitosis regulada por TREM2, la cual puede ser importante en la EA al actuar como mecanismo que puede ayudar a la eliminación de proteínas perjudiciales, como puede ser la proteína A $\beta$ .

Concretamente se ha observado que la variante R47H se asocia a una moderada reducción en la fagocitosis (Ulrich et al., 2017).

En definitiva, se han realizado numerosos estudios *in vitro* para entender los efectos de estas variantes de TREM2 en la EA, que muestran como resultado una disminución de sus funciones. Actualmente es muy importante también llevar a cabo ensayos que

confirmeren estos resultados in vivo utilizando modelos animales y pacientes de EA (Gratuze et al., 2018; Ulriche et al., 2017).

También se sabe que estas variantes afectan además a otras enfermedades neurodegenerativas como la demencia frontotemporal (DFT), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o la enfermedad de Parkinson, entre otras (Wolfe et al., 2019).

#### 4.2.2. *TREM2 y patología A $\beta$ .*

Se ha comprobado que TREM2 juega un papel fundamental en la unión entre microglía y placas seniles. En modelos de ratón se demostró que A $\beta$  se une a TREM2 activando así su señalización, lo conduce a la degradación de A $\beta$  (Zhou et al., 2018; Gray et al., 2020).

Tanto la delección de TREM2 como las mutaciones de pérdida de función, como es el caso de la variante R47H, conducen a una reducción de la activación de la microglía, dando lugar a una disminución de la microglía asociada a placas (Qin et al., 2021; Shi and Holtzman, 2018).

Igualmente, la deficiencia o la haplo-insuficiencia para DAP12 condujo a una dificultad de la microglía para agruparse alrededor de las placas (Gratuze et al., 2018).

De este modo parece ser que la pérdida de función de TREM2 conduce a la patología A $\beta$ , pero para confirmarlo se han realizado numerosos estudios in vivo utilizando modelos de ratón con delecciones de TREM2. Entre ellos se usaron ratones APP-PS1 para estudiar las consecuencias de la insuficiencia de TREM2 en la acumulación de A $\beta$ . En un principio los resultados de estos estudios parecían contradictorios.

En este modelo se observó que la delección total de TREM2 conducía a una disminución del depósito de A $\beta$  en la corteza de ratones de 2 meses, mientras que provocaba un incremento de su acumulación en ratones de 8 meses.

Por lo que se puede concluir que el defecto de TREM2 produce un pequeño descenso de la acumulación de placa A $\beta$  al inicio de la patología, mientras que conduce a su incremento en las fases avanzadas. Por tanto, todo apunta a que el efecto de TREM2 depende del estadio de la enfermedad (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

Inicialmente no se sabía el motivo por el cual este efecto era dependiente de la etapa de la enfermedad, pero actualmente el descubrimiento de nueva información acerca de la función de la microglía condujo a una probable explicación.

Por un lado, la falta de TREM2 produce una disminución de la eficacia de la siembra de las placas A $\beta$  lo que reduce su acumulación en la etapa temprana de la enfermedad.

Mientras que el factor determinante en la etapa tardía de la enfermedad no es la eficacia de la siembra, en este punto la clave es la eliminación de la placa. En esta etapa de la EA lo que ocurre es que la deficiencia de TREM2 da lugar a un recorte de placas deficiente, formándose placas más grandes y menos compactas (Qin et al., 2021; Shi and Holtzman, 2018).

Es necesario seguir estudiando esta asociación entre A $\beta$  y TREM2, para ver su implicación en la EA, ya que los resultados pueden variar según el modelo utilizado.

#### *4.2.3. TREM2 y patología TAU.*

En otros estudios realizados también se ha apreciado una relación entre TREM2 y la patología tau. Se ha comprobado que TREM2 se correlaciona tanto con tau fosforilada como total en los pacientes con EA. Asimismo, se ha demostrado que los pacientes con variante R47H presentan niveles superiores de tau en el líquido cefalorraquídeo (LCR) respecto a los que no albergan dicha variante (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

Se han llevado a cabo varios estudios para valorar la fosforilación de tau utilizando modelos de ratón deficientes para TREM2.

Los resultados obtenidos en ensayos realizados en ratones PS19 apuntaron que la función normal o parcial de TREM2 aumenta la patología de tau. Sin embargo, mostraron que la pérdida total de función disminuye la neurodegeneración mediada por tau.

Esto sugiere que el efecto de TREM2 sobre la patología depende del estadio de la enfermedad, de manera que en las etapas tempranas de la enfermedad la deficiencia de TREM2 podría contribuir a la tautopatía, mientras que la pérdida completa de función en las etapas tardías podría suponer una protección frente a la neurodegeneración (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

Sin embargo, estos resultados no son del todo claro y todavía es necesario seguir investigando sobre este tema, ya que existe una relación compleja entre TREM2 y patología tau y son pocos los estudios que se han realizado para analizar esta relación en la EA. Además, dichos resultados difieren según el modelo de ratón utilizado.

### **4.3. APOE, TREM2 y EA.**

Tanto APOE $\epsilon$ 4 como TREM2-R47H han sido identificados como factores de riesgo genéticos de LOAD.

Aunque TREM2 tiene una participación directa en el desarrollo de la EA, también se ha observado una cooperación entre APOE y TREM2 en esta patología.

Como ya comentamos anteriormente, APOE ha sido reconocida como ligando de TREM2 y parece ser que las tres isoformas presentan el mismo grado de unión a dicho receptor, de manera que la interacción APOE-TREM2 no explicaría los diferentes efectos de las isoformas en el desarrollo de la patología. (Gratuze et al., 2018).

Se llevó a cabo un estudio en ratones PS19, en el que se reveló que la delección de TREM2 conduce a una disminución de la expresión de APOE en la corteza.

Igualmente, se observó un descenso en la neurodegeneración estimulada por tau en ratones PS19 con deficiencia de TREM2 o APOE.

Estos resultados proponen que existe un vínculo entre TREM2 y APOE en el desarrollo de la EA (Gratuze et al., 2018; Qin et al., 2021).

En un estudio posterior en modelos de ratón de enfermedades neurodegenerativas se identificó un fenotipo neurodegenerativo microglial (MGnD), caracterizado por modificaciones en la transcripción (descenso de la expresión de genes homeostáticos e incremento de la expresión de genes inflamatorios).

Más tarde, algunos autores analizaron la función de APOE en la inducción de MGnD y, como se trata de un ligando de TREM2, también analizaron si el cambio inducido por APOE de microglía homeostática a neurodegenerativa dependía de TREM2 (Gratuze et al., 2018).

Los resultados de estos estudios concluyeron que la vía TREM2-APOE induce un cambio de fenotipo homeostático a fenotipo neurodegenerativo de la microglía (Krasemann et al., 2017; Clayton et al., 2017).

Estos descubrimientos apuntan que es necesario un estudio más completo de la APOE en la microglía, dado su importancia en la patología de la EA.

Además, otros autores demostraron que APOE favorece la fagocitosis microglial de neuronas apoptóticas y A $\beta$  mediante la vía TREM2. Se observó in vitro que la disminución de la expresión de TREM2 en la microglía conduce a una disminución de la fagocitosis de estos sustratos, mientras que el aumento de su expresión aumenta la tasa de fagocitosis.

Cuando A $\beta$  se une con LDL o APOE es más fácil su captación por la microglía, mientras que si esta es deficiente en TREM2 se produce una disminución en la captación de estos complejos (Wolfe et al., 2019).

**Tabla 1.** Resumen de los principales hallazgos de TREM2 en la EA (Gratuzé et al., 2018).

	Principales hallazgos
Factores de riesgo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciertas variantes de TREM2 suponen un aumento del riesgo de desarrollar LOAD de 2 a 4 veces.</li> </ul>
Patología A $\beta$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La pérdida de función de TREM2 produce un descenso de la microgliosis alrededor de las placas.</li> <li>• La pérdida de función de TREM2 hace que las placas sean más grandes y menos compactas.</li> </ul>
Patología tau	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La función normal o parcial de TREM2 aumenta la patología de tau.</li> <li>• La pérdida total de función disminuye la neurodegeneración mediada por tau.</li> </ul>
APOE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• APOE actúa como ligando de TREM2.</li> <li>• APOE induce el cambio de microglía homeostática a neurodegenerativa dependiente de TREM2.</li> </ul>

#### 4.4. La microglía en la EA.

La microglía son células inmunes innatas que ejercen de principal barrera de defensa en el cerebro y mantienen la homeostasis, por lo que su función deteriorada mediante el defecto de TREM2 o las diferencias entre las isoformas de APOE tienen una gran implicación en la EA (Gonzalez et al., 2017; Wolfe et al., 2019).

Como mencionamos anteriormente, se ha descrito un fenotipo microglial asociado a enfermedades neurodegenerativas, conocido como MGnD o DAM (microglía asociada a la enfermedad). Esta microglía además de ejercer la función de fagocitosis, provoca un efecto proinflamatorio (Qin et al., 2021).

Se ha visto que la activación de la microglía, en respuesta a la patología A $\beta$ , actúa como arma de doble cara en la EA, mostrando funciones neuroprotectoras o neurotóxicas (Hickman et al., 2018). Por un lado, al inicio de la enfermedad, pero una vez formada la placa, la microglía se asocia alrededor de ella para iniciar la fagocitosis dependiente de TREM2, eliminando así péptidos A $\beta$  y células dañadas (Ulrich et al., 2018).

Además, en estas primeras etapas la microglía promueve el aclaramiento de A $\beta$  mediante la liberación de proteasas. Por tanto, podría desempeñar una función protectora en la EA temprana al estimular la fagocitosis, degradación y aclaramiento de A $\beta$  (Qin et al., 2021; Yeh et al. 2017).

Conforme avanza la enfermedad A $\beta$  sigue acumulándose y aumenta la microglía asociada a placa, sin embargo, la microglía no puede detener la progresión de la EA. Lo que ocurre es que A $\beta$  interacciona con receptores de la microglía (CD36, TLR4, TLR6) dando lugar a la producción de citocinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6), las cuales regulan negativamente receptores fagocíticos y enzimas que participan en su degradación, aumentando así la acumulación de A $\beta$ .

Además, dichas moléculas estimulan a  $\beta$  y  $\gamma$  secretasa favoreciendo la obtención de A $\beta$ . Por tanto, parece ser que la microglía está implicada en la fase inicial de siembra de placa, por lo que la microglía activada podría favorecer la formación de placa A $\beta$ .

Esto explica que la activación microglial crónica puede ejercer una función neurodegenerativa a través de la liberación de moléculas proinflamatorias, que también conducen al estrés oxidativo (Qin et al., 2021; Bisht et al., 2018).

Por otro lado, la microglía también juega un papel clave en la patología tau, de manera que reduce la propagación de tau en la EA temprana, mientras que aumenta su propagación en la EA tardía (Qin et al., 2021).

Por lo que, de forma general, la activación de la microglía ejerce funciones protectoras al inicio de la enfermedad y efectos patógenos en las etapas tardías.

#### **4.5. Estrategias para futuros tratamientos de la EA.**

Actualmente los medicamentos aprobados para la EA solo son eficaces para el control sintomático, sin embargo, ninguno ha demostrado ser útil para prevenir o detener la progresión de la enfermedad. Aunque, en este punto, es importante destacar que en el mes de junio de este año acaba de ser aprobado por la FDA el primer medicamento para el Alzheimer dirigido a A $\beta$ .

Se han realizado numerosos esfuerzos para hallar nuevas terapias, pero la mayoría no ha resultado exitosa en los ensayos clínicos. Estos fracasos pueden deberse a que aún no se conoce de forma completa la fisiopatología del Alzheimer y a su aplicación en etapas tardías de la enfermedad (Gratuze et al., 2018; Guo et al., 2020).

Como ya hemos visto APOE es una molécula central en la patología del Alzheimer por lo que se podría apuntar a APOE, principalmente APOE4, como diana terapéutica. La clave está en que para actuar sobre APOE presente en el SNC los fármacos que se utilicen tendrán que atravesar la barrera hematoencefálica de manera adecuada (Serrano-Pozo et al., 2021).

Las principales estrategias terapéuticas dirigidas a APOE son las siguientes (figura 6):

- ✓ Aumentando los niveles de APOE y su lipidación: Aún hay controversia sobre si sería mejor para la EA aumentar o reducir los niveles de APOE. Por un lado, se sugiere que el incremento de APOE en el cerebro sería favorable para la EA. Pero, parece ser que la clave está en el aumento de la lipidación de APOE a través de ABCA1. En un modelo de ratón amiloide se observó que la delección genética de ABCA1 conducía a una lipidación inadecuada de APOE y, por

tanto, a un incremento del depósito de A $\beta$ . Sin embargo, la sobreexpresión de ABCA1 condujo a una reducción de la carga de A $\beta$ , por tanto, el aumento de la función de ABCA1 podría ser de utilidad en la EA. Como la expresión de ABCA1 es inducida por el receptor X el retinoide, agonistas de este receptor, como es el caso de bexaroteno, han sido estudiados en ensayos clínicos para su uso en el Alzheimer.

- ✓ Silenciando APOE: Por otro lado, otros estudios respaldan que el descenso de la expresión de APOE también podría ser útil como terapia para la EA, ya que se ha visto en modelos de ratón de  $\beta$ -amiloidosis cerebral que la delección o haploinsuficiencia de APOE provoca un descenso en el depósito de A $\beta$ , ya que APOE parece estar implicado en la fase inicial de siembra de placa.

Hay varias estrategias que sirven para disminuir los niveles de APOE, siendo una de ellas la sobreexpresión de sus receptores, como por ejemplo LDLR; otra estrategia consistiría en utilizar oligonucleótidos antisentido (ASOs). El tratamiento con estos ASOs en ratones desde su nacimiento redujo el depósito de placa, sin embargo, administrados una vez empezada la patología no afectó a la carga final de placa.

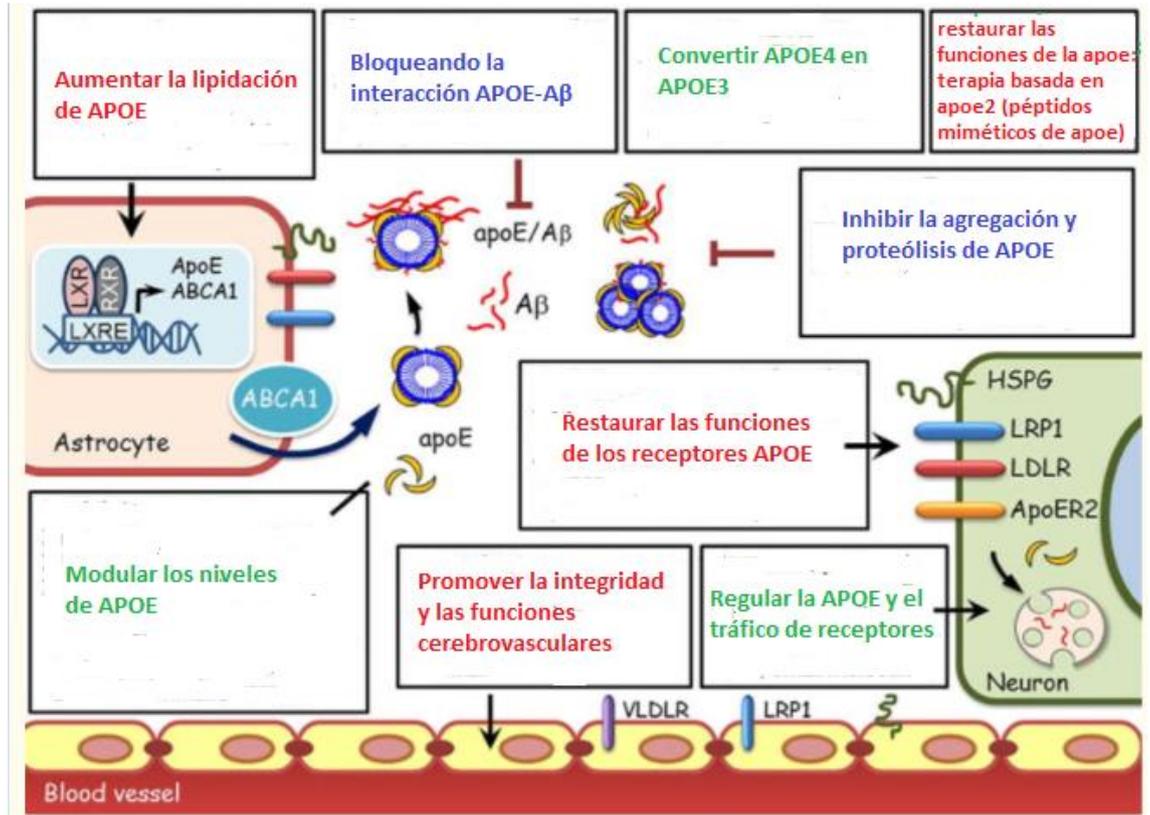
- ✓ Miméticos de APOE: Otro enfoque terapéutico podría ser utilizar miméticos de APOE, que consisten en fragmentos N-terminales de APOE que contienen la región de unión al receptor.
- ✓ Bloqueando la interacción entre APOE y A $\beta$ : Otra táctica es inhibir la interacción APOE-A $\beta$ , ya que parece ser que estabiliza las especies de A $\beta$  de las placas.

Se han llevado a cabo estudios con un péptido homólogo al sitio de unión de APOE a A $\beta$ , que impide la interacción APOE-A $\beta$ , en los que se observaron un descenso de los niveles de A $\beta$  en modelos de ratón con EA.

Estos estudios preclínicos apuntan que este bloqueo podría ser una diana terapéutica esperanzadora.

- ✓ Cambio de APOE4 a APOE3 o APOE2: La transformación de los alelos de APOE (APOE4 en APOE3 o APOE2) a través de la técnica de edición de genes CRISPR-Cas9 también podría ser práctica en la terapéutica. Sin embargo, aún se desconoce si esto sería útil in vivo.
- ✓ Inmunoterapia: También se ha comprobado que la inmunoterapia anti-APOE sería eficaz para reducir el almacenamiento de A $\beta$ . Por tanto, el uso de

anticuerpos anti-APOE podría ser de interés en la terapéutica y estudiado en ensayos clínicos futuros. (Zhao et al., 2018; Serrano-pozo et al., 2021; Uddin et al., 2019; Wisniewski and Drummond, 2020; Al Mamun et al., 2020).



**Figura 6.** Principales estrategias orientadas a APOE para tratar la EA: aumento de la lipídación de APOE, bloqueo de la interacción APOE-Aβ, convertir APOE4 en APOE3 o APOE2, modular los niveles de APOE, miméticos de APOE y restaurar las funciones de los receptores de APOE. (Zhao et al., 2018).

En resumen, dirigirse a APOE como diana terapéutica da lugar a resultados esperanzadores en el tratamiento de la EA. Sin embargo, se presentan numerosos retos que han impedido que estos medicamentos hayan resultado exitosos en los ensayos clínicos (Hunsberger et al., 2019).

## 5. CONCLUSIONES.

Finalmente, podemos concluir que APOE4 se presenta como el principal factor de riesgo genético para la EA esporádica de aparición tardía, por lo que es muy importante conocer su papel en la patogenia de la enfermedad. Aunque no se conoce de forma exacta cómo actúa APOE en la EA se han desarrollado varias hipótesis sobre su implicación en la patología A $\beta$ , la taupatía y la neuroinflamación, de manera dependiente de la isoforma. Con todos los estudios realizados hasta el momento todo apunta a que la función patológica asociada al APOE está en la microglía. Además, se ha identificado como factor de riesgo al receptor TREM2 que está presente en la microglía y tiene como ligando al APOE y se ha visto que la vía APOE-TREM2 está implicada en la transición del fenotipo de microglía homeostática a microglía neurodegenerativa.

Es necesario seguir realizando estudios para poder llegar a conocer completamente la fisiopatología del Alzheimer y poder llegar a desarrollar terapias que tengan como diana a APOE y que resulten verdaderamente útiles para prevenir y curar la EA. Aunque ninguna de las nuevas terapias estudiadas en ensayos clínicos haya resultado exitosa hasta el momento (ninguna ha superado la fase III), aumenta la esperanza de que se encuentre una terapia eficaz en la próxima década.

Cabe destacar la muy reciente aprobación por la FDA de un nuevo tratamiento contra el Alzheimer: Adulhem, cuyo principio activo es Aducanumab (un anticuerpo monoclonal dirigido a A $\beta$ ) aprobado el 07/06/2021. Aun así este tratamiento requiere otros ensayos clínicos (ensayos confirmatorios) para probar su beneficio y en el caso de que no lo lograra podría ser retirado por la FDA (Food and Drug Administration, junio 2021).

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Al Mamun A, Sahab Uddin M, Fahim Bin Bashar M, Zaman S, Begum Y, Bulbul IJ, et al. Molecular insight into the therapeutic promise of targeting ApoE4 for Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:1-16.
2. Arbor SC, LaFontaine M, Cumbay M. Amyloid-beta Alzheimer targets — protein processing, lipid rafts, and amyloid-beta pores. *Yale J Biol Med* 2016;89(1):5–21.
3. Bales KR, Paul SM. Targeting apolipoprotein E for treating Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2019;709:1-8.
4. Bennett DA, Yu L, Yang J, Srivastava GP, Aubin C, De Jager PL. Epigenomics of Alzheimer's disease. *Transl Res.* 2015;165(1):200-20.
5. Bisht K, Sharma K, Tremblay MÈ. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease: Roles of microglia-mediated synaptic remodeling, inflammation, and oxidative stress. *Neurobiol Stress.* 2018;9:9-21.
6. Chen Y, Strickland MR, Soranno A, Holtzman DM. Apolipoprotein E: Structural Insights and Links to Alzheimer Disease Pathogenesis. *Neuron* 2020;109(2):205–21.
7. Clayton KA, Van Enoo AA, Ikezu T. Alzheimer's Disease: The Role of Microglia in Brain Homeostasis and Proteopathy. *Front Neurosci.* 2017;11:680-703.
8. Fan J, Tao W, Li X, Li H, Zhang J, Wei D, et al. The contribution of genetic factors to cognitive impairment and dementia: Apolipoprotein E gene, gene interactions, and polygenic risk. *Int J Mol Sci* 2019;20(5):1–31.
9. Food and Drug Administration (FDA). Novel Drug Approvals for 2021 [en línea]. [Consultado en Junio 2021]. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and->

10. Forloni G. Alzheimer's disease: from basic science to precision medicine approach. *BMJ Neurol Open* 2020;2(2):1-9.
11. Giau VV, Bagyinszky E, An SSA, Kim SY. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015;11:1723–37.
12. Gonzalez B, Abud EM, Abud AM, Poon WW, Gylys KH, Angeles L, et al. Tau spread, apoE, inflammation, and more: Rapidly evolving basic science in AD. *Neurol Clin* 2017;35(2):175–90.
13. Gratuze M, Leyns CEG, Holtzman DM. New insights into the role of TREM2 in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 2018;13(1):1–16.
14. Gray SC, Kinghorn KJ, Woodling NS. Shifting equilibriums in Alzheimer's disease: the complex roles of microglia in neuroinflammation, neuronal survival and neurogenesis. *Neural Regen Res* 2020;15(7):1208-1219.
15. Guimas Almeida C, Sadat Mirfakhar F, Perdigão C, Burrinha T. Impact of late-onset Alzheimer's genetic risk factors on beta-amyloid endocytic production. *Cell Mol Life Sci* 2018;75(14):2577–89.
16. Guo T, Zhang D, Zeng Y, Huang TY, Xu H, Zhao Y. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 2020;15(1):1–37.
17. Hickman S, Izzy S, Sen P, Morsett L, El Khoury J. Microglia in neurodegeneration. *Nat Neurosci* . 2018;21(10):1359-1369.
18. Hunsberger HC, Pinky PD, Smith W, Suppiramaniam V, Reed MN. The role of APOE4 in Alzheimer's disease: strategies for future therapeutic interventions. *Neuronal Signal* 2019;3(2):1–15.
19. Iacono D, Feltis GC. Impact of Apolipoprotein E gene polymorphism during

- normal and pathological conditions of the brain across the lifespan. *Aging* 2019;11(2):787–816.
20. Kim JH. Genetics of Alzheimer's Disease. *Dement Neurocognitive Disord* 2018;17(4):131-136.
  21. Konishi H, Kiyama H. Microglial TREM2/DAP12 Signaling: A Double-Edged Sword in Neural Diseases. *Front Cell Neurosci* 2018;12:206.
  22. Kotze M, Luckhoff HK, Brand T, Pretorius J, van Rensburg SJ. Apolipoprotein E-4 as a genetic determinant of Alzheimer's disease heterogeneity. *Degener Neurol Neuromuscul Dis* 2015;5:9-18.
  23. Krasemann S, Madore C, Cialic R, Baufeld C, Calcagno N, El Fatimy R, et al. The TREM2-APOE pathway drives the transcriptional phenotype of dysfunctional microglia in neurodegenerative diseases. *Immunity* 2017;47(3):566–81.
  24. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2018;25(1):59–70.
  25. Liao F, Yoon H, Kim J. Apolipoprotein E metabolism and functions in brain and its role in Alzheimer's disease. *Curr Opin Lipidol* 2017;28(1):60–7.
  26. Mahoney-Sanchez L, Belaidi AA, Bush AI, Ayton S. The Complex Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease: an Overview and Update. *J Mol Neurosci* 2016;60(3):325–35.
  27. Najm R, Jones EA, Huang Y. Apolipoprotein E4, inhibitory network dysfunction, and Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 2019;14(1):1–13.
  28. Nizami S, Hall-Roberts H, Warriar S, Cowley SA, Di Daniel E. Microglial inflammation and phagocytosis in Alzheimer's disease: Potential therapeutic targets. *Br J Pharmacol* 2019;176(18):3515–32.

29. Painter MM, Atagi Y, Liu CC, et al. TREM2 in CNS homeostasis and neurodegenerative disease. *Mol Neurodegener* 2015;10:43.
30. Perea JR, Bolós M, Avila J. Microglia in Alzheimer's disease in the context of tau pathology. *Biomolecules* 2020;10(10):1–26.
31. Qin Q, Teng Z, Liu C, Li Q, Yin Y, Tang Y. TREM2, microglia, and Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 2021;195:1-14.
32. Rodriguez-Vieitez E., Nielsen HM. Associations Between APOE Variants, Tau and  $\alpha$ -Synuclein. En: Takashima A, Wolozin B, Buee L, editores. *Tau Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Singapur: Springer; 2019. p. 177-86.
33. Sanz Muñoz S, Garner B, Ooi L. Understanding the Role of ApoE Fragments in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res* 2019;44(6):1297–305.
34. Serrano-pozo A, Das S, Hyman BT. APOE and Alzheimer ' s disease : advances in genetics , pathophysiology , and therapeutic approaches. *Lancet Neurol* 2021;20(1):68–80.
35. Shah C, DeMichele-Sweet MAA, Sweet RA. Genetics of psychosis of Alzheimer disease. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet* 2017;174(1):27–35.
36. Shen L, Jia J. An Overview of Genome-Wide Association Studies in Alzheimer's Disease. *Neurosci Bull* 2016;32:183–90.
37. Shi Y, Holtzman DM. Interplay between innate immunity and Alzheimer disease: APOE and TREM2 in the spotlight. *Nat Rev Immunol* 2018;18(12):759–72.
38. Tai LM, Ghura S, Koster KP, Liakaite V, Maienschein-Cline M, Kanabar P, et al. APOE-modulated A $\beta$ -induced neuroinflammation in Alzheimer's disease:

- Current landscape, novel data, and future perspective. *J Neurochem* 2015;133(4):465–88.
39. Tudorache IF, Trusca VG, Gafencu AV. Apolipoprotein E - A Multifunctional Protein with Implications in Various Pathologies as a Result of Its Structural Features. *Comput Struct Biotechnol J* 2017;15:359–65.
  40. Uddin MS, Kabir MT, Al Mamun A, Abdel-Daim MM, Barreto GE, Ashraf GM. APOE and Alzheimer's Disease: Evidence Mounts that Targeting APOE4 may Combat Alzheimer's Pathogenesis. *Mol Neurobiol* 2019;56(4):2450–65.
  41. Ulrich JD, Ulland TK, Colonna M, Holtzman DM. Elucidating the Role of TREM2 in Alzheimer's Disease. *Neuron* 2017;94(2):237–48.
  42. Ulrich JD, Ulland TK, Mahan TE, Nyström S, Peter Nilsson K, Song WM, et al. ApoE facilitates the microglial response to amyloid plaque pathology. *J Exp Med* 2018;215(4):1047–58.
  43. Wisniewski T, Drummond E. APOE-amyloid interaction: Therapeutic targets. *Neurobiol Dis* 2020;138:1-8.
  44. Wolfe CM, Fitz NF, Nam KN, Lefterov I, Koldamova R. The role of APOE and TREM2 in Alzheimer's disease—Current understanding and perspectives. *Int J Mol Sci* 2019;20(1):65–70.
  45. Yamazaki Y, Zhao N, Caulfield TR, Liu CC, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. *Nat Rev Neurol* 2019;15(9):501–18.
  46. Yeh FL, Hansen DV, Sheng M. TREM2, Microglia, and Neurodegenerative Diseases. *Trends Mol Med*. 2017;23(6):512-33.
  47. Zhang ZG, Li Y, Ng CT, Song YQ. Inflammation in Alzheimer's Disease and Molecular Genetics: Recent Update. *Arch Immunol Ther Exp* 2015;63(5):333–

44.

48. Zhao N, Liu CC, Qiao W, Bu G. Apolipoprotein E, Receptors and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry* 2018;83(4):347–57.

49. Zhou Y, Ulland TK, Colonna M. TREM2-Dependent Effects on Microglia in Alzheimer's Disease 2018;10:1–7.