



MODULACIÓN DE LOS MECANISMOS DE PROTEÓLISIS COMO DIANA TERAPÉUTICA EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER



ANGELA YAMUZA BLANCO

FACULTAD DE FARMACIA



TRABAJO DE FIN DE GRADO

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
GRADO EN FARMACIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

MODULACIÓN DE LOS MECANISMOS DE PROTEÓLISIS COMO DIANA TERAPÉUTICA EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

TRABAJO DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ANGELA YAMUZA BLANCO

**TUTORES: VICENTE ROCA AGUJETAS Y
JORGE MORENO FERNÁNDEZ**

Lugar y fecha de presentación: Sevilla, julio de 2023

RESUMEN

El Alzheimer es la principal enfermedad neurodegenerativa. Sus principales rasgos neuropatológicos son la acumulación extracelular de péptido A β formando placas seniles y los ovillos neurofibrilares intracelulares por acumulación de proteína tau hiperfosforilada. En condiciones fisiológicas, los mecanismos de proteólisis ayudan a mantener una correcta homeostasis cerebral. Como principales vías de degradación proteica, se encuentra la proteólisis enzimática, el sistema ubiquitina-proteasoma, la autofagia y la degradación mediada por células. Diversas evidencias apuntan a que en los cerebros de enfermos de Alzheimer estos mecanismos se ven comprometidos y se irán acumulando proteínas y agregados que acaban resultando citotóxicos. Este hecho ha alentado a la comunidad científica a desarrollar estrategias que restablezcan y aumenten los mecanismos de proteólisis como posible diana terapéutica. Actualmente son numerosas las estrategias terapéuticas que se encuentran en ensayo clínico encaminadas a desarrollar esta línea de investigación.

Este trabajo plantea el estudio de la modulación de los mecanismos proteolíticos como diana terapéutica para promover la limpieza cerebral y así una reversión de la enfermedad. Se utiliza una metodología de revisión bibliográfica mediante búsquedas en bases de datos científicas y en registros de ensayos clínicos. Se ha llevado a cabo un análisis global del estado de estas estrategias divididas según el mecanismo de proteólisis que promueven. Entre los moduladores de degradación enzimática, se encuentra una terapia génica para inducción de nepriliasina, en el sistema ubiquitina-proteasoma destaca el PROTAC, dentro de los moduladores de la autofagia tanto proteínas fisiológicas como fármacos reposicionados, y en los moduladores de células gliales resalta la inmunoterapia, donde los fármacos más estudiados son anticuerpos monoclonales. Como conclusión general, estas nuevas líneas de investigación, junto con los logros en el campo de la tecnología farmacéutica, se sitúan como potenciales estrategias terapéuticas para tratar no solo la sintomatología, sino también las bases neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer (EA), demencia, proteína Tau, péptido A β , proteólisis.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is the world's leading neurodegenerative disease. Its main neuropathological features are the extracellular accumulation of peptide A β forming senile plaques and the intracellular neurofibrillary tangles formed by the accumulation of hyperphosphorylated tau protein. Under physiological conditions, the mechanisms of proteolysis help to maintain a correct brain homeostasis. The main protein degradation pathways include enzymatic proteolysis, the ubiquitin-proteasome system, autophagy and cell-mediated degradation. However, various evidences suggest that in the brains of Alzheimer's patients, these mechanisms are compromised and proteins and aggregates will accumulate and become cytotoxic. This fact has encouraged the scientific community to develop strategies to restore and increase the mechanisms of proteolysis as a possible therapeutic target. Numerous therapeutic strategies are currently in clinical trials aimed at developing this line of research.

This work proposes the study of the modulation of proteolytic mechanisms as a therapeutic target to promote brain cleansing and thus a reversal of the disease. A literature review methodology is used involving searches in the main scientific databases, as well as clinical trials. A global analysis of current status of these strategies has been carried out, divided according to the type of proteolysis mechanism they promote. Among the modulators of enzymatic degradation, gene therapy for neprilysin induction is found, in the ubiquitin-proteasome system PROTAC (proteolysis targeting chimera) stands out, within the modulators of autophagy both physiological proteins and repositioned drugs. Moreover, among glial cells modulators, the immunotherapy technique stands out, where the most studied drugs are monoclonal antibodies. As a general conclusion, these new lines of research, together with the achievements made in the field of pharmaceutical technology, are potential therapeutic strategies to treat not only the symptomatology but also the neuropathological bases of Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease (AD), dementia, Tau protein, peptide A β , proteolysis.

ABREVIATURAS

EA:	Enfermedad de Alzheimer
A β :	Beta Amiloide
APP:	Proteína precursora amiloidea
ONF:	Ovillos neurofibrilares
DCL:	Deterioro cognitivo leve
LCR:	Líquido cefalorraquídeo
PET:	Tomografía por emisión de positrones
EOFAD:	del inglés, <i>Early-onset familiar AD</i>
LOSAD:	del inglés, <i>Late-onset sporadic AD</i>
SUP:	Sistema ubiquitina-proteasoma
A β DP's:	del inglés, A β degrading proteases
NEP:	Neprilisina
IDE:	Enzima degradadora de insulina
ROS:	Especies reactivas de oxígeno
SNC:	Sistema nervioso central
BHE:	Barrera hematoencefálica
NMDA:	N-metil-D-aspartato
FDA:	del inglés, <i>Food and Drug Administration</i>
EMA:	Agencia Europea de Medicamentos
OMS:	Organización Mundial de la Salud
CADRO:	del inglés, <i>Alzheimer's disease research ontology</i>
PROTAC:	del inglés, <i>Proteolysis targeting chimera</i>
ARIA:	del inglés, <i>Amyloid related images abnormalities</i>
ADCOMS:	del inglés, <i>Alzheimer's disease composite score</i>
MTD:	del inglés, <i>Multi-target drug</i>
iPSC:	Células madre pluripotentes inducidas
ESC:	Células madre embrionarias

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 ETIOLOGÍA Y PRINCIPALES BIOMARCADORES	1
1.1.1 BETA-AMILOIDE.	2
1.1.2 TAU	3
1.2 ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD	4
1.2.1 Fase pre-clínica	4
1.2.2 Deterioro cognitivo leve	5
1.2.3 Demencia	5
1.3 TIPOS DE EA	5
1.3.1 Alzheimer familiar	5
1.3.2 Alzheimer esporádico	6
1.4 MECANISMOS DE DEGRADACIÓN PROTEICA	6
1.4.1 Proteasoma y proteasas	6
1.4.2 Autofagia	7
1.4.3 Degradación mediada por células gliales	8
1.5 ABORDAJE TERAPÉUTICO ACTUAL	10
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGÍA	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1 POTENCIALES ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS	12
4.1.1 Moduladores del proteasoma y la degradación enzimática	14
4.1.2 Moduladores de la autofagia	15
4.1.3 Moduladores de las células gliales e inmunoterapia	17
4.1.3.1 Tratamientos dirigidos a la microglía	17
4.1.3.2 Inmunoterapia anti-A β	17
4.1.3.3 Inmunoterapia anti-tau	24
4.2 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EMERGENTES	25
4.2.1 Fármacos multi-objetivo (MTDs)	25
4.2.2 Tratamiento con células madre pluripotentes	25
4.2.3 Nanomedicina	26
5. CONCLUSIONES	27
6. BIBLIOGRAFIA	28

1. INTRODUCCIÓN

El Alzheimer es una de las enfermedades neurodegenerativas con mayor impacto a nivel mundial. La estimación de personas que presentan esta patología se elevará por encima de los 50 millones y se estima que en el año 2050 esta cifra se eleve a 152 millones (Alzheimer's Disease International, 2019). Además, el Alzheimer tiene una mayor prevalencia en mujeres que en hombres, pudiéndose explicar este hecho por la mayor esperanza de vida de ellas (Nichols et al., 2022).

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es el principal tipo de demencia, de hecho, constituye el 60-80% de los casos (Freudenberg-Hua et al., 2018). Es importante incidir en la distinción entre los términos demencia y EA para poder abordar de manera correcta este tipo de desórdenes neurodegenerativos. La Asociación de Alzheimer postula que la demencia es una condición amplia vinculada a un deterioro de la habilidad mental con suficiente importancia como para interferir en las actividades relacionadas con la vida cotidiana, mientras que el Alzheimer es una enfermedad con unos rasgos neuropatológicos específicos que desemboca en demencia (Alzheimer's Association, 2023).. Los signos característicos de la demencia (pérdida de habilidades y destrezas en la capacidad de relacionarse con el entorno, memorizar, hablar, pensar, realizar las tareas, etc.) también pueden ser ocasionados por otro tipo de enfermedades (Freudenberg-Hua et al., 2018).

Son muchas las personas que asocian directamente este tipo de patologías a la edad, pero no se puede confundir el envejecimiento normal con el envejecimiento patológico que podríamos encontrar en la EA. Este último está constituido por un conjunto de procesos anómalos que conducen a la demencia, incluidos daños y pérdidas neuronales que provocan una incapacidad para llevar a cabo su correcto funcionamiento, provocando alteraciones cognitivas y comportamentales graves (Isaev et al., 2019). La primera paciente diagnosticada y estudiada por Alois Alzheimer con este tipo de demencia a principios del siglo XX, Auguste Deter, expresaba que en situaciones no comprendía lo que pasaba a su alrededor y que percibía todo como extraño. Como ella misma expresaría, “¿qué puede ser peor que perderse a uno mismo?” (Haass & Selkoe, 2022; Stelzmann et al., 1995).

1.1 ETIOLOGÍA Y PRINCIPALES BIOMARCADORES

El principal factor de riesgo de la EA es el envejecimiento, provocando una reducción de los años de vida útiles, e incluso la muerte (Liu, 2022). Los dos principales componentes neuropatológicos de esta enfermedad son las placas seniles del péptido β -amiloide y los ovillos neurofibrilares de

la proteína tau hiperfosforilada (Fig.1). Ambos, junto a la propia pérdida neuronal (atrofia cerebral) son los biomarcadores más utilizados para diagnosticar la EA (Jack et al., 2016).

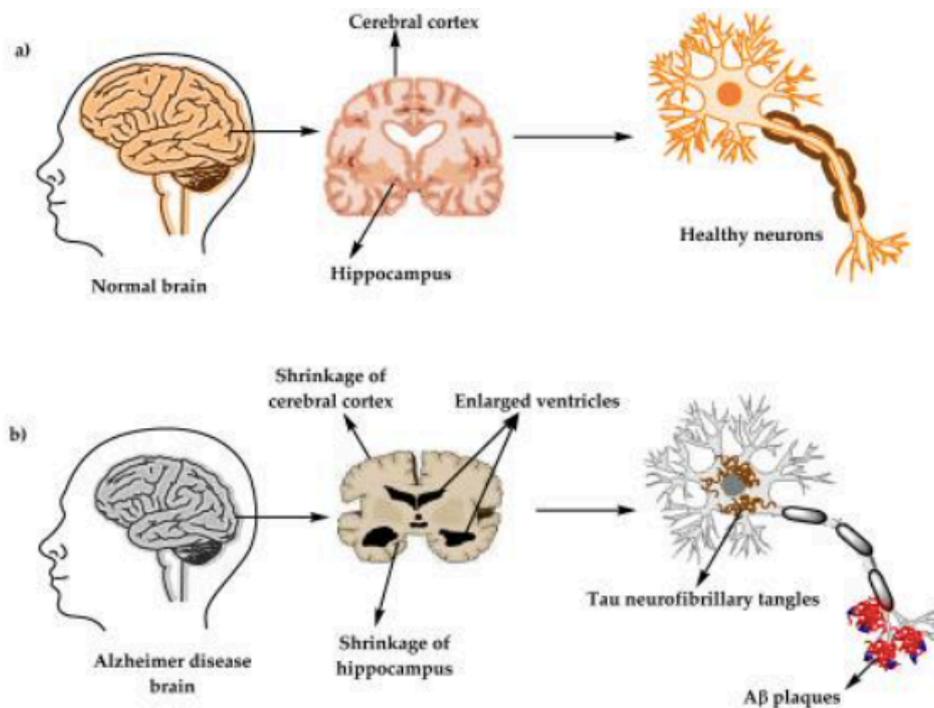


Figura 1. Comparación fisiológica entre un cerebro con enfermedad de Alzheimer y un cerebro sano. Comparación de un cerebro de una persona sana (a) con los principales cambios anatómicos y características neuropatológicas encontradas en los cerebros de pacientes de Alzheimer (b). Tomada de *Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and treatment* (Breijyeh and Karaman, 2020).

1.1.1 BETA-AMILOIDE.

El A β es un péptido de entre 38 y 43 residuos que se agrega formando oligómeros y fibrillas y en última instancia las placas seniles extracelulares. El péptido A β se sintetiza por un mecanismo denominado procesamiento amiloidogénico (Fig.2) (Tiwari et al., 2019).

La proteína precursora amiloidea (APP) es un polipéptido que puede sufrir dos procesamientos en función del tipo de enzimas que participen. Por un lado, cuando APP es cortada por una α -secretasa se produce la formación de sAPP- α y C83. Este a su vez es procesado por una γ -secretasa, dando lugar al dominio AICD y al péptido p3, que tiene efectos neuroprotectores (Hur, 2022). En cambio, en el procesamiento amiloidogénico de la proteína APP está involucrada la β -secretasa, dando lugar a sAPP- β (el cual es soluble y dañino) y C99. El sucesivo corte proteolítico de C99 sigue siendo procesado por la misma γ -secretasa, pero en este caso dando como resultado el péptido A β junto al dominio AIDC (Selkoe, 2001).

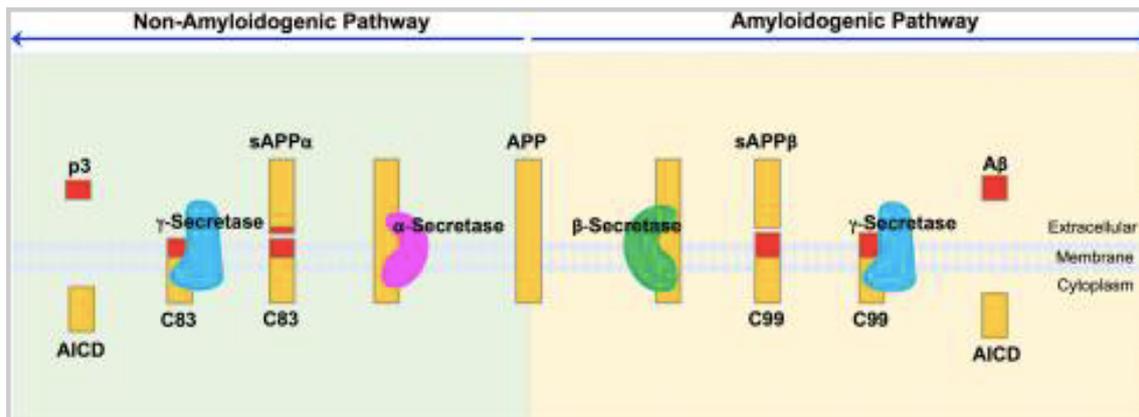


Figura 2. Procesamiento Amiloidogénico. Tomada de *γ-Secretase in Alzheimer's disease* (Hur, 2022)

Este péptido A β puede ser de diferentes tipos y viene determinado por la posición de clivaje de la γ -secretasa. Dentro de todos los tipos destacan el A β 40 por ser el más abundante y el A β 42 por ser el potencialmente más tóxico (Hur, 2022).

En condiciones normales, los niveles de A β están muy regulados mediante su eliminación a través de diversos mecanismos, incluyendo, como veremos más tarde, la degradación enzimática, la limpieza mediada por células, la autofagia o su aclaramiento por transporte a través de la barrera hematoencefálica. Sin embargo, cuando la síntesis excede a la degradación, bien por un incremento de la primera o fallos en la segunda, la acumulación excesiva de A β provoca la agregación de estos y la formación de placas insolubles (Gouras et al., 2015).

1.1.2 TAU

Por otro lado, la proteína tau, presenta en su forma fisiológica un papel regulador, estabilizando los microtúbulos y aumentando de esta manera el flujo axonal. Es muy poco probable que esta proteína con su forma original sufra agregación (Gao et al., 2018), pero durante el proceso denominado tauopatía, sufre una hiperfosforilación mediada por varias quinasas, entre ellas GSK-3 β , agregándose y convirtiéndose en una proteína tóxica. Según la hipótesis clásica de la cascada amiloide, este proceso se llevaría a cabo debido a la acumulación del péptido A β (Kremer et al., 2011). A causa de este proceso, la proteína tau hiperfosforilada se acumula formando agregados insolubles, los característicos ovillos neurofibrilares (ONF) intraneuronales, además de perder su papel regulador, lo que causa la desestabilización de los microtúbulos (Jeganathan et al., 2006).

Como se ha mencionado anteriormente, son numerosos los estudios que sostienen que la formación de placas beta-amiloides sería el origen de la enfermedad, al ser el primer rasgo

patológico que se da. Esta hipótesis postula que tras la formación de A β se desencadena una cascada de sucesos patológicos, entre ellos los ONF, los cuales conducen y culminan con la muerte de las neuronas (Gulisano et al., 2018). No obstante, hasta que no se forman los ONF no comienza la neurodegeneración, la disfunción de las neuronas y, por tanto, los síntomas de la enfermedad (Tracy et al., 2022).

El nexo que conecta la patología amiloide con la tauopatía es aún un misterio. Algunos estudios apuntan al estrés oxidativo, ya que un exceso de especies reactivas de oxígeno puede activar a la p38 MAPK, enzima que induce a la fosforilación de tau (Giraldo et al., 2014). Otros autores apuntan a la neuroinflamación y cambios fenotípicos microgliales como posible punto de conexión entre la patología amiloide y la patología tau (Sims et al., 2020).

1.2 ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD

La enfermedad de Alzheimer se desarrolla como un continuo. Grosso modo, la evolución de la enfermedad va a ir pasando por distintos estadios: los pacientes pasan de tener una función cognitiva normal a presentar un deterioro cognitivo leve (DCL), seguido de un agravamiento progresivo hasta la fase final de la demencia (Davis et al., 2018). Mientras que va avanzando por ellos, se va agravando y la pérdida de las capacidades va a ser más severa.

1.2.1 Fase pre-clínica

En un primer lugar, nos vamos a encontrar con una fase preclínica asintomática. Tal y como se ha expuesto anteriormente, cuando las placas seniles de péptido A β empiezan a formarse y a depositarse en el cerebro en un primer momento no existe sintomatología alguna (Parnetti et al., 2019). El hecho de que no exista sintomatología durante unos 15-20 años previos a la acumulación de A β hace que el diagnóstico de la EA sea tardío. Es posible diagnosticar al paciente en esta fase usando biomarcadores detectables en líquido cefalorraquídeo (LCR) o a través de escáner PET (tomografía por emisión de positrones) (Pascoal et al., 2023).

La *American Academy of Neurology* (2016) propone el sistema “A/T/N”, en el que la “A” hace referencia a la amiloidogénesis (A β 40 y A β 42), la “T” hace referencia a la tauopatía (proteína tau hiperfosforilada), y la “N” hace referencia a la neurodegeneración. Los dos primeros parámetros de este sistema son específicos de la EA, pero la neurodegeneración también puede ser dada por otro tipo de enfermedades mentales (Jack et al., 2016).

1.2.2 Deterioro cognitivo leve

El segundo estadio de la enfermedad va a ser el DCL (deterioro cognitivo leve). Esta fase puede tener lugar incluso décadas después del inicio de la enfermedad. Aquí ya tienen lugar afecciones a las capacidades cognitivas, aunque no tan graves como en la fase de demencia. Las más características son la pérdida de orientación, la pérdida de memoria, la dificultad de atención y un detrimento en la capacidad de comprensión (Aisen et al., 2017).

1.2.3 Demencia

Finalmente, la progresión de la enfermedad en el paciente va a desembocar en la fase de demencia. En esta fase no solo se ven afectadas las capacidades cognitivas del paciente de manera más relevante, sino que también se ven afectadas las capacidades funcionales, es decir, aquí el paciente ya no sería capaz de realizar las actividades de la vida cotidiana sin supervisión o ayuda (Aisen et al., 2017).

Como se mencionó al inicio de la introducción de este trabajo, la EA es un tipo de demencia, pero no es la única causa de este desorden neurológico. Patologías como el Parkinson, la esclerosis múltiple, la presencia de cuerpos de Lewy y afecciones vasculares, entre otras, también son posibles causantes de demencia, aunque en menor proporción (World Health Organization, 2023).

1.3 TIPOS DE EA

Dentro de la enfermedad de Alzheimer podemos encontrarnos con dos tipos principales, el familiar y el esporádico.

1.3.1 Alzheimer familiar

Por un lado, existe el denominado Alzheimer familiar o de aparición temprana, al que se le asignan las siglas EOFAD (del inglés, *Early-onset familial AD*). Esta vertiente de la enfermedad presenta un curso más agresivo y se relaciona con un incremento en la síntesis de péptido A β (proceso amiloidogénico) (Atwood & Bowen, 2015). Como indica su nombre, se desencadena la patología en el paciente a una edad temprana, anterior a los 65 años, y viene predeterminada por la genética heredada (Wu et al., 2012). Puede ser causada por diversas mutaciones y según los genes que se ven afectados podemos subclasificar la EA familiar en:

-Mutaciones en APP, lo cual estimularía la producción de A β . El APP se localiza en el cromosoma 21, por lo que los Síndromes de Down (patología causada por una trisomía en este mismo cromosoma) presentan una mayor probabilidad de sufrir Alzheimer.

-Mutaciones en PSEN1 y PSEN2 (componentes del complejo proteico γ -secretasa) lo cual estimula la producción del A β tipo 42 (el más tóxico). Esta mutación se encuentra en el cromosoma 14 (Qin et al., 2020).

1.3.2 Alzheimer esporádico

Por otro lado, encontramos el Alzheimer esporádico o de aparición tardía, LOSAD (del inglés, *Late-onset sporadic AD*), que es el tipo de EA mayoritario (más del 90% de los casos). El principal factor de riesgo genético en el Alzheimer de aparición tardía es la existencia de la isoforma ϵ 4 del gen APOE situado en el cromosoma 19, gen relacionado con el transporte de colesterol. El gen APOE está presente en todos los individuos en diversas isoformas, siendo la ϵ 4 el factor de riesgo más significativo en esta vertiente de la EA. En cambio, la existencia de la isoforma ϵ 2 proporcionaría un factor de protección ante esta enfermedad (Holtzman et al., 2012).

Mientras que el Alzheimer familiar está relacionado principalmente por mutaciones en genes de la maquinaria de síntesis del A β , como se ha visto, hay muchas evidencias que apuntan a fallos en los mecanismos de limpieza y eliminación de sustancias tóxicas en el cerebro como principal etiopatogenia de estos casos de Alzheimer esporádico (Mawuenyega et al., 2010). Es por ello, que este será el objetivo principal en el que nos centraremos en el presente Trabajo de Fin de Grado.

1.4 MECANISMOS DE DEGRADACIÓN PROTEICA

1.4.1 Proteasoma y proteasas

En las células eucariotas el principal encargado de llevar a cabo la proteólisis es el proteasoma 26S, el cual se encuentra formando parte del sistema ubiquitina-proteasoma (SUP). Este es uno de los grandes responsables de controlar la homeostasis celular, y además se le asignan otras funciones como regular la división celular, la respuesta al estrés y la transducción de señales (Bard et al., 2018).

Las proteínas mal plegadas son marcadas por ubiquitina mediante enlace covalente gracias a la ayuda de diversos tipos de enzimas (activadoras, conjugadoras y ligasas), posteriormente estas proteínas marcadas van a ser reconocidas y eliminadas por el proteasoma 26S (Upadhyya and Hegde, 2007). Se han descrito deficiencias en el SUP en la enfermedad de Alzheimer, dando lugar a una acumulación de agregados proteicos de A β y tau. Evitar esta alteración del proteasoma permitiría un retraso en la progresión y sintomatología de la enfermedad (Chocron et al., 2022).

Por otro lado, también nos encontramos con las proteasas, un conjunto de enzimas degradadoras capaces de deshacerse del péptido A β comúnmente conocidas como A β DP's (del inglés, *A β degrading proteases*). Cada vez son más las proteasas identificadas y con posible indicación terapéutica (Leissring, 2016). Dentro de este conjunto de enzimas las más destacadas son NEP (neprilisina) e IDE (enzima degradadora de insulina). Con el envejecimiento, los niveles de este tipo de proteasas descienden. Además, hay evidencias de que, en estadios avanzados de la EA, el estrés oxidativo causado por la acumulación de A β inactivan NEP e IDE, dificultando la degradación de A β (de Dios et al., 2019). A su vez, la enzima degradadora de insulina, presenta una mayor afinidad con la insulina (alrededor de 20 veces), por lo que altos niveles de esta dificultarán la unión de IDE al péptido A β (Murphy and Levine, 2010). Igualmente, se ha demostrado que personas con fenotipo del gen APOE2 presentan niveles más altos de NEP y IDE; a diferencia de los portadores de la isoforma APOE4 que se relacionan niveles bastante más reducidos de hasta un 50% menos (Cook et al., 2003).

Además, el aumento de ROS (especies reactivas de oxígeno) experimentado en la EA, producidas principalmente por la mitocondria, genera un desequilibrio entre su producción/eliminación. En cantidades normales, las ROS desempeñan funciones celulares fisiológicas, pero cuando se encuentran en exceso son perjudiciales produciendo lesiones de todo tipo (Ionescu-Tucker and Cotman, 2021). Estos radicales podrían modificar la actividad de proteínas con acciones vinculadas a la autofagia comprometiendo su actividad (Pizzino et al., 2017). Así pues, el uso de antioxidantes o moduladores del estrés oxidativo podría ser una potencial estrategia terapéutica en la EA.

1.4.2 Autofagia

La autofagia es un mecanismo de degradación que contribuye a mantener la homeostasis celular. Gracias a este mecanismo se eliminan y reciclan productos celulares. Existen diversos tipos de autofagia como son la microautofagia, la autofagia mediada por chaperonas y la macroautofagia, centrándonos fundamentalmente en esta última (Nixon, 2013).

Este proceso está altamente regulado debido a su importancia (Z. Zhang et al., 2021) y consta de varias etapas: iniciación, nucleación, elongación, terminación y fusión. Con la sucesión de estas etapas primero se forma una vesícula de doble membrana, el autofagosoma, que rodea los componentes celulares a degradar (carga), fusionándose con vesículas lisosomales y formando así el autofagolisosoma, en el cual se lleva a cabo la degradación (Wong et al., 2011).

En la enfermedad de Alzheimer, al igual que ocurre en otro tipo de enfermedades neurodegenerativas, se ha observado la implicación de este mecanismo de degradación y se han descrito fallos en sus diferentes etapas. Por ejemplo, un defecto en el paso final de fusión daría lugar a la formación de autofagosomas, pero a una disminución en la unión de estos con los lisosomas, por lo que no se eliminaría el cargo y se irían acumulando intermediarios (Nixon and Yang, 2011). La modulación terapéutica de la autofagia en la EA se podría, por tanto, dirigir a los últimos pasos de la vía autofágica (Boland et al., 2008), siendo este uno de los objetivos que estudiaremos en este proyecto.

En esta misma línea, también se han descrito defectos en los lisosomas, que no podrían ejercer de manera correcta su función debido a varios factores. Una de las causas que provoca su disfunción es la alteración de la acidez. El gen PSEN1, el cual se encuentra mutado en la EA tipo 3, es uno de los responsables de la acidificación lisosomal, si esta no es la idónea, la etapa de fusión donde estos lisosomas han de unirse se ve comprometida (Lee et al., 2010). Otra de las causas podría ser el exceso de colesterol, secuestrando a las proteínas SNARE, implicadas en la fusión de membranas, haciendo que no se reciclen de forma adecuada lo que compromete su capacidad de unirse a los autofagosomas (de Dios et al., 2019; Fraldi et al., 2010). El control del funcionamiento de la proteólisis lisosomal a través de fármacos es una posible estrategia terapéutica de la EA que analizaremos con detalle en este trabajo.

1.4.3 Degradación mediada por células gliales

Las células gliales, y en concreto la microglía son un conjunto de células inmunes que constituyen los macrófagos residentes en el sistema nervioso central (SNC) con origen en la médula ósea. Estas migran desde su lugar de origen hacia el SNC a través de la sangre hasta que se establece la BHE (barrera hematoencefálica). Su papel es el de preservar la homeostasis en el sistema nervioso ejerciendo una respuesta inmune similar a la de los macrófagos (Salter and Stevens, 2017). Presentan una morfología cambiante ante las diversas situaciones y el entorno en el que se encuentren (Fig. 3). Son capaces de detectar un daño a nivel celular de manera precoz y moverse hasta el foco de la afección llevando a cabo en estos mecanismos de reparación y fagocitosis, limpiando de esta manera el cerebro y la degeneración sináptica (Salter and Stevens, 2017).

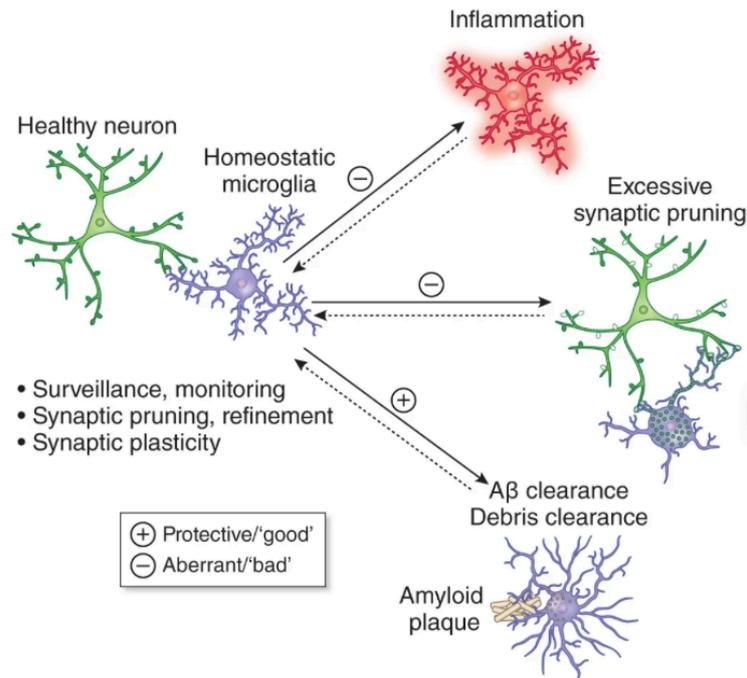


Figura 3. Distintas funciones que desempeña la microglía. Tomada de *Microglia emerge as central players in health disease* (Salter and Stevens, 2017)

Una vez han llevado a cabo su acción, en condiciones normales, volverían a su estado de quiescencia hasta detectar una nueva amenaza. En cambio, si el ambiente patológico se mantiene de forma crónica se mantendrían activas. Una activación mantenida de la microglía, como ocurre en la EA, daría lugar a una inflamación crónica y con esta, una neurodegeneración cada vez más acentuada, lo cual agrava la enfermedad (Hansen et al., 2018).

En las etapas iniciales de la EA, se piensa que la activación de la microglía desempeñaría un papel protector, ya que interviene en el mantenimiento de la homeostasis cerebral, eliminando fibrillas de A β y restos celulares, así como compactando las placas seniles, para evitar la liberación de las formas oligoméricas y solubles del A β , que son más tóxicas para las neuronas (Salter and Stevens, 2017). Sin embargo, con la progresión de la enfermedad, diversos autores apuntan que esta microglía desempeñaría un papel más perjudicial para los enfermos de EA, puesto que va perdiendo su capacidad fagocítica a la vez que promueve los procesos inflamatorios y la activación astrocitaria, que aumentarían el daño citotóxico del A β , los ONF, y en última instancia la neurodegeneración (Hong et al., 2016). A la vista de estos cambios fenotípicos de la microglía asociados a la progresión de la enfermedad, cada vez más estudios sitúan a este tipo celular y a la neuroinflamación en general, como posibles dianas terapéuticas. La modulación de la actividad de las células gliales sería una posible estrategia terapéutica para promover una correcta

eliminación de los residuos cerebrales acumulados y en este TFG se repasarán los estudios más prometedores en este sentido.

1.5 ABORDAJE TERAPÉUTICO ACTUAL

Hasta el momento, todas las estrategias terapéuticas aprobadas para el tratamiento de la EA se han centrado meramente en lo sintomatológico, retrasando levemente la pérdida de memoria o los cambios cognitivos, pero no impiden la progresión de la enfermedad.

Por un lado, encontramos los fármacos anticolinesterásicos. Este grupo terapéutico participa en la inhibición de las enzimas acetilcolinesterasas, por lo que de esta forma se evita la degradación de la acetilcolina, aumentando su concentración. La acetilcolina es un neurotransmisor que interviene en los procesos relacionados con la memoria (Hung and Fu, 2017), con lo que, al aumentar la acetilcolina, aumenta la transmisión colinérgica excitatoria.

Por otro lado, otro tipo de fármacos actualmente aprobados para tratar la EA son los antagonistas de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) del glutamato (aminoácido que actúa como neurotransmisor), los cuales están asociados a los procesos cognitivos de memoria y aprendizaje. Un exceso de actividad de este receptor promueve la excitotoxicidad, con lo que aumenta la entrada de calcio en las neuronas y conlleva a su muerte. La memantina es un ejemplo de antagonistas no competitivos de los receptores NMDA, la cual permite disminuir la activación que ejerce el glutamato en estos receptores (Hung and Fu, 2017).

Más recientemente, han aprobado dos anticuerpos monoclonales para tratar la EA. El Aducanumab, aprobado en EE. UU. por la FDA (del inglés “*Food and Drug Administration*”) en 2021 (Vaz et al., 2022) y el Lecanemab aprobado también por el mismo organismo en 2023 (Verger et al., 2023). A pesar de la gran esperanza que se deposita en esta nueva terapia, la EMA (Agencia Europea de Medicamentos) rechaza su aprobación por el momento debido a la falta de beneficio clínico contrastado (Frölich and Jessen, 2023).

Además de los fármacos ya aprobados, existen multitud de ensayos clínicos y nuevas dianas terapéuticas en estudio. Teniendo en cuenta los dos biomarcadores más importantes en la EA, se plantean diversas estrategias que consigan frenar el transcurso de la enfermedad, cuyo análisis será el objetivo principal del presente TFG.

2. OBJETIVOS

Como se ha comentado, actualmente no existe ningún tratamiento de uso clínico generalizado que consiga modificar el progreso de la enfermedad, por ello es necesario explorar nuevas estrategias terapéuticas focalizadas en dianas diferentes y menos estudiadas. Así pues, en este trabajo se plantea el estudio de la modulación de los diversos mecanismos proteolíticos como diana terapéutica en la enfermedad de Alzheimer para promover la limpieza cerebral y con ello una reversión de la enfermedad.

Más concretamente, los principales objetivos específicos son:

- Detallar y comparar los diversos fármacos y terapias dirigidas a los procesos de degradación de los dos grandes biomarcadores de la EA: A β y tau.
- Comparar las potenciales estrategias terapéuticas dirigidas a los mecanismos de degradación proteolítica con las actualmente aprobadas para la EA.
- Analizar la validez de las principales hipótesis sobre la etiopatología de la EA en base a las estrategias más prometedoras encontradas.

3. METODOLOGÍA

El trabajo se basa en una revisión bibliográfica que consiste en recopilar de forma sistemática datos sobre el tema y relacionarlos para obtener una visión más extensa y desarrollada sobre el estado actual. La búsqueda bibliográfica se inició en el mes de enero del año 2023 y finalizó en el mes de junio del mismo año. La revisión bibliográfica se ha centrado en artículos publicados en los últimos 5 años en inglés (por ser la lengua con mayor impacto a nivel científico).

Las principales bases de datos científicas empleadas han sido PubMed, Science Direct, Clinicals Trials y WebOfScience, entre otras. Los operadores booleanos empleados en estas páginas fueron: “AND”, “NOT”, “OR”, “XOR”. Estos operadores combinados junto con palabras claves han sido esenciales para localizar artículos apropiados que cumplan los requisitos de este trabajo. Además, comunicados y datos estadísticos de organizaciones internacionales como la *OMS (Organización Mundial de la Salud)* y de diversas asociaciones como *Alzheimer’s Disease International* han sido usados.

Los criterios de inclusión han sido los siguientes: artículos publicados en inglés, artículos publicados en los últimos cinco años, aunque algunas explicaciones conceptuales han sido extraídas de artículos anteriores, artículos de acceso libre (“Open Access”) o con opción de acceso

a través de la Universidad de Sevilla, revisiones sistemáticas, ensayos en modelos animales y ensayos clínicos en humanos. Por el contrario, como criterios de exclusión contemplamos: publicaciones en idiomas que no sean ni inglés ni castellano, editoriales o artículos que no presentan resumen, videos, textos no científicos y artículos de pago.

La búsqueda comenzó con palabras claves más generales como “Alzheimer Disease”, “Physiopatology of AD”, “Biomarkers of AD”, “Alzheimer statistics” o “Types of AD” con el fin de obtener como resultado artículos de amplia gama que sirvieran para sentar las bases de información necesarias. A partir de estas búsquedas iniciales, se fueron realizando búsquedas más específicas de procesos fisiopatológicos y terapias más concretas para poder profundizar en conocimiento y elaborar los objetivos de este trabajo. Para ello se comenzaron a emplear palabras clave más definidas como “Autophagy AND Alzheimer”, “Gene mutations AND Alzheimer”, “Lysosomal proteolysis AND Alzheimer”, “Microglia”, “ β -Amyloid degradation”, “Drugs candidates AND Alzheimer”.

Una vez realizada la parte teórica, nos centramos en la parte práctica, las terapias. Para ello, primero se han buscado fármacos y estrategias concretas en PubMed, así como artículos de revisión que recapitulan listados de los agentes más usados. Después buscamos los agentes encontrados en las bases de datos de ensayos clínicos (ClinicalTrials.gov) para ver su estado actual y los avances conseguidos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 POTENCIALES ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

Basándonos en las características neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer expuestas en el apartado de introducción del presente trabajo, se han descrito distintas estrategias terapéuticas focalizadas en diversas dianas. La mayoría tienen como objetivo central a las placas de péptido A β o la proteína tau hiperfosforilada. Algunos de estos estudios y ensayos clínicos se han centrado históricamente en sus vías de síntesis, sin embargo, cada vez más evidencias apuntan a los procesos de degradación o limpieza celular de estos biomarcadores como uno de los principales factores tras el Alzheimer esporádico, que es el más común (Mawuenyega et al., 2010). Así pues, en el presente TFG se realiza una revisión de las estrategias terapéuticas actualmente en investigación centradas en los principales mecanismos de degradación proteolítica descritos en la introducción.

Debido a la gran necesidad de encontrar nuevos tratamientos capaces de parar la progresión de la enfermedad de Alzheimer en vez de meramente sus síntomas, actualmente hay 141 posibles

fármacos en estado de estudio en 187 ensayos clínicos (desde fase preclínica, fase 1, fase 2 hasta fase 3) a fecha de 1 de enero de 2023 (Fig.4) (Cummings et al., 2023).

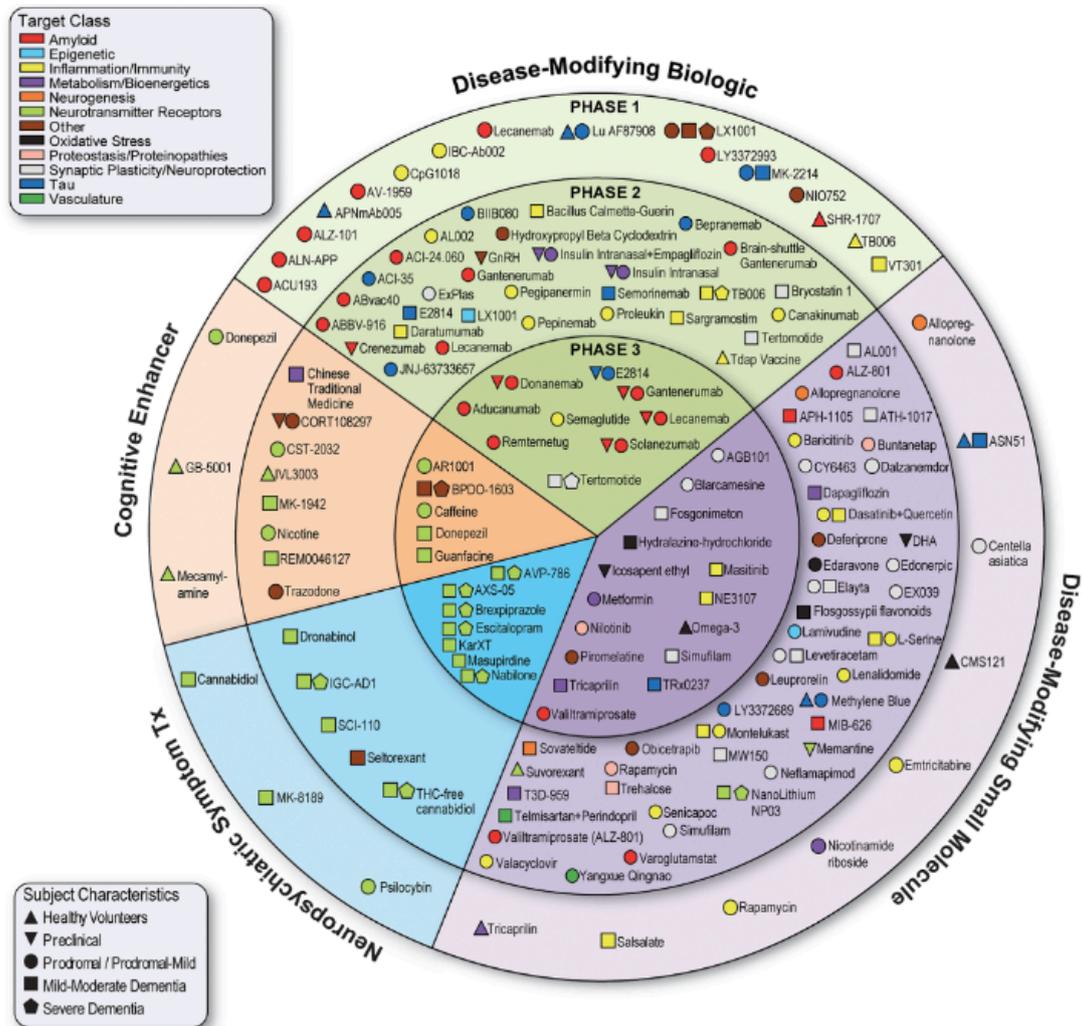


Figura 4. Fármacos en ensayos clínicos clasificados según las distintas líneas de búsqueda de nuevos medicamentos. Los fármacos destinados a actuar frente al péptido A β se encuentran señalados en rojo, y los destinados a actuar frente a la proteína tau en azul oscuro. Se encuentran representados a diversos grupos de fármacos, los modificadores de la enfermedad (inciden en la etiopatogenia de la EA) donde existen tanto biológicos como moléculas pequeñas, los sintomáticos y los que producen una mejora cognitiva. Tomada de *Alzheimer's disease drug development pipeline: 2023* (Cummings et al., 2023).

Gran parte de este trabajo se centra en los fármacos clasificados en el sistema CADRO (del inglés, *Alzheimer's disease research ontology*) como amiloides de categoría A debido a que estos son considerados los más prometedores en las líneas de investigación actuales, que como señala la “hipótesis de la cascada amiloide” es el desencadenante de todos los eventos patológicos que se producen con el transcurso de la enfermedad. Por lo que, si se consiguiese eliminar correctamente,

se podría estar ante un potente abordaje terapéutico de la enfermedad. También se especifican otras terapias que tienen como diana terapéutica la proteólisis de la proteína tau hiperfosforilada.

A continuación, vamos a realizar un encuadre de las distintas terapias en base al tipo de degradación que promuevan, siendo los mecanismos de degradación fisiológicos más importantes la degradación proteolítica junto con el sistema ubiquitina-proteasoma, la autofagia y la microglía.

4.1.1 Moduladores del proteasoma y la degradación enzimática

Como se ha comentado en la introducción, muchos de los fenómenos patológicos de la EA están asociados a un plegamiento erróneo de las proteínas. Ante esto, las células van a actuar pudiendo tomar dos vías; eliminarlas directamente o bien replegarlas gracias a la actuación de chaperonas moleculares. Como también se ha comentado, una de las vías principales de eliminación sería la estimulación del sistema ubiquitina-proteasoma, empleando agentes que favorezcan la unión de las proteínas diana mal plegadas a ubiquitinas ligasas y de esta forma poder marcar específicamente los residuos cerebrales y que puedan ser degradados en un segundo paso (Hyun and Shin, 2021).

En base a esta línea de investigación, se ha diseñado el PROTAC C004019, una quimera dirigida a la proteólisis. Es una molécula heterobifuncional que media la proteólisis de una proteína diana. Este agente consta de dos moléculas unidas, una de ellas dirigida a establecer relación con una ubiquitina ligasa E3 y la otra con la diana terapéutica (Fig.5). La proteína ubiquitinada será posteriormente detectada y degradada por el proteosoma. Gracias a estudios tanto *in vitro* como *in vivo* se ha demostrado su eficacia a la hora de degradar los residuos de proteína tau de forma selectiva, lo que conduce a una mejora de la capacidad mental de los enfermos de Alzheimer (Wang et al., 2021). Sería interesante diseñar nuevas versiones de este fármaco tomando como referencia el mecanismo de acción que ejerce, pero cambiando las moléculas que lo constituyen para probar su eficacia ante otras proteínas objetivo, como puede ser el A β .

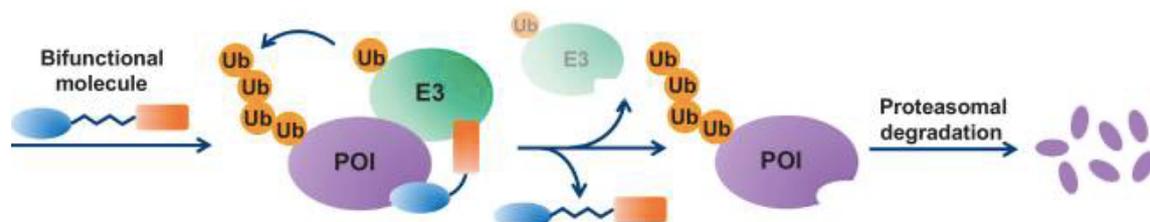


Figura 5. Mecanismo de actuación del PROTAC

Nota. Las siglas POI hacen referencia a la proteína objetivo

Tomada de *Bivalent Ligands for Protein Degradation in Drug Discovery* (Scheepstra et al., 2019).

Otra posible estrategia terapéutica basada en la degradación proteolítica es la modulación de las A β DP's, moléculas entre las que destaca NEP (neprilisina). Por ejemplo, se ha descrito una terapia génica candidata a ensayos clínicos para aumentar la expresión de NEP mediante el uso de vectores virales a través de los cuales se introducirían genes codificantes de A β DP's en el enfermo. Estas terapias no solo tendrían éxito a nivel cerebral, sino también a nivel plasmático, ya que en base a la "hipótesis del sumidero periférico", al existir una homeostasis entre el líquido cefalorraquídeo y la sangre, si introdujéramos un aumento de A β DP's en sangre estas enzimas ejercerían de igual modo su función (Nalivaeva and Turner, 2019).

También existen numerosos receptores que interfieren en la actividad de las enzimas degradadoras de A β y en su expresión: PPAR- δ (el agente GW742 es capaz de aumentar su actividad y con esto el aumento de IDE y NEP), el receptor nuclear retinoide (el fármaco bexaroteno incide en este receptor aumentando como respuesta los niveles de expresión IDE y NEP) o los receptores androgénicos y estrogénicos (estimulados por hormonas sexuales), entre otros (Nalivaeva and Turner, 2019).

Por otro lado, nos encontramos con el estrés oxidativo, el cual es capaz de inactivar a NEP y a IDE dificultando su actividad. Una posible diana de actuación para evitar la inactivación de las A β DP's sería el empleo de quelantes de metales, como el Cu y el Zinc, para evitar que estos iones interactúen con las placas y generen ROS (radicales libres de oxígeno) (Khan et al., 2020; Wang et al., 2006).

4.1.2 Moduladores de la autofagia

Como hemos visto en la introducción, la autofagia es otro de los grandes mecanismos de degradación proteolítica que se encuentra afectado en la EA. Por tanto, terapias centradas en su inducción podrían promover la limpieza cerebral tanto de A β como de tau a nivel celular. Existen diversas proteínas fisiológicas con capacidad de activar los mecanismos de autofagia, modulando en las distintas etapas: iniciación, nucleación, terminación y fusión.

Un incremento de la proteína BECN1, implicada en la formación de autofagosomas (paso de iniciación-nucleación de la autofagia), está relacionado con una disminución del péptido A β cerebral. También se ha relacionado tanto un aumento de NRBF2 como de BAG3 y VPS35, entre otras proteínas fisiológicas implicadas en este mecanismo de lisis, con una regulación al alza de la autofagia y la consecuente eliminación de los residuos cerebrales ejerciendo un efecto neuroprotector (Deng et al., 2022).

Dentro de este apartado nos encontramos con varias terapias provenientes del denominado “reposicionamiento de fármacos”. Esta técnica consiste en la valoración de fármacos ya existentes y aprobados por las agencias reguladoras para tratar distinto tipo de patologías como posibles candidatos para su uso en una nueva indicación terapéutica (Eshraghi et al., 2022). Esta estrategia presenta numerosas ventajas como el ahorro de costes debido a que muchos controles y fases ya han sido realizados (Yu et al., 2021). El discernimiento entre unos u otros fármacos para reposicionarlos puede ser llevado a cabo en base a diversos criterios. Estos pueden ser desde apoyarse en hipótesis, la realización de cribados de bases de datos u *in vitro* hasta el uso de firmas de genes, entre otros) (Ballard et al., 2020).

Entre estos fármacos reposicionados encontramos la Metformina, fármaco comúnmente usado para tratar la diabetes, pero que se ha descrito que es capaz de activar la AMPK/PRKAA e inhibir a mTOR. Ambas proteínas participan en la regulación de la autofagia a nivel de la etapa de iniciación, de forma que inducirían vías y la formación de autofagosomas (Wani et al., 2021). Otro ejemplo es la Rapamicina, fármaco cuya acción es inhibir a la mTOR. Este fármaco usado comúnmente como inmunosupresor, ha demostrado un posible papel en el tratamiento de la EA gracias a la inducción de la autofagia que promueve (Luo et al., 2020).

Con el Nilotinib, fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de la leucemia, se realizaron estudios clínicos de fase II para observar su efecto en enfermos de Alzheimer con resultados prometedores de una disminución de los biomarcadores (Turner et al., 2020). Se valoró su eficacia en la disminución tanto de residuos amiloides como en el volumen de tau fosforilada empleando métodos PET y resonancia magnética respectivamente a los seis y doce meses de tratamiento, probando así su eficacia como ralentizador cognitivo (Turner et al., 2020). En ClinicalTrials.gov encontramos un estudio de fase III con identificador NCT05143528 en el que aún no se está reclutando.

Aparte de los tres fármacos citados correspondientes a procesos de reposicionamiento, se ha descubierto la eficacia de otras moléculas, algunas de origen natural, que también serían capaces de inducir autofagia. Uno de ellos es la crocetina procedente del *Crocus sativus*, conocida comúnmente como planta del azafrán, la cual posee muchas funciones (antioxidante, neuroprotectora, antiinflamatoria ...) que podrían ayudar a la mejora de los enfermos de Alzheimer, el restablecimiento de los monocitos (los cuales posteriormente son capaces de degradar a A β 42) y el aumento de expresión de proteínas capaces de transportar al péptido A β como son LRP1 y la glicoproteína-P. La terapia con crocetina en ratones mostró un aumento de

STK11(quinasa responsable de la activación del AMPK) así como de marcadores relacionados con la fase de elongación de la autofagia (ATG5, ATG7, ATG12, etc.) (Wani et al., 2021).

4.1.3 Moduladores de las células gliales e inmunoterapia

4.1.3.1 Tratamientos dirigidos a la microglía

La microglía puede adoptar varios perfiles, desde los más protectores hasta los puramente degenerativos o disfuncionales, con lo que resulta difícil desarrollar terapias dirigidas a modular este tipo celular. Según la etapa de la enfermedad en la que el paciente se encuentre, va a resultar más o menos benigno o perjudicial su rol. La finalidad que se busca con estas terapias es reconducir a la microglía hacia su fenotipo más protector (Wes et al., 2016).

Como se ha comentado en la introducción, está descrito que la microglía juega un papel crucial en los primeros estadios de la enfermedad en la limpieza cerebral de los oligómeros de A β vía fagocitosis y la compactación de las placas seniles para reducir su toxicidad (Salter and Stevens, 2017). En este apartado se va a hacer énfasis en las estrategias dirigidas a la inducción de este perfil protector de la microglía. En este sentido, TREM2 es un receptor de superficie microglial encargado de regular la capacidad fagocítica de la microglía entre otras funciones. En los primeros estadios de la enfermedad resultaría beneficioso aumentar la expresión de TREM2 fomentando de este modo la eliminación de A β 42 (Yousefizadeh et al., 2022).

Se está poniendo de manifiesto en numerosas investigaciones los efectos que se producirían en los enfermos de EA al estimular estos receptores utilizando varios anticuerpos agonistas de TREM2. Los anticuerpos AL002 y AL002c fueron tolerados con éxito en un ensayo clínico de fase I (G. Zhang et al., 2021) . Actualmente AL002 se encuentra en un ensayo clínico de fase 2 en enfermos de EA de aparición temprana, el cual se encuentra en estado de reclutamiento (ClinicalTrials.gov) con identificador NCT05744401. También cabe resaltar que estudios con el anticuerpo 4D9 mostraron una disminución de residuos A β tanto *in vivo* como *in vitro* ligada a una mejora en la función de la microglía (G. Zhang et al., 2021).

4.1.3.2 Inmunoterapia anti-A β

Existen dos tipos de inmunoterapia: la inmunoterapia activa que consiste en la administración de vacunas cuyo contenido basado en A β sean capaces de estimular al sistema inmune endógeno del paciente para que este produzca anticuerpos anti-A β ; o bien la inmunoterapia pasiva que consiste en la administración directa de estos anticuerpos anti-A β (Song et al., 2022). Esta última ha sido considerada hasta el momento, de entre todas las posibilidades para atacar al péptido A β , la más seleccionada por cuestiones de tolerabilidad y selectividad mecánica (Avgerinos et al.,

2021). El funcionamiento de los anticuerpos monoclonales es el de marcar a los desechos que queremos eliminar (en este caso el A β) para que de esta forma las células gliales los reconozcan y puedan efectuar dicha eliminación (Laversenne et al., 2020).

En esta línea, se llevará a cabo un breve repaso de los anticuerpos monoclonales descritos en *Alzheimer's disease drug development pipeline* de Cummings, et al. (2023), los cuales han sido buscados en la base de datos ClinicalTrials.gov para poder actualizar sus estados.

Podemos observar que dentro de los tratamientos biológicos actualmente en ensayos clínicos destinados a modificar la enfermedad encontramos cuatro medicamentos en fase I (Tabla 1), siete en fase II (Tabla 2) y seis en fase III (Tabla 3), detallados a continuación.

Tabla 1. Posibles agentes biológicos con propiedades A β en fase I de investigación. Elaboración propia basándose en datos tomados de ClinicalTrials.gov y *Alzheimer's disease drug development pipeline* de Cummings, et al. (2023).

AGENTE	MECANISMO DE ACCIÓN	NCT	ESTADO
SHR-1707	Anticuerpo monoclonal antiamiloides	NCT05681819	Reclutando
LY3372993	Anticuerpo monoclonal VS péptido A β	NCT04451408	Reclutando
ACU193	Anticuerpo monoclonal VS péptido A β soluble	NCT04931459	Activo, no reclutan
Aducanumab	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros y placas A β . Agonista R. TERM2	NCT05469009	Reclutando
ACU193	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros A β solubles	NCT04931459	Activo, no reclutan
ALZ-101	Vacuna dirigida VS A β	NCT05328115	Activo, no reclutan
AV-1959	Vacuna antiamiloides	NCT05642429	Reclutando

Tabla 2. Posibles agentes biológicos con propiedades A β en fase II de investigación. Elaboración propia basándose en datos tomados de ClinicalTrials.gov y *Alzheimer's disease drug development pipeline* de Cummings, et al. (2023).

AGENTE	MECANISMO DE ACCIÓN	NCT	ESTADO
Lecanemab	Anticuerpo monoclonal VS protofibrillas de A β	NCT01767311	Activo, no reclutan
		NCT05269394	Reclutando
		NCT01760005	Reclutando
ABvac40	Inmunoterapia activa VS A β	NCT03461276	Desconocido
Crenezumab	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros solubles de A β	NCT01998841	Activo, no reclutan
Donanemab	Anticuerpo monoclonal específico VS forma piroglutamato del péptido A β	NCT04640077	Activo, no reclutan
Gantenerumab	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros y placas A β	NCT01760005	Reclutando
Brain-shuttle Gantenerumab	*mayor penetración en la BHE	NCT04639050	Reclutando
ABBV-916	Anticuerpo monoclonal VS péptido A β	NCT05291234	Reclutando
Solanezumab	Anticuerpo monoclonal VS monómeros de A β	NCT01760005	Reclutando
ACI-24.060	Vacuna que estimula la producción de anticuerpos contra A β	NCT05462106	Reclutando

Tabla 3. Posibles agentes biológicos con propiedades A β en fase III de investigación. Elaboración propia basándose en datos tomados de ClinicalTrials.gov y *Alzheimer's disease drug development pipeline* de Cummings, et al. (2023).

AGENTE	MECANISMO DE ACCIÓN	NCT	ESTADO
Aducanumab	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros y placas A β . Agonista R. TERM2	NCT04241068	Activo, no reclutan
		NCT05310071	Reclutando
Lecanemab	Anticuerpo monoclonal VS protofibrillas de A β	NCT03887455	Activo, no reclutan
		NCT04468659	Reclutando
		NCT05269394	Reclutando
		NCT01760005	Reclutando
Donanemab	Anticuerpo monoclonal dirigido específicamente a la forma piroglutamato del péptido A β	NCT04437511	Activo, no reclutan
		NCT05108922	Activo, no reclutan
		NCT05026866	Reclutando
		NCT05508789	Reclutando
		NCT05738486	Reclutando
Gantenerumab	Anticuerpo monoclonal VS oligómeros y placas A β	NCT01760005	Reclutando
LY3372993 (Remternetug)	Anticuerpo monoclonal VS péptido A β	NCT05463731	Reclutando
Solanezumab	Anticuerpo monoclonal VS monómeros de A β	NCT01760005	Reclutando
		NCT02008357	Activo, no reclutan

Actualmente, los fármacos antiamiloides constituyen un 19% de las estrategias terapéuticas que se encuentran en ensayos clínicos en fase III. Dentro de estas, son siete los fármacos en estudio, los seis anticuerpos monoclonales detallados junto con el valiltramiprosato (ALZ-801) (Cummings et al., 2023).

Aducanumab

En 2021 la FDA aprobó por la vía acelerada la comercialización del Aducanumab para la EA. Este hecho representó un gran avance en la terapéutica de esta patología ya que desde el año 2003 la FDA no aprobaba ningún nuevo fármaco para esta enfermedad. Además, el Aducanumab ha sido el primer tratamiento aprobado dirigido a la fisiopatología de la enfermedad (Vaz et al., 2022).

Este fármaco es un anticuerpo monoclonal de tipo IgG1 que actúa directamente contra el péptido A β reduciendo el depósito de este en el cerebro. Actualmente destinado para el uso en pacientes que se encuentren en el estadio de la enfermedad correspondiente al deterioro cognitivo leve (Padda and Parmar, 2023) ya que no existen información detallada sobre su uso en el resto de las etapas de la EA. Los ensayos clínicos mostraron una disminución de las placas seniles en los pacientes a los que se administró. La forma de administración de este fármaco es mediante una inyección intravenosa de 100mg/mL (Padda and Parmar, 2023). En EE. UU., donde ha sido aprobado el Aducanumab, el fármaco encuentra en periodo de vigilancia (fase IV) (Nisticò and Borg, 2021).

No obstante, los ensayos clínicos del Aducanumab aportan evidencias de varios efectos adversos, entre los que destaca la aparición de ARIA (del inglés, *amyloid related imaging abnormalities*) detectable por métodos de resonancia magnética cerebral. Esta anomalía se puede expresar cursando con náusea, mareo, confusión e incluso muerte. El ARIA se puede subdividir en ARIA-H (hemorragia) y ARIA-E (edema). Este riesgo aumenta en pacientes con genotipo ApoE4 y en anticoagulados (Withington and Turner, 2022). Es por ello, entre otras cosas, que la comercialización de este fármaco en Europa ha sido denegada por la EMA, la cual resalta la falta de información y datos que muestren su eficacia y seguridad clínica (Vaz et al., 2022).

Lecanemab

Otro gran hito ha sido la aprobación del Lecanemab por la FDA en enero de este año. Este anticuerpo se evaluó en pacientes entre 50 y 90 años en los estadios intermedios de la EA con placas A β confirmadas. La efectividad de este fármaco sigue una relación dosis-tiempo (Fig. 6). El estudio probó que con la administración de una dosis intravenosa de 10mg/kg repetido cada 14 días se consiguió disminuir la acumulación existente de carga amiloide (FDA, 2023). Demostró

que a los 18 meses de tratamiento existía aproximadamente un 27% de beneficio entre los pacientes tratados con Lecanemab respecto a los tratados con placebo (Swanson et al., 2021). A pesar de lo prometedor que puede resultar este fármaco, cabe destacar que aún no ha sido aprobado por la EMA, la cual está en procesos de análisis (EMA, 2023).

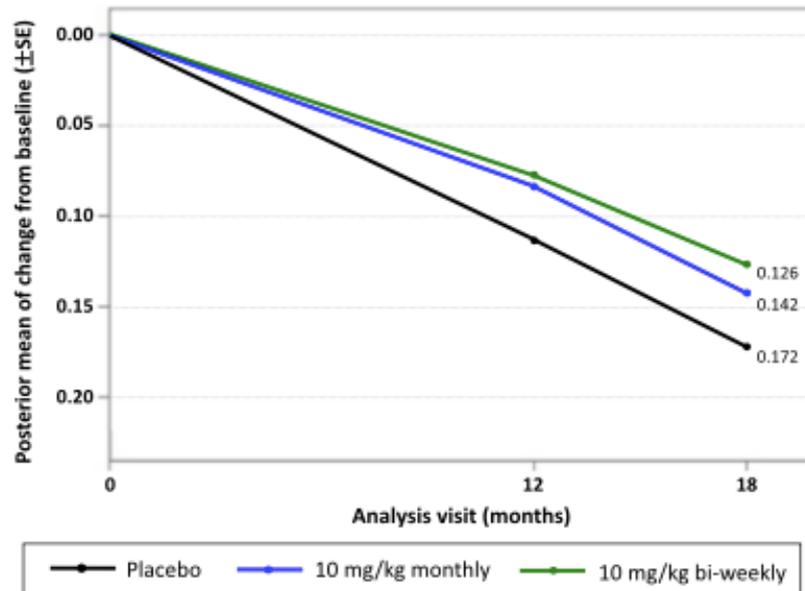


Figura 6. Eficacia del Lecanemab respecto al transcurso del tratamiento. Se observa la variación de respuesta existente entre los sujetos de análisis a los que se les ha administrado placebo, 10mg/kg de Lecanemab semanales y 10 mg/kg mensuales dispuestos en forma de gráfica donde el eje de abscisas corresponde a los meses de terapia y el eje de ordenada a la variación de la puntuación compuesta de la EA, ADCOMS (del inglés “Alzheimer’s disease composite score”). Se observa que la progresión de la enfermedad sigue un curso bastante más lento en los pacientes tratados con el fármaco, en comparación a los tratados con placebo. Tomada de *Consistency of efficacy results across various clinical measures and statistical methods in the lecanemab phase 2 trial of early Alzheimer’s disease* (Dhadda et al., 2022).

Como se observa en estos resultados, son múltiples las evidencias que apuntan a la inmunoterapia pasiva anti-amiloide como una de las terapias más prometedora para frenar la enfermedad de Alzheimer. No obstante, la mayoría de las terapias propuestas han fracasado con un riesgo superior a los beneficios aportados, que tampoco consiguen frenar la progresión de la enfermedad. En numerosos ensayos clínicos observamos los fuertes efectos secundarios que pueden producir (ARIA) o bien su poco poder práctico (Sun et al., 2023). En el diseño de los anticuerpos podríamos encontrar una posible explicación a este fracaso. Estudios muestran que estos anticuerpos podrían activar de manera desmedida a la microglía y producir un empeoramiento de la EA por aumento de la degeneración sináptica (Sun et al., 2023). En cambio, los anticuerpos diseñados que carecen

del fragmento Fc que no presentan función efectora son capaces de disminuir los residuos amiloides, pero los efectos secundarios producidos son mucho menos significativos (Sun et al., 2023). En base a esta información, una de las posibles líneas futuras para el desarrollo de nuevas terapias sería el empleo de anticuerpos dirigidos al A β , pero en los que redujéramos o bien elimináramos su fragmento Fc con fin de aumentar la seguridad.

Otra posibilidad que explicaría la falta de eficacia de estas terapias anti-A β sería que el péptido amiloide realmente no fuese la causa de la enfermedad o que no actuara como inductor de eventos patológicos, lo cual pondría en entredicho la “hipótesis de la cascada amiloide”. En este sentido, cabe plantearse mecanismos e hipótesis alternativas, como las que apuntan a la neuroinflamación o la microglía como inductor real de la patología tau y paralelamente de la aparición de los síntomas (Sims et al., 2020). La progresión lineal de los acontecimientos fisiopatológicos iniciada por el péptido A β en la que se basa la hipótesis de la cascada amiloide no concuerda de forma clara con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos. Esta linealidad se ve comprometida en la práctica al observar que cada factor desencadena una serie de nuevos factores de manera divergente afectando y creando diferentes rutas. La propuesta “fase celular” manifiesta que la EA debería de considerarse como un mecanismo complejo formado por diferentes rutas fisiopatológicas y que estas interactúan entre sí (De Strooper and Karran, 2016). Los dos biomarcadores protagonistas hasta ahora son factores de riesgo de la progresión de la enfermedad, pero a parte de ellos existen otros decisivos para que se desencadene la demencia (De Strooper and Karran, 2016).

No obstante, los estudios avalan que el A β sigue siendo una diana terapéutica lógica, y a falta de avances significativos de la inmunoterapia anti-amiloide podría revertirse con un mejor cribado de pacientes o avanzando el inicio del tratamiento (Haass and Selkoe, 2022). Igualmente, sería interesante analizar más en detalle si la inducción específica de mecanismos intracelulares de degradación, como los que se han visto en el apartado anterior (proteasas, autofagia...) serían más efectivos en comparación con la señalización extracelular de los depósitos en forma de placas.

Con estos estudios lo que se quiere es probar la capacidad que se obtiene con el uso de anticuerpos anti-A β para frenar el deterioro cognitivo. Aunque se deposite mucha esperanza en los dos últimos fármacos mencionados, todavía no se ha encontrado la panacea para detener la progresión de la EA de manera generalizada.

4.1.3.3 Inmunoterapia anti-tau

Durante estos años, las investigaciones científicas se han centrado en dirigirse contra el péptido amiloide. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la aparición de síntomas en la EA no viene determinada por la acumulación de A β , que puede iniciarse hasta 15 o 20 años antes de la fase clínica, sino que está directamente relacionada con el aumento de la patología tau (Laversenne et al., 2020). Aparte de las inmunoterapias encaminadas a la fagocitosis de placas de placas seniles extracelulares, existe otra rama de la inmunoterapia dirigida a los ONF. La estrecha relación existente entre las formas patológicas de tau acumuladas en el cerebro con la neurodegeneración, la pérdida de sinapsis y, en consecuencia, el deterioro cognitivo, posiciona al uso de anticuerpos anti-tau para promover su fagocitosis como una terapia prometedora.

Los anticuerpos monoclonales pueden tener por diana a diferentes regiones de la proteína tau. Los estudios preliminares apuntan que los anticuerpos que se dirigen hacia el dominio de unión a microtúbulos (Fig.7) presentan mayor capacidad para penetrar en el interior de las neuronas y ejercer su acción en los ONF e impedir la salida de la proteína tau al espacio extraneuronal por lo que impedirán que los agregados formados se diseminen (Song et al., 2022; K. M. Wu et al., 2021). Los anticuerpos monoclonales anti-tau diseñados con dominio Fc y que presentan afinidad hacia varias dianas (proteína tau y receptores) son muy alentadores ya que facilitan el paso del agente a través de la barrera hematoencefálica y aumentan su poder de acción a nivel citosólico (Tashima, 2022).

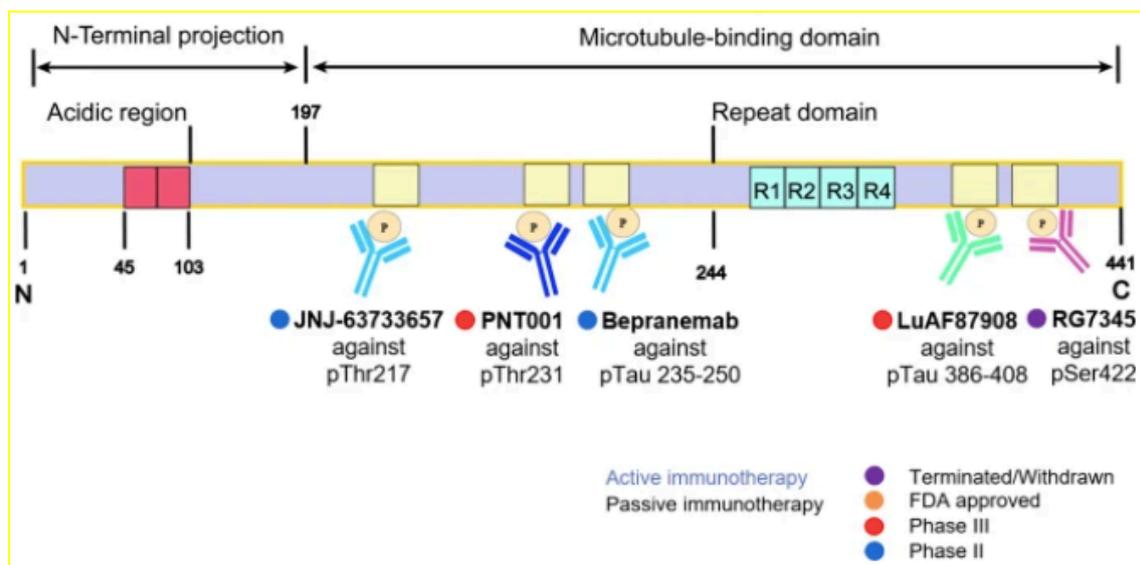


Figura 7. Anticuerpos Anti-tau. Los anticuerpos representados están dirigidos hacia el dominio de unión a microtúbulos. Adaptado de *Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting β -amyloid and beyond* (Song et al., 2022)

4.2 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EMERGENTES

Hay que tener en cuenta que, en general, los ensayos clínicos son difíciles de llevar a cabo y de validar a causa de la heterogeneidad de la EA entre los distintos pacientes, cosa que nos lleva a pensar en la necesidad de plantear terapias personalizadas para cada caso concreto basándonos tanto en las características fisiológicas del paciente (raza, sexo, edad, etc.), como en la expresión de la enfermedad en este, medida a través de los biomarcadores característicos.

El 79% de los medicamentos que se encuentran actualmente en estudio intentan modificar el curso de la enfermedad usando una variedad de estrategias y el 28% corresponden a fármacos reposicionados (Cummings et al., 2023). Dentro de este grupo, sorprendentemente la mayoría presentan dianas no canónicas, es decir, que no se dirigen hacia los dos biomarcadores esenciales de la EA. Esto nos abre un gran mundo de posibilidades de tratamiento.

4.2.1 Fármacos multi-objetivo (MTDs)

Como hemos comentado previamente, la EA es una enfermedad multifactorial con una etiología muy diversa, lo cual complica especialmente el diseño de un buen fármaco. Es por ello que en este caso pueda resultar muy útil el uso de una estrategia no convencional, como son los fármacos multi-objetivo o MTDs (del inglés “*multi-target drug*”), capaces de actuar frente a varias dianas terapéuticas al mismo tiempo. Estos fármacos son creados agregando varios grupos farmacóforos en una misma molécula híbrida, lo que conlleva a una abreviación de la posología terapéutica que los enfermos han de llevar a cabo con la consecuente reducción de los efectos adversos (Athar et al., 2021; Gong et al., 2022).

El GV-971 (oligo-manurato de sodio) es un MTD natural proveniente de algas que presenta capacidad antiinflamatoria en la microglía, fagocíticas en las placas de A β , así como reguladoras de la microbiota intestinal. Se ha aprobado su uso en China para enfermos de Alzheimer (Gong et al., 2022). Existe un ensayo clínico de fase III completado (NCT02293915) que demostró una mejora cognitiva (Ferrari and Sorbi, 2021).

Otro ejemplo lo encontramos en la Medicina Tradicional China, el Chaihu Shugan San (CSS), preparado a base de plantas compuesto por 152 principios activos diferentes y 60 dianas terapéuticas claves con importancia clínica en la EA (Zeng et al., 2019) donde se ven involucrados desde mecanismos de apoptosis hasta transducción de señales, etc. (Zeng et al., 2019).

4.2.2 Tratamiento con células madre pluripotentes

Los dos tipos principales de células madre que están siendo evaluados en clínica son las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) y las células madre embrionarias (ESC) (Yamanaka, 2020).

Resultados de estudios clínicos han demostrado que mediante el uso de ESC es posible modular los niveles de acetilcolina revirtiendo los déficits de este neurotransmisor que se dan en la EA (Liu et al., 2013). Por otra parte, mediante el uso de iPSC son capaces de rehabilitar las conexiones neuronales (Liu et al., 2012). Además, se ha reportado que las células madre procedentes de la placenta o la sangre son capaces de regenerar el fenotipo de la microglía protectora, así como de aumentar la expresión del ARN de enzimas proteolíticas (IDE y NEP) que posteriormente van a atacar al A β , entre otras (Athar et al., 2021).

4.2.3 Nanomedicina

La nanotecnología representa el futuro de diversas disciplinas científicas, siendo la nanomedicina una de sus ramas con un amplio recorrido actualmente. Los medicamentos creados a través de ingeniería química convencional presentan numerosos inconvenientes, los cuales pueden ser remediados usando nanovectores como forma galénica para administrar los principios activos.

En la EA el empleo de nanomedicina proporciona ventajas como el aumento de la especificidad del fármaco por su diana, el mayor pasaje transmembrana (necesario para atravesar la BHE), y el aumento de la penetración una vez que este alcance su diana (Ling et al., 2021). La integración de un principio activo dentro de una nanopartícula (encapsulación) ayuda a este a conservar de forma intacta su biodisponibilidad por lo que permitirá que este ejerza su máximo efecto, disminuyendo los efectos secundarios, a la vez que se genera una función a su superficie gracias a la adición de ligandos específicos (Ling et al., 2021). Se ha relacionado el empleo de nanopartículas poliméricas con zinc en modelos de roedores con EA, con una mejora de las funciones neuronales y un detrimento de las placas seniles (Vilella et al., 2018). También, se ha visto que el uso de nanopartículas de selenio junto con curcumina encapsuladas en nanoesferas elaboradas con polímeros derivados de PLGA han sido capaces de reducir los cúmulos de péptido amiloide en ensayos preclínicos llevados a cabo en ratones transgénicos (Huo et al., 2019), entre otros.

5. CONCLUSIONES

- I. Actualmente el 25% de los fármacos que se encuentran en ensayos clínicos se dirigen a las dianas canónicas: un 16% a A β y un 9% a tau. La relación directa de la patología tau con las fases clínicas de la enfermedad, nos lleva a pensar en la necesidad de incrementar los estudios dirigidos a la degradación de esta proteína.
- II. Los resultados obtenidos en este trabajo invitan a pensar en la necesidad de explorar nuevas teorías y mecanismos sobre la etiopatogenia de la EA y la posible concepción de la EA como una enfermedad multifactorial.
- III. La inmunoterapia pasiva anti-A β sigue siendo una de las vías terapéuticas más estudiadas, pero sus resultados contradictorios, así como la asociación de efectos adversos importantes hacen necesaria una mejora tanto en el diseño de los anticuerpos como en los parámetros procedimentales de los ensayos clínicos.
- IV. El uso de moduladores de mecanismos de degradación proteolítica, como el PROTAC C004019 (degradación de tau vía proteasoma), inductores de la autofagia con fármacos reposicionados (Metformina y Rapamicina, entre otros) o la activación de la microglía, se muestran como potenciales estrategias terapéuticas en la eliminación de A β y tau, sorteando alguno de los problemas derivados de la inmunización pasiva.
- V. Estrategias emergentes como la terapia génica, la terapia celular, los fármacos multiobjetivo o la nanomedicina, pueden suponer un importante avance en el tratamiento de la EA, reduciendo los efectos adversos e incrementando la personalización terapéutica.

6. BIBLIOGRAFIA

Aisen PS, Cummings J, Jack CR, Morris JC, Sperling R, Frölich L, et al. On the path to 2025: Understanding the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimers Res Ther.* 2017; 9: 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0283-5>

Alzheimer's Association. Dementia vs. Alzheimer's Disease: What Is the Difference? 2023 [en línea] [Consultado en Junio 2023]. Disponible en: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/difference-between-dementia-and-alzheimer-s>

Alzheimer's Disease International. 2019. World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia. London: Alzheimer's Disease International. Disponible en: <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2019.pdf>

Athar T, Al Balushi K, Khan SA. Recent advances on drug development and emerging therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Mol Biol Rep.* 2021; 48: 5629-45. <https://doi.org/10.1007/S11033-021-06512-9>.

Atwood CS, Bowen RL. A Unified Hypothesis of Early- and Late-Onset Alzheimer's Disease Pathogenesis. *J Alzheimers Dis.* 2015; 47(1): 33-47. <https://doi.org/10.3233/JAD-143210>.

Avgerinos KI, Ferrucci L, Kapogiannis D. Effects of monoclonal antibodies against amyloid- β on clinical and biomarker outcomes and adverse event risks: a systematic review and meta-analysis of phase III RCTs in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev.* 2021; 68: 101339. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2021.101339>.

Ballard C, Aarsland D, Cummings J, O'Brien J, Mills R, Molinuevo JL, et al. Drug repositioning and repurposing for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2020; 16: 661. <https://doi.org/10.1038/S41582-020-0397-4>.

Bard JAM, Goodall EA, Greene ER, Jonsson E, Dong KC, Martin A. Structure and Function of the 26S Proteasome. *Annu Rev Biochem.* 2018; 87: 697-724. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-062917-011931>.

Boland B, Kumar A, Lee S, Platt FM, Wegiel J, Yu WH, et al. Autophagy Induction and Autophagosome Clearance in Neurons: Relationship to Autophagic Pathology in Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2008; 28: 6926–37. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0800-08.2008>.

Brejyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 2020; 25(24): 5789. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245789>.

Chocron ES, Munkácsy E, Kim HS, Karpowicz P, Jiang N, Van Skike CE, et al. Genetic and pharmacologic proteasome augmentation ameliorates Alzheimer's-like pathology in mouse and fly APP overexpression models. *Sci Adv.* 2022; 8: eabk2252. <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABK2252>.

Cook DG, Leverenz JB, McMillan PJ, Kulstad JJ, Ericksen S, Roth RA, et al. Reduced Hippocampal Insulin-Degrading Enzyme in Late-Onset Alzheimer's Disease Is Associated with the Apolipoprotein E- ϵ 4 Allele. *Am J Pathol.* 2003; 162: 313-19. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63822-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63822-9).

Cummings J, Zhou Y, Lee G, Zhong K, Fonseca J, Cheng F. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2023. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions.* 2023; 9: e12385.

<https://doi.org/10.1002/TRC2.12385>.

Davis M, O'Connell T, Johnson S, Cline S, Merikle E, Martenyi F, et al. Estimating Alzheimer's Disease Progression Rates from Normal Cognition Through Mild Cognitive Impairment and Stages of Dementia. *Curr Alzheimer Res.* 2018; 15: 777–88. <https://doi.org/10.2174/1567205015666180119092427>.

Deng Z, Dong Y, Zhou X, Lu JH, Yue Z. Pharmacological modulation of autophagy for Alzheimer's disease therapy: Opportunities and obstacles. *Acta Pharm Sin B.* 2022; 12: 1688. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2021.12.009>.

Dhadda S, Kanekiyo M, Li D, Swanson CJ, Irizarry M, Berry S, et al. Consistency of efficacy results across various clinical measures and statistical methods in the lecanemab phase 2 trial of early Alzheimer's disease. *Alz Res Therapy.* 2022; 14: 182. <https://doi.org/10.1186/s13195-022-01129-x>

de Dios C, Bartolessis I, Roca-Agujetas V, Barbero-Camps E, Mari M, Morales A, et al. Oxidative inactivation of amyloid beta-degrading proteases by cholesterol-enhanced mitochondrial stress. *Redox Biol.* 2019; 26: 101283. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2019.101283>.

European Medicines Agency (EMA). Committee for medicinal products for human use. Human Medicines Division. Amsterdam: EMA; 2023. EMA/CHMP/122959/2023. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/agenda/agenda-chmp-meeting-22-25-may-2023_en.pdf

Eshraghi M, Ahmadi M, Afshar S, Lorzadeh S, Adlimoghaddam A, Rezvani Jalal N, et al. Enhancing autophagy in Alzheimer's disease through drug repositioning. *Pharmacol Ther.* 2022; 237: 108171. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2022.108171>.

FDA. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Disease Treatment | FDA 2023 [en línea]. [Consultado en Julio 2023]. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-disease-treatment>

Ferrari C, Sorbi S. The Complexity of Alzheimer's disease: an evolving puzzle. *Physiol Rev.* 2021; 101 (3): 1047–81. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2020>

Fraldi A, Annunziata F, Lombardi A, Kaiser HJ, Medina DL, Spanpanato C, et al. Lysosomal fusion and SNARE function are impaired by cholesterol accumulation in lysosomal storage disorders. *EMBO J.* 2010; 29: 3607–20. <https://doi.org/10.1038/EMBOJ.2010.237>.

Freudenberg-Hua Y, Li W, Davies P. The Role of Genetics in Advancing Precision Medicine for Alzheimer's Disease: A Narrative Review. *Front Med (Lausanne).* 2018; 5: 1. <https://doi.org/10.3389/FMED.2018.00108>.

Frölich L, Jessen F. Lecanemab: Appropriate Use Recommendations: A Commentary from a European Perspective. *J Prev Alz Dis.* 2023; 10: 357–8. <https://doi.org/10.14283/jpad.2023.44>

Gao Y-L, Wang N, Sun F-R, Cao X-P, Zhang W, Yu J-T. Tau in neurodegenerative disease. *Ann Transl Med.* 2018; 6: 175. <https://doi.org/10.21037/ATM.2018.04.23>.

Giraldo E, Lloret A, Fuchsberger T, Viña J. A β and tau toxicities in Alzheimer's are linked via oxidative stress-induced p38 activation: Protective role of vitamin E. *Redox Biol.* 2014; 2: 873-77.

<https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2014.03.002>.

Gong CX, Dai CL, Liu F, Iqbal K. Multi-Targets: An Unconventional Drug Development Strategy for Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2022; 14: 837649.

<https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.837649>

Gouras GK, Olsson TT, Hansson O. β -amyloid Peptides and Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics.* 2015; 12: 3-11.

<https://doi.org/10.1007/S13311-014-0313-Y>.

Gulisano W, Maugeri D, Baltrons MA, Fà M, Amato A, Palmeri A, et al. Role of Amyloid- β and Tau Proteins in Alzheimer's Disease: Confuting the Amyloid Cascade. *J Alzheimers Dis.* 2018; 64: 5611-31.

<https://doi.org/10.3233/JAD-179935>.

Haass C, Selkoe D. If amyloid drives Alzheimer disease, why have anti-amyloid therapies not yet slowed cognitive decline? *PLoS Biol.* 2022; 20: e3001694.

<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3001694>.

Hansen D V., Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *J Cell Biol.* 2018; 217: 459-472.

<https://doi.org/10.1083/JCB.201709069>.

Holtzman DM, Herz J, Bu G. Apolipoprotein E and Apolipoprotein E Receptors: Normal Biology and Roles in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2.

<https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006312>.

Hong S, Dissing-Olesen L, Stevens B. New insights on the role of microglia in synaptic pruning in health and disease. *Curr Opin Neurobiol.* 2016; 36: 128-34.

<https://doi.org/10.1016/J.CONB.2015.12.004>.

Hung SY, Fu WM. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *J Biomed Sci.* 2017; 24.

<https://doi.org/10.1186/S12929-017-0355-7>.

Huo X, Zhang Y, Jin X, Li Y, Zhang L. A novel synthesis of selenium nanoparticles encapsulated PLGA nanospheres with curcumin molecules for the inhibition of amyloid β aggregation in Alzheimer's disease. *J Photochem Photobiol B.* 2019; 190: 98-102.

<https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIO.2018.11.008>.

Hur JY. γ -Secretase in Alzheimer's disease. *Exp Mol Med.* 2022; 54: 433-46.

<https://doi.org/10.1038/S12276-022-00754-8>.

Hyun S, Shin D. Chemical-Mediated Targeted Protein Degradation in Neurodegenerative Diseases. *Life.* 2021; 11(7): 607.

<https://doi.org/10.3390/LIFE11070607>.

Ionescu-Tucker A, Cotman CW. Emerging roles of oxidative stress in brain aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2021; 107: 86-95.

<https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2021.07.014>.

Isaev NK, Stelmashook E V., Genrikhs EE. Neurogenesis and brain aging. *Rev Neurosci*. 2019; 30: 573–80.

<https://doi.org/10.1515/revneuro-2018-0084>

Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisoni GB, et al. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2016; 87(5): 539-47.

<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002923>

Jeganathan S, Von Bergen M, Brutlach H, Steinhoff HJ, Mandelkow E. Global hairpin folding of tau in solution. *Biochemistry*. 2006; 45: 2283–93.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16475817/>

Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*. 2020; 18: 1106-25.

<https://doi.org/10.2174/1570159X18666200528142429>

Kremer A, Louis J V., Jaworski T, Leuven F Van. GSK3 and Alzheimer's Disease: Facts and Fiction.... *Front Mol Neurosci*. 2011; 4. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2011.00017>.

Laversenne V, Nazeeruddin S, Källstig EC, Colin P, Voize C, Schneider BL. Anti-A β antibodies bound to neuritic plaques enhance microglia activity and mitigate tau pathology. *Acta Neuropathol Commun*. 2020; 8: 1–19.

<https://doi.org/10.1186/s40478-020-01069-3>

Lee JH, Yu WH, Kumar A, Lee S, Mohan PS, Peterhoff CM, et al. Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell*. 2010; 141: 1146–58.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.05.008>.

Leissring MA. A β -degrading proteases:therapeutic potential in Alzheimer disease. *CNS Drugs*. 2016; 30: 667-75.

<https://doi.org/10.1007/S40263-016-0364-1>.

Ling TS, Chandrasegaran S, Xuan LZ, Suan TL, Elaine E, Nathan DV, et al. The Potential Benefits of Nanotechnology in Treating Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2021; 2021.

<https://doi.org/10.1155/2021/5550938>.

Liu RM. Aging, Cellular Senescence, and Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(4): 1989.

<https://doi.org/10.3390/IJMS23041989>.

Liu X, Li F, Stubblefield EA, Blanchard B, Richards TL, Larson GA, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts into dopaminergic neuron-like cells. *Cell Res*. 2012; 22: 321-32.

<https://doi.org/10.1038/CR.2011.181>.

Liu Y, Weick JP, Liu H, Krencik R, Zhang X, Ma L, et al. Medial ganglionic eminence–like cells derived from human embryonic stem cells correct learning and memory deficits. *Nat Biotechnol*. 2013; 31: 440-47.

<https://doi.org/10.1038/NBT.2565>.

Luo R, Su LY, Li G, Yang J, Liu Q, Yang LX, et al. Activation of PPARA-mediated autophagy reduces Alzheimer disease-like pathology and cognitive decline in a murine model. *Autophagy*. 2020; 16: 52-69.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30898012/>

Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, et al. Decreased Clearance of CNS Amyloid- β in Alzheimer's Disease. *Science*. 2010; 330: 1774.

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1197623>

Murphy MP, Levine H. Alzheimer's Disease and the β -Amyloid Peptide. *J Alzheimers Dis*. 2010; 19: 311-23.

<https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1221>.

Nalivaeva NN, Turner AJ. Targeting amyloid clearance in Alzheimer's disease as a therapeutic strategy. *Br J Pharmacol*. 2019; 176: 3447-63. <https://doi.org/10.1111/BPH.14593>.

Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, Fukutaki K, Chalek J, Abd-Allah F, et al. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health*. 2022; 7: e105-e125.

[https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8).

Nisticò R, Borg JJ. Aducanumab for Alzheimer's disease: A regulatory perspective. *Pharmacol Res*. 2021; 171: 105754.

<https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2021.105754>.

Nixon RA. The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med*. 2013; 19: 983–97.

<https://doi.org/10.1038/nm.3232>.

Nixon RA, Yang DS. Autophagy failure in Alzheimer's disease: locating the primary defect. *Neurobiol Dis*. 2011; 43: 38–45.

<https://doi.org/10.1016/J.NBD.2011.01.021>.

Padda IS, Parmar M. Aducanumab. [en línea]. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Enero 2023. [Consultado en Junio 2023].

Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573062/>

Parnetti L, Chipi E, Salvadori N, D'Andrea K, Eusebi P. Prevalence and risk of progression of preclinical Alzheimer's disease stages: A systematic review and meta-analysis. *Alz Res Therapy*. 2019; 11: 1–13.

<https://doi.org/10.1186/S13195-018-0459-7>

Pascoal TA, Leuzy A, Therriault J, Chamoun M, Lussier F, Tissot C, et al. Discriminative accuracy of the A/T/N scheme to identify cognitive impairment due to Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2023; 15.

<https://doi.org/10.1002/DAD2.12390>.

Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017.

<https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.

Qin Q, Yin Y, Wang Y, Lu Y, Tang Y, Jia J. Gene mutations associated with early onset familial Alzheimer's disease in China: An overview and current status. *Mol Genet Genomic Med*. 2020; 8(10).

<https://doi.org/10.1002/MGG3.1443>.

Salter MW, Stevens B. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nature Medicine*. 2017; 23: 1018–27.

<https://doi.org/10.1038/nm.4397>.

Scheepstra M, Hekking KFW, van Hijfte L, Folmer RHA. Bivalent Ligands for Protein Degradation in Drug Discovery. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019; 17:160-176. <https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2019.01.006>.

Selkoe DJ. Alzheimer's disease: Genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*. 2001; 81: 741–66. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.2001.81.2.741/ASSET/IMAGES/LARGE/9J0210134004.JPEG>.

Sims R, Hill M, Williams J. The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2020; 23:3. 2020; 23: 311–22. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0599-5>.

Song C, Shi J, Zhang P, Zhang Y, Xu J, Zhao L, et al. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting β -amyloid and beyond. *Transl Neurodegener*. 2022; 11: 1–17. <https://doi.org/10.1186/S40035-022-00292-3>

Stelzmann RA, Norman Schnitzlein H, Reed Murtagh F. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde." *Clinical Anatomy*. 1995; 8: 429–31. <https://doi.org/10.1002/CA.980080612>.

De Strooper B, Karran E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Cell*. 2016; 164: 603–15. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.12.056>.

Sun Xiao ying, Yu X lin, Zhu J, Li L jie, Zhang Lun, Huang Y ru, et al. Fc effector of anti-A β antibody induces synapse loss and cognitive deficits in Alzheimer's disease-like mouse model. *Signal Transduct Target Ther*. 2023; 8: 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01273-8>.

Swanson CJ, Zhang Y, Dhadda S, Wang J, Kaplow J, Lai RYK, et al. A randomized, double-blind, phase 2b proof-of-concept clinical trial in early Alzheimer's disease with lecanemab, an anti-A β protofibril antibody. *Alz Res Therapy*. 2021; 13. <https://doi.org/10.1186/S13195-021-00813-8>.

Tashima T. Delivery of Intravenously Administered Antibodies Targeting Alzheimer's Disease-Relevant Tau Species into the Brain Based on Receptor-Mediated Transcytosis. *Pharmaceutics*. 2022; 14. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14020411>.

Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, Yndart A, Nair M. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int J Nanomedicine*. 2019; 14: 5541. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200490>.

Tracy TE, Madero-Pérez J, Swaney DL, Chang TS, Moritz M, Konrad C, et al. Tau interactome maps synaptic and mitochondrial processes associated with neurodegeneration. *Cell*. 2022; 185: 712-728. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.12.041>.

Turner RS, Hebron ML, Lawler A, Mundel EE, Yusuf N, Starr JN, et al. Nilotinib Effects on Safety, Tolerability, and Biomarkers in Alzheimer's Disease. *Ann Neurol*. 2020; 88: 183-194. <https://doi.org/10.1002/ANA.25775>.

Upadhy SC, Hegde AN. Role of the ubiquitin proteasome system in Alzheimer's disease. *BMC Biochem*. 2007; 8: S12. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-8-S1-S12>.

Vaz M, Silva V, Monteiro C, Silvestre S. Role of Aducanumab in the Treatment of Alzheimer's Disease: Challenges and Opportunities. *Clin Interv Aging*. 2022; 17: 797-810.

<https://doi.org/10.2147/CIA.S325026>.

Verger A, Yakushev I, Albert NL, van Berckel B, Brendel M, Cecchin D, et al. FDA approval of lecanemab: the real start of widespread amyloid PET use? the EANM Neuroimaging Committee perspective. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2023; 50: 1553-1555.
<https://doi.org/10.1007/S00259-023-06177-5>.

Vilella A, Belletti D, Sauer AK, Hagemeyer S, Sarowar T, Masoni M, et al. Reduced plaque size and inflammation in the APP23 mouse model for Alzheimer's disease after chronic application of polymeric nanoparticles for CNS targeted zinc delivery. *J Trace Elem Med Biol*. 2018; 49: 210–21.
<https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2017.12.006>.

Wang DS, Dickson DW, Malter JS. β -Amyloid Degradation and Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2006; 2006: 1–12.
<https://doi.org/10.1155/JBB/2006/58406>.

Wang W, Zhou Q, Jiang T, Li S, Ye J, Zheng J, et al. A novel small-molecule PROTAC selectively promotes tau clearance to improve cognitive functions in Alzheimer-like models. *Theranostics*. 2021; 11: 5279-95.
<https://doi.org/10.7150/THNO.55680>.

Wani A, Al Rihani SB, Sharma A, Weadick B, Govindarajan R, Khan SU, et al. Crocetin promotes clearance of amyloid- β by inducing autophagy via the STK11/LKB1-mediated AMPK pathway. *Autophagy*. 2021; 17: 3813–32. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1872187>.

Wes PD, Sayed FA, Bard F, Gan L. Targeting microglia for the treatment of Alzheimer's Disease. *Glia*. 2016; 64: 1710–32.
<https://doi.org/10.1002/GLIA.22988>.

Withington CG, Turner RS. Amyloid-Related Imaging Abnormalities With Anti-amyloid Antibodies for the Treatment of Dementia Due to Alzheimer's Disease. *Front Neurol*. 2022; 13: 862369.
<https://doi.org/10.3389/FNEUR.2022.862369>.

Wong ASL, Cheung ZH, Ip NY. Molecular machinery of macroautophagy and its deregulation in diseases. *Biochim Biophys Acta, Mol Basis Dis*. 2011; 1812: 1490–97.
<https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2011.07.005>.

World Health Organization. Dementia. 2023 [en línea]. [Consultado en Julio 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>

Wu KM, Zhang YR, Huang YY, Dong Q, Tan L, Yu JT. The role of the immune system in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2021; 70: 101409.
<https://doi.org/10.1016/J.ARR.2021.101409>.

Wu L, Rosa-Neto P, Hsiung GYR, Sadovnick AD, Masellis M, Black SE, et al. Early-onset familial Alzheimer's disease (EOFAD). *Can J Neurol Sci*. 2012; 39: 436–45.
<https://doi.org/10.1017/S0317167100013949>.

Yamanaka S. Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy—Promise and Challenges. *Cell Stem Cell*. 2020; 27: 523–31.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.014>.

Yousefizadeh A, Piccioni G, Saidi A, Triaca V, Mango D, Nisticò R. Pharmacological targeting of microglia dynamics in Alzheimer's disease: Preclinical and clinical evidence. *Pharmacol Res.* 2022; 184: 106404.

<https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2022.106404>

Yu TW, Lane HY, Lin CH. Novel Therapeutic Approaches for Alzheimer's Disease: An Updated Review. *Int J Mol Sci.* 2021; 22.

<https://doi.org/10.3390/IJMS22158208>.

Zeng Q, Li L, Siu W, Jin Y, Cao M, Li W, et al. A combined molecular biology and network pharmacology approach to investigate the multi-target mechanisms of Chaihu Shugan San on Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother.* 2019; 120: 109370.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109370>.

Zhang G, Wang Z, Hu H, Zhao M, Sun L. Microglia in Alzheimer's Disease: A Target for Therapeutic Intervention. *Front Cell Neurosci.* 2021; 15: 749587.

<https://doi.org/10.3389/FNCEL.2021.749587>

Zhang Z, Yang X, Song YQ, Tu J. Autophagy in Alzheimer's disease pathogenesis: Therapeutic potential and future perspectives. *Ageing Res Rev.* 2021; 72: 101464.

<https://doi.org/10.1016/J.ARR.2021.101464>.