



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**

TESIS DOCTORAL

**INMUNOLocalización DE LA SUSTANCIA P Y DEL RECEPTOR NK1
EN LAS ESTRUCTURAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL IMPLICADAS EN
LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER-KRAEPELIN**

Amparo Murciano Rosado

Sevilla 2015

Agradecimientos

Mi más profundo agradecimiento a mis directores de tesis. Al Dr. D. Miguel Muñoz Sáez por su amor por el conocimiento, su necesidad de transmitir su saber y entusiasmo a todo el que esté dispuesto a recibirlo.

A la Dra. Dña. Inmaculada Bueno Rodríguez por su dedicación, paciencia y disponibilidad. Por su Amistad desde la infancia y por liarme en este mundo de la investigación.

A mi bisabuelo Ramón, mi abuelo Gabriel, mi tía Carmen y mi tío y padrino Ramón, a mis hermanos Antonio y Montserrat y a mi sobrina M^a Paz, tronco y sabia antigua y nueva del amor por la medicina familiar.

A todos mis compañeros y amigos que me han facilitado la realización de este trabajo.

A Dña Ana Moreno, responsable de Doctorado de la Universidad de Sevilla, por sus consejos y orientación que han sido claves.

A Dña Isabel M^a Rodríguez del Nodo coordinador del Biobanco del SSPA, Dña Carolina Castilla, del Nodo de Biobanco de Sevilla y a Dña Carmen Pérez del Nodo de Biobanco de Córdoba, por su interés y disponibilidad en la gestión de las muestras.

A D. Andrés Carranza, Patólogo de Hospital Universitario Virgen del Rocío y Dña María García Martos, Patóloga del Hospital Universitario del Sureste de Madrid, por su disponibilidad y colaboración en el proceso de inmunohistoquímica.

A mi padre, por los consejos y por el amor que me han brindado siempre, por ser un ejemplo de generosidad, trabajo, honradez y por estar ahí.

A mis hermanos, que me han ofrecido siempre su ayuda sus palabras de ánimo y su ejemplo. A mis sobrinos, en especial a Javier, con los que he compartido horas de estudio.

A Manu, mi marido, por su apoyo y paciencia, y por haber padecido mi ausencia.

Espero que este trabajo aporte un grano de arena, un poco de luz a la ciencia en la búsqueda de la mejor manera de manejar el manejo terapéutico y pronóstico de los pacientes con Alzheimer, por todos nuestros pacientes, sus familias y los venideros.

Tengo presente a Dios en todo lo que hago, que me acompaña y me da fuerzas. Mi fe en Dios me guía y me ayuda en los momentos difíciles, es el pilar de mi vida.

A mamá, luz y guía de todos mis pasos.

*Y voy apaciguando las palabras,
las acaricio, las ordeno y, dueño,
las reparto y las lanzo, bien maduras,
a la cara del hombre de mi tiempo*

Antonio Murciano

**DR. D. MIGUEL MUÑOZ SÁEZ, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA POR LA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

CERTIFICA:

Que bajo su dirección la Licenciada en Medicina y cirugía, Dña. Amparo Murciano Rosado, ha realizado el trabajo titulado "Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer -Kraepelin"

Reuniendo todas las características exigibles desde el punto legal y científico para que con su defensa pueda alcanzar el título de Doctora por la Universidad de Sevilla.

Sevilla a 10 de diciembre de dos mil quince.



Fdo.: Dr. D. Miguel Muñoz Sáez

**DRA. DÑA. INMACULADA BUENO RODRÍGUEZ, DOCTORA EN MEDICINA Y
CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

CERTIFICA:

Que bajo su dirección la Licenciada en Medicina y cirugía, Dña. Amparo Murciano Rosado, ha realizado el trabajo titulado "Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer -Kraepelin"

Reuniendo todas las características exigibles desde el punto legal y científico para que con su defensa pueda alcanzar el título de Doctora por la Universidad de Sevilla.

Sevilla a 10 de diciembre de dos mil quince.

Fdo.: Dra. Dña. Inmaculada Bueno Rodríguez



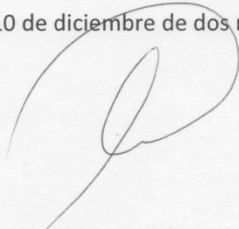
**DR. D. FRANCISCO ESTEBAN ORTEGA, PROFESOR ASOCIADO DEL
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

CERTIFICA:

Que bajo su tutorización, la Licenciada en Medicina y cirugía, Dña. Amparo Murciano Rosado, ha realizado el trabajo titulado "Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer -Kraepelin"

Reuniendo todas las características exigibles desde el punto legal y científico para que con su defensa pueda alcanzar el título de Doctora por la Universidad de Sevilla.

Sevilla a 10 de diciembre de dos mil quince.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'F' followed by a surname, written over a circular scribble.

Fdo.: Dr. D. Francisco Esteban Ortega

**DÑA. AMPARO MURCIANO ROSADO, LICENCIADA EN MEDICINA POR
LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

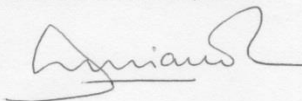
CERTIFICA:

Que es la autora del trabajo titulado "Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer -Kraepelin"

Este trabajo ha sido dirigido por D. Miguel Muñoz Sáez, doctor en Medicina y Cirugía y tutorizado por D. Francisco Esteban Ortega, profesor asociado del departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Y para que así conste, se expide el presente certificado

Sevilla a 10 de diciembre de dos mil quince.



Fdo.: Dña. Amparo Murciano Rosado.

Índice general

1. Introducción	17
1.1. Justificación	17
1.2. Enfermedad de alzheimer o demencia tipo alzheimer –kraepelin	17
1.2.1. Definición	17
1.2.2. Historia	20
1.2.3. Epidemiología.....	22
1.2.4 Características clínicas de la EA.....	23
1.2.5. Neuropatología en la EA:	24
1.2.6. Genética en la EA	31
1.2.7. Fisiopatología de la EA.....	34
1.2.8. Clasificación de EA.....	60
1.2.9. Criterios diagnósticos de la EA	61
1.2.10. DIANAS TERAPEÚTICAS.....	64
1.3. SUSTANCIA P Y RECEPTOR NK-1	69
1.3.1 NEUROTRANSMISIÓN	69
1.3.2. NEUROPEPTIDOS.....	72
1.3.3. COEXISTENCIA-COTRANSMISIÓN	75
1.3.4. TAQUICININAS.....	76
1.3.5. RECEPTORES TAQUICINÉRGICOS.....	82
1.3.6. SUSTANCIA P	89
1.3.7. Distribución y funciones de las taquicininas	92
1.3.7.1. Distribución y funciones de las taquicininas en el sistema nervioso central: SNC.....	92
1.3.7.2. Distribución y funciones de las Taquicininas en tejidos periféricos:	95
1.3.8. Fisiopatología relacionada con la SP y NK1R	98
1.3.9. ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES NK1	112
1.3.9.1. ANTAGONISTAS PEPTÍDICOS	113
1.3.9.2. ANTAGONISTAS NO PEPTÍDICOS	114
1.3.9.3. USOS TERAPÉUTICOS DE LOS ANTAGONISTAS RNK1.....	116
2. Hipótesis y objetivos del trabajo	125
3. Material y método	127

3.1. Metodología y plan de trabajo	127
3.2. Datos clínicos de los pacientes	127
3.3. Metodología del estudio inmunohistoquímico de la SP y el RNK1.....	131
4. RESULTADOS	135
5. DISCUSIÓN.....	149
6. RESUMEN	179
7. CONCLUSIONES.....	181
8. BIBLIOGRAFÍA.....	183

Índice de figuras

Figura 1. Zonas afectadas en EA en relación con su función	19
Figura 2. Progresión en el deterioro de las actividades cotidianas.....	23
Figura 3. Sucesión de parámetros biológicos y clínicos en la enfermedad de Alzheimer. DCL: deterioro cognitivo leve; SPCD: síntomas psicológicos y conductuales de demencia (López-Álvarez J et al, 2015).....	24
Figura 4. Cerebro normal y EA	25
Figura 5. Factores genéticos asociados a la EA	33
Figura 6. Los procesos causados por A β y las intervenciones terapéuticas disponibles. (T. Jiang et al.2012)	35
Figura 7. Vías amiloidogénica y no amiloidogénica, lugar de acción de posibles terapias modificadoras de enfermedad.....	37
Figura 8. Placa beta-amiloide en preparación post-mortem de tejido cerebral de un paciente con EA.....	37
Figura 9. Estructura y procesamiento del APP.....	38
Figura 10. Neuronas que contienen ovillos neurofibrilares.....	40
Figura 11. Representación esquemática de un hemisferio de un sujeto normal (izquierda) y un hemisferio de una persona afectada por EA (derecha).	41
Figura 12. Esquema de la patogénesis de la EA en el que la proteína tau juega un papel central	42
Figura 13. Diagrama de un receptor nicotínico cerebral (nAChR).....	44
Figura 14. disfunciones mitocondriales en la EA. (Hroudová J et al, 2014)	47
Figura 15. Cascada inflamatoria mediada por la glía	49
Figura 16. La microglia y la neuroinflamación	50

Figura 17. Efectos de Microglía activada (Ying Li et al , 2014)	52
Figura 18. Activación de la microglía en la EA (Ying Li et al 2014)	52
Figura 19. Efectos de las especies reactivas al oxígeno en el cerebro (Angoa M, 2007)	54
Figura 20. Potential pathways of susceptibility genes involved in the pathogenesis of AD.(Zhangyu Zou, et al 2014).....	56
Figura 21. Esquema de los diversos tipos de neuronas (Saunders Company. 2002).....	70
Figura 22. Esquema de los diversos tipos de células neurogliales ((Saunders Company. 2002)	71
Figura 23. Representación esquemática de una sinapsis química (Imagen tomada de Tortora & Derrickson, 2009, capítulo 12).....	72
Figura 24. Figura. Esquema del proceso general de síntesis neuronal de las TK a partir de los genes <i>TAC1</i> , <i>TAC3</i> y <i>TAC4</i> (Modificado de Pennefather JN et al., 2004)	80
Figura 25. Organización de los exones en los genes de TK de diferentes especies de mamíferos (Figura tomada de Page, 2005, p. 1358).	82
Figura 26. Estructura de un receptor de la familia de los Receptores acoplados a Proteínas G o de los siete dominios transmembranas. Se ilustra una representación del receptor en tres dimensiones. (Procedente de visual life science).	83
Figura 27. Regulación de la Proteína G trimérica (figura procedente de Cooper´s MARBAN).	84
Figura 28. Esquema modelo del receptor NK-1. Constituido por 407 aminoácidos. Contiene un extremo N-terminal extracelular, siete dominios que atraviesan la membrana, 3 bucles extracelulares (ECL1, ECL2, ECL3) y 3 bucles intracelulares (ICL1, ICL2, ICL3). (Imagen tomada de Steinhoff MS et al. 2014).	86
Figura 29. Receptores de las Neuroquininas y sus ligandos.	87
Figura 30. Imágenes tridimensionales de la SP.....	90
Figura 31. Mecanismo de acción de la SP (Modificado de Muñoz M et al. 2011b).	91
Figura 32. Iniciación inflamatoria neurogénica de edema vasogénico (Lewis KM et al, 2013)	99
Figura 33. Representación esquemática del mecanismo molecular en la comunicación entre células nerviosas y mastocitos.	103
Figura 34. Diferenciación de las células Th.	103
Figura 35. Aportes de taquiquininas y receptores de neuroquinina a la inflamación neurogénica y el dolor (Li Y et al, 2014).	111
Figura 36. La SP y el aprepitant (bloqueante del RNK1) Tienen distintos sitios de unión al RNK1. El antagonista se une a los segmentos profundos transmembranas de RNK1 y la SP a las hélices extracelulares del RNK1 (Muñoz M, 2011b, página 2).	113
Figura 37. Representación tridimensional de la estructura química de L-732,138 (a), L- 733,060 (b) y aprepitant (c). Los átomos de carbono están representados en gris,	

	hidrógeno en blanco, nitrógeno en azul, oxígeno en rojo y flúor en amarillo (Modificado de Rosso ML, Muñoz M y Berger, 2012, p. 10).....	115
Figura 38.	Los antagonistas de los RNK1 podrían bloquear la fisiopatológico acciones mediadas por la SP (Muñoz y Coveñas, 2014)	116
Figura 39.	Acciones antagonistas RNK1 (Muñoz y Coveñas, 2015).	123
Figura 40.	Figura: Desarrollo de los cambios neurofibrilares desde el estadio I hasta el estadio VI en la formación hipocampal,regiones entorrinal y transentorrinal y la neocorteza temporal. U: Uncus; Pa: Parasubiculum; Pr: Presubiculum;S: Subiculum; RE: Región Entorrinal; RT: Región Transentorrinal; IT: Isocorteza Temporal; CA1: PrimerSector de la Callosidad del Cuerpo Ammon. (Modificado de Braak y cols., 1995).	130
Figura 41.	Anatomía del Hipocampo.....	137

Índice de tablas

Tabla 1.	Diferencias entre los criterios NINCDS-ARDRA y NIA-AA.....	63
Tabla 2.	Clasificación de los neurotransmisores según el tipo de molécula y mecanismo de acción (Guyton & Hall, 2011 modificada)	75
Tabla 3.	Estructura de las Taquicininas. (en negrita se destaca el residuo que varía dentro de la estructura conservada, marcada como subrayado).....	78

1. Introducción

1.1. Justificación

La EA es reconocida en la actualidad como un problema creciente en el orden médico, epidemiológico, sociológico y económico. Se estima que al nivel mundial esta enfermedad afecta entre 18 y 22 millones de personas, y esta cifra llegará a 34 millones en el año 2025, fecha para la cual la población mayor de 65 años se duplicará de 390 a 800 millones (Robert PH, 2005; Barry R. 1996). La Enfermedad de Alzheimer es la demencia más prevalente. Es progresiva y limitante para el paciente, además del deterioro cognitivo y funcional característico de estos pacientes, se añaden alteraciones neuropsicológicas, con trastornos de conducta que pueden ser severos, generando deterioro en los pacientes y gran sobrecarga en sus cuidadores. A esto se suman las consecuencias emocionales, así como la repercusión a nivel social, que conllevan un deterioro en la calidad de vida de los pacientes. Asimismo este tipo de demencia tiene importantes repercusiones económicas desde el punto de vista de la necesidad de atención sanitaria, la morbilidad y el aumento de mortalidad que se asocia. Requieren alto consumo de recursos sociales, precisando muchos de ellos ingresos hospitalarios frecuentes y/o la institucionalización en centro residencial, por difícil manejo domiciliario.

Por todo ello, desde hace años se está realizando una ardua investigación en el campo de la enfermedad de Alzheimer para mejorar el conocimiento de su fisiopatología así como en búsqueda de sustancias que ayuden a preservar la integridad neuronal, disminuyendo así los efectos deletéreos de la neurodegeneración.

1.2. Enfermedad de Alzheimer o demencia tipo Alzheimer –Kraepelin

1.2.1. Definición

La Enfermedad de Alzheimer-Kraepelin (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo e irreversible. Se define por placas con depósitos extracelulares del péptido betaamiloide ($A\beta$) y la formación intracelular de ovillos neurofibrilares (ONF), integrados por proteína tau hiperfosforilada –la cual se asocia al microtúbulo hiperfosforilado– y neuritas distróficas –tales como densidades sinápticas reducidas–, particularmente en la región del cerebro involucrada en el aprendizaje y la memoria (Thompson A et al. 2008). Todo lo cual conduce a incapacidad cognitiva y conductual grave y a la muerte. Actualmente no hay cura para la EA. Los

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

tratamientos comunes gravitan en la terapia farmacológica y ocupacional (Gil-Gregorio P 2008).

A nivel práctico, ante un paciente con deterioro cognitivo, debemos plantearnos si éste ha sido de instauración aguda (delirium o síndrome confusional), o insidiosa o crónica (demencia). En ambos casos deberemos estudiar el posible factor desencadente. Dentro de las demencias, hay diferentes etiologías, siendo la EA la más frecuente.

Concepto de demencia: La palabra demencia proviene del latín, deriva de "dementia, dementiae" que significa estado de deterioro progresivo de las facultades mentales, caracterizado por la disminución o pérdida de la mente, es decir, ausencia de pensamiento, caracterizado en líneas generales por un curso crónico. Rasgos que hacen clara la diferenciación con el delirium (RAE).

Síndrome Confusional agudo (Delirium): Constituye uno de los diagnósticos diferenciales del síndrome demencia. Es un síndrome clínico caracterizado por una alteración aguda o subaguda de la conciencia/atención y de las capacidades mentales, y con una tendencia a las fluctuaciones a lo largo del día. Este trastorno acostumbra a ser reversible, de corta duración y acompañarse de manifestaciones asociadas en los ámbitos del ciclo vigilia-sueño, comportamiento psicomotor y emociones.

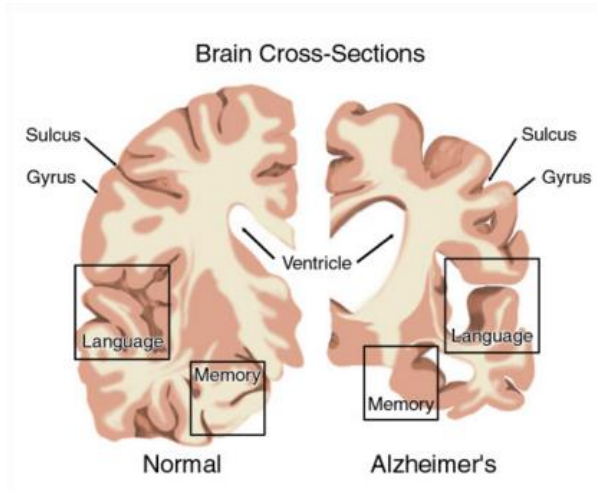
Es importante reconocer sus rasgos clínicos, factores de riesgo y los datos diferenciales con la demencia. Factores de riesgo más comunes son edad, la polifarmacia, y las enfermedades médicas concomitantes. Las variables que predicen la aparición de delirium en ancianos son la afectación cognitiva, la comorbilidad médica, depresión y alcoholismo (Bermejo et al 2002).

La demencia es un síndrome clínico plurietiológico, que implica deterioro intelectual respecto a un nivel previo, por lo general crónico, pero no necesariamente irreversible ni progresivo. Este deterioro intelectual implica una afectación de las capacidades funcionales del sujeto, suficiente para interferir sus actividades sociolaborales (G^a de la Rocha ML et al. 2002). Caracterizándose por un déficit adquirido en más de un dominio cognitivo, que reduce de forma significativa la autonomía funcional. Tanto el deterioro de la memoria como el del pensamiento y el razonamiento deben mostrarse con estudio neuropsicológico y ser informados por un explorador. Se apunta que el déficit cognitivo se acompaña, por lo general, u ocasionalmente es precedido, por un deterioro en el control emocional, el comportamiento social o en la motivación. El deterioro en la actividad cotidiana depende en buena medida de factores socioculturales. La demencia cursa frecuentemente con síntomas conductuales y psicológicos (SCPD), también denominados síntomas conductuales y emocionales o síntomas neuropsiquiátricos. Aproximadamente un 80% de los enfermos con demencia presenta SCPD en algún momento de su evolución (Molinuevo JL et al. 2009). Desde el punto de vista clínico, el conocimiento de algunos rasgos diferenciales van a influir en diagnóstico diferencial y por tanto hay que realizar evaluación para identificar posibles demencias reversibles, o cuadro

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

agudo diferenciándolo claramente, del cuadro del delirium o estado confusional agudo. Este último puede superponerse a cuadro con demencia de base.

Figura 1. Zonas afectadas en EA en relación con su función



Causas de demencia: Las más relevantes y/o potencialmente reversibles

Vasculares: multiinfarto, estado lacunar, enfermedad de binswanger, infarto estratégico

vasculitis: lupus, panarteritis nodosa, arteritis de la arteria temporal.

Infecciosas: complejo demencia-sida, neurolúes, encefalitis herpética, enfermedad de whipple, meningoencefalitis brucelosa, tuberculosa, otras. Abscesos cerebrales.

Tóxicas: Etilismo crónico, fármacos.

Neoplásicas: tumores cerebrales primarios o metastásicos, síndromes paraneoplásicos, meningitis carcinomatosa.

Traumáticas: Hematoma subdural crónico, demencia postraumática, demencia pugilística.

Desmielinizantes: esclerosis múltiple.

Miscelánea: Hidrocefalia normotensiva, Epilepsia, Sarcoidosis cerebral (Alayón A et al. 2009)

La EA es un proceso degenerativo cerebral caracterizado por el depósito patológico de sustancias proteicas insolubles dentro y fuera de las neuronas, lo que se acompaña de una aceleración en el ritmo normal de pérdida celular que acontece con el paso del tiempo. La EA es la forma más común de demencia, es incurable y progresiva. Aparece con mayor frecuencia

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

en personas mayores de 65 años de edad. Por lo general, el síntoma inicial es la inhabilidad para adquirir nuevas memorias, pero suele confundirse con actitudes relacionadas con el proceso de envejecimiento o el estrés. Ante la sospecha de Alzheimer, el diagnóstico se realiza con evaluaciones de conducta y cognitivas, así como pruebas de neuroimagen

Las estrategias farmacológicas diseñadas para rescatar o proteger el tejido dañado van orientadas bien a promover el crecimiento y la función neuronal, bien a interferir con los procesos neurotóxicos subyacentes (Saura C. 2012)

1.2.2. Historia

El patólogo alemán Alois Alzheimer, que vivió entre los años 1864 - 1915. Celebrándose en 2015 el centenario de su fallecimiento (Egelhardt E et al. 2015).

Fue el 3 de noviembre de 1906, cuando Alzheimer el neurocientífico alemán presentó el caso clínico y los hallazgos patológicos resultados de la autopsia de una mujer de 51 años, llamada Auguste D, que había padecido una grave demencia (Alzheimer A. 1907), en una reunión de Psiquiatras (XXXVII Reunión de Psiquiatras del Suroeste de Alemania celebrada en Tübingen) publicándose el caso en 1907, titulado " Sobre una enfermedad peculiar (enigmática) del córtex cerebral". Y en 1910, Kraepelin la identifica como entidad diferenciada e inmortaliza el apellido Alzheimer (Martinez Lage JM et al. 2006). Los síntomas de la enfermedad como una entidad nosológica definida fueron identificados por Emil Kraepelin (1856-1926), mientras que la neuropatología característica fue observada por primera vez por Alois Alzheimer en 1906. Así pues, el descubrimiento de la enfermedad fue obra de ambos psiquiatras que trabajaban en el mismo laboratorio, en Munich, Alemania. Sin embargo, dada la gran importancia que Kraepelin daba a encontrar la base neuropatológica de los desórdenes psiquiátricos, decidió nombrar la enfermedad Alzheimer en honor a su compañero (Albert MJ et al, 2014).



Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Cuando Alzheimer publicó su primer caso, Auguste D, quedó intrigadísimo por la edad de inicio del cuadro (51 años), por sus síntomas y por la enorme abundancia de ONF neocorticales, intraneuronales que se teñían con el método argéntico de Bielchowsky. La del precipitado de plata había sido descubierto por Golgi en 1873, la del nitrato de plata reducido por Cajal en 1903 ([Engelhardt E et al.2015](#)). Junto con las preparaciones del segundo enfermo, Johann F., increíblemente las muestras sobrevivieron a dos guerras mundiales



Auguste Deter

Si Alzheimer publicó el caso el 3 de noviembre de 1906, un mes después, el 10 de diciembre de Santiago Ramón y Cajal (1952-34) y Camilo Golgi (1943-26) recibieron el Premio Nobel "en reconocimiento a su trabajo en la estructura del sistema nervioso". Estos hechos parecen no estar relacionados, pero en el Museo Cajal existen 37 preparaciones histológicas de material de pacientes que sufren de la EA, revelando que Cajal estudió también esta enfermedad (García-Marin et al 2007).



Resulta sorprendente que muy pocas de las enseñanzas de Alzheimer han tenido que ser revisadas o corregidas. (Martinez Lage JM et al. 2006).

El motivo por el que Kraepelin bautizó a la enfermedad fue basado en la estrecha colaboración entre ambos Kraepelin y Alzheimer. Kraepelin reconoció el mérito de su descripción anatomoclínica (Martinez Lage JM, Khachaturian ZS. 2011) .

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

A principios del siglo xx, el término 'demencia' servía para designar todo tipo de enfermedades mentales. Los hallazgos neuropatológicos descritos por Alzhiemer, sin embargo, estos hallazgos se consideraron muy raros durante muchos años, ya que la causa de la demencia que era descrita como habitual era el 'endurecimiento de las arterias'. (Thomas M et al 1987). Durante mucho tiempo, las denominaciones de demencia 'senil' y 'presenil' en función de la edad de aparición del cuadro clínico, se mantuvieron como si fueran entidades nosológicas diferenciadas, pero en los años sesenta el grupo de Blessed demostró que aquellos pacientes con demencia senil eran indistinguibles neuropatológica y clínicamente de aquellos casos más jóvenes descritos como enfermedad de Alzheimer (EA)(Blessed G, 1968)

La base de la Hipótesis colinérgica, en 1968 aparece L-Dopa, primer medicamento que controlaba de manera espectacular los síntomas de la EP, ya se había demostrado que en la E Parkinson el núcleo estriado deja de sintetizar dopamina por denervación nigroestriatal. En este contexto David Drachman dedicó su esfuerzo para estudiar las bases de la memoria, en 1974 compara la pérdida de memoria de pacientes de EA con la que ocurren a los pacientes tratados con escopolamina, que se usaba como anestésico y borraba la memoria durante el acto quirúrgico. La escopolamina anula la acción de la acetilcolina, que es esencial para formar memorias, evocar recuerdos y para el aprendizaje, formulando la hipótesis de que en la EA podría existir déficit de acetilcolina.

Así surgieron los primeros medicamentos, la tacrina, se utilizaba por anestesistas tras la cirugía para revertir efectos de la escopolamina, con inicialmente excelente respuesta, que no se verificó en estudios posteriores, donde además se detectó hepatotoxicidad grave, por lo que cayó en desuso. Apareciendo anticolinestarásicos de 2ª generación, como donezepilo en 1996, rivastigmina en 1998, y galantamina en 2000, todos ellos mejoran temporalmente la sintomatología, pero no detienen el avance de la enfermedad.

Además, existe en la EA una disfunción glutamatérgica (hiperfunción) con excitotoxicidad y muerte neuronal. En 2002, se aprobó el uso de memantina, antagonista del receptor N-metil-D-aspartato, para tratar a los enfermos en fase moderada a grave (Molinuevo JL et al, 2009)

1.2.3. Epidemiología

Hoy en día, la EA se ha convertido en la enfermedad neurodegenerativa progresiva más común y la forma más común de demencia entre las personas de edad (Jiang T. et al 2012 y 2013).

Afecta a 24,3 millones de personas en el mundo y las proyecciones para el año 2040 alcanzarán a 81,1 millones de pacientes con EA (Ferri CP, 2005).

Todos los estudios epidemiológicos han confirmado que la edad es el principal factor de riesgo para el desarrollo de una demencia; de manera que tanto la prevalencia como la incidencia prácticamente se duplican cada 5 años a partir de los 65 años de edad (Rocca WA 1991).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Dado el incremento de la esperanza de vida y el progresivo envejecimiento de la población en los países desarrollados y en vías de desarrollo, se comprende que la demencia represente un enorme reto para los sistemas de salud públicos de esas sociedades.

Diferentes revisiones sistemáticas sobre estudios epidemiológicos realizados en Europa han concluido que la prevalencia de la demencia oscila entre el 5-10% entre la población de más de 65 años (Lobo A et al 2000; Qiu C et al 2007; Berr C et al. 2005) y que existen unos 5 millones de personas enfermas (Waldemar G et al. 2007). Existe también coincidencia en que la EA es la demencia más frecuente (60-70% de los casos, seguida de la demencia vascular 12,5-25%) (Qiu C, 2007).

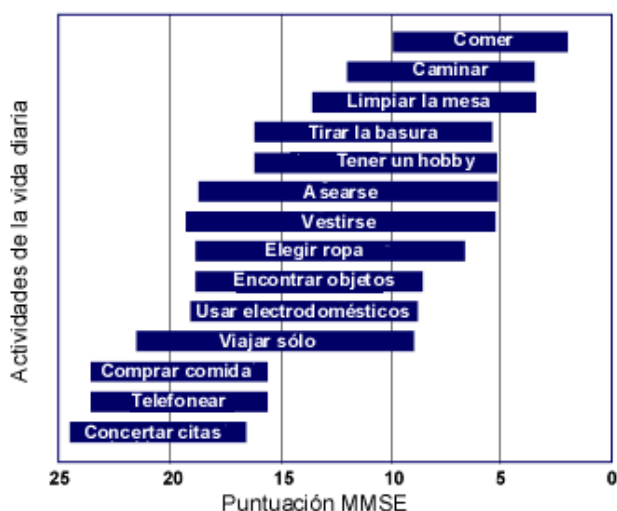
En España, los estudios epidemiológicos en la población de más de 65 años han mostrado cifras de prevalencia que oscilan entre el 5-14,9% y en el grupo de más de 70 años entre el 9-17,2%. (Molinuevo JL et al, 2009; Casado I. et al. 2009).

A nivel europeo el estudio EURODEM (investigación epidemiológica multicéntrica de demencias) ha recogido datos epidemiológicos de diferentes países, aportando información de gran interés. Los resultados publicados a partir de 1999 arrojan importantes datos de la frecuencia e impacto de enfermedades neuropsiquiátricas en ancianos europeos. En relación con las demencias estimó que aproximadamente 3.286.000 personas en la UE la padecen y que surgen 824.000 casos nuevos por año. (eurodem) (Launer LJ, 2000).

1.2.4 Características clínicas de la EA

La EA es una condición neurodegenerativa progresiva con rasgos clínicos y patológicos distintivos. Comienza de manera insidiosa y se caracteriza por un deterioro progresivo de las facultades cognitivas y de la capacidad de funcionamiento.

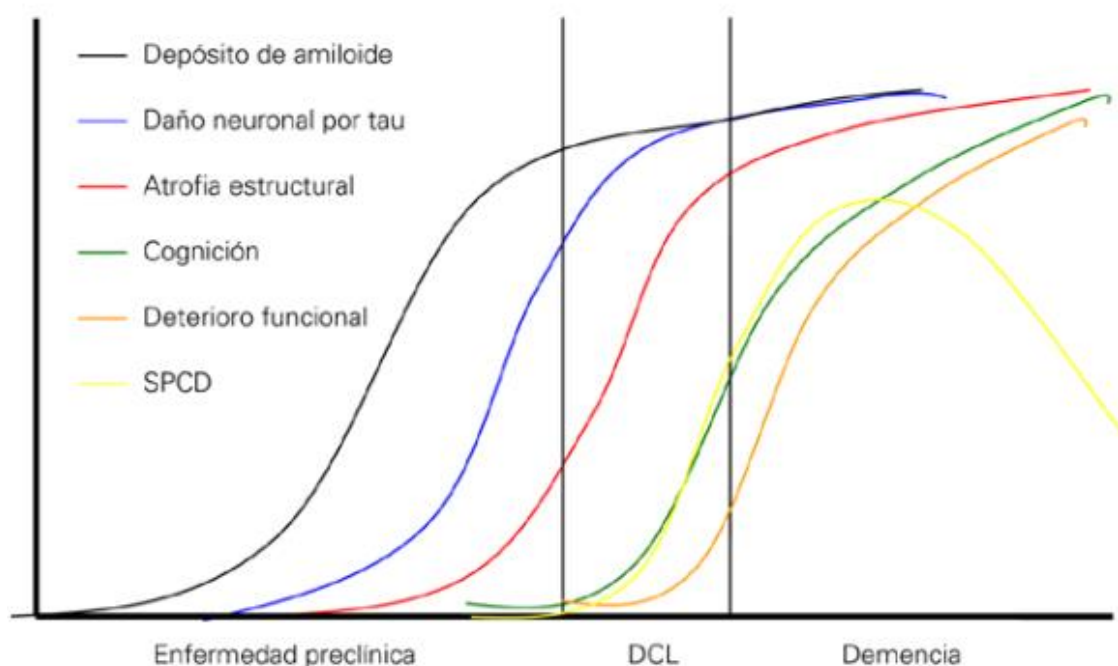
Figura 2. Progresión en el deterioro de las actividades cotidianas



Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La pérdida de memoria a corto plazo, una característica común en las etapas iniciales de la enfermedad, continúa avanzando. El paciente ve disminuida su capacidad para recordar sucesos recientes, pierde la capacidad de comunicarse, sufre incontinencia y rigidez motora hasta que finalmente le sobreviene la muerte. En las últimas etapas de la enfermedad se observan cambios de las funciones motora y sensorial y de la conducta. (Small GW. 1998).

Figura 3. Sucesión de parámetros biológicos y clínicos en la enfermedad de Alzheimer. DCL: deterioro cognitivo leve; SPCD: síntomas psicológicos y conductuales de demencia (López-Álvarez J et al, 2015).



1.2.5. Neuropatología en la EA:

Neuropatológicamente, la EA se evalúa mediante examen macro y microscópico.

La EA está caracterizada por la degeneración y muerte de neuronas en regiones cerebrales esenciales para el procesamiento de la memoria. En la histopatología de la EA se destaca una severa atrofia de la corteza cerebral, por pérdida de neuronas corticales y subcorticales y de conexiones dendríticas en áreas de la corteza y del hipocampo, formación de las denominadas placas seniles y ovillos neurofibrilares en los cuerpos neuronales (Ávila J. 2000).

La secuencia patológica comienza preferentemente en las estructuras del lóbulo temporal medio, responsable de la memoria y luego progresa a las áreas frontal, temporal y parietal,

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

con preservación relativa de las regiones motoras, regiones corticales sensoriales y regiones subcorticales (Hu WT et al 2010; y SNS 2011:

http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_484_Alzheimer_AIAQS_compl.pdf).

Examen macroscópico se observa atrofia global de los hemisferios cerebrales que afecta tanto la corteza como la sustancia blanca y los núcleos subcorticales, respetando el cerebelo y el tronco cerebral. La atrofia afecta preferentemente al hipocampo, la amígdala y la corteza entorrinal. Sin embargo, el grado de atrofia macroscópica es muy variable y coincide parcialmente con el observado en el envejecimiento normal. Por lo tanto, la atrofia macroscópica es poco útil para el diagnóstico de EA.

Figura 4. Cerebro normal y EA



Examen microscópico: Cuando se hace un examen microscópico del cerebro de estos enfermos, se aprecian una serie de cambios degenerativos que afectan a multitud de neuronas integradas en los circuitos nerviosos responsables del mantenimiento de las actividades cerebrales cognitivas; de hecho, muchas neuronas mueren, sobre todo en zonas como la corteza cerebral y el hipocampo, generándose una serie de lesiones características de esta enfermedad denominadas marañas neurofibrilares y placas seniles (Giannakopoulos P,1998). Las tinciones de rutina demuestran pérdida neuronal en corteza y en varios núcleos subcorticales, incluyendo el núcleo basal de Meynert. El diagnóstico microscópico de EA

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

requiere el uso de tinciones de plata, tales como el método de Bielchovsky, o métodos equivalentes.

Las lesiones microscópicas fundamentales en la EA son las siguientes: placas seniles, difusas (depósitos de A β sin neuritas ni relevancia funcional); neuríticas (depósito de A β asociados a neuritas e inflamación); ovillos neurofibrilares; hilos del neuropilo. Otras lesiones que también se encuentran en la EA: Cuerpos de Hirano; degeneración granulovacuolar vacuolar en las células piramidales del hipocampo; pérdidas neuronales, pérdida sináptica (degeneración neuronal); muerte neuronal, por apoptosis y necrosis; angiopatía amiloide (depósitos de amiloide en el cerebro y vasos sanguíneos cerebrales y meníngeos); y activación de microglía; gliosis reactiva; aumento de las células de la microglía y deficiencia en acetilcolina definen la EA. (Martinez Lage JM et al, 2003)

El hipocampo, el subiculum, la amígdala y las áreas de asociación neocorticales muestran las alteraciones más graves. El hipocampo y la corteza del lóbulo temporal están casi siempre afectados y muestran un patrón topográfico del progreso que fue utilizado para definir varias etapas histopatológicas tempranas y tardías de la EA (Braak H et al, 1991). El núcleo basal de Meynert (área innominata) revela una predilección por la pérdida neuronal, formación de ovillos (degeneración neurofibrilar) y ausencia de placas seniles características. Algunos estudios revelan que la progresión del deterioro cognitivo en la EA se deben principalmente a la pérdida de sinápsis, no encontrándose relación entre el número de placas seniles y el deterioro cognitivo.

Placas seniles (PS): consisten en cuerpos extraneuronales, mayores que los cuerpos neuronales, de forma esférica, formados por A β rodeados de formaciones neuríticas anómalas, como dendritas y axones pequeños degenerados, asociados a astrocitos y microglías activadas.(Nimmerjahn A et al ,2005; López Silanes C, 2010). Las placas son lesiones del neuropilo (entiéndase por neuropilo todo aquello que no es cuerpo celular ni vaso sanguíneo) de estructura esferoide que miden aproximadamente 20-100 μ m de diámetro. Además de la proteína A β , se han detectado muchas sustancias en PS , incluyendo amiloide sérico P así como varias proteínas de fase aguda, factores de complemento, proteoglicanos, apolipoproteína ϵ 4, citoquinas y una proteína no caracterizada llamada NAC (componente no amiloide) que deriva de la sinucleína.

Se han descrito varios subtipos de placa en función del contenido relativo de amiloide, neuritas distróficas, (neurita, es toda prolongación del soma o cuerpo neuronal, ya sea axón o dendritas), células gliales o la presencia de capilar central (Braak H et al, 1998; Yamaguchi et al 1988):

Placas seniles difusas:Se la llama difusa por su apariencia poco demarcada. Están formadas por una delicada red de finas fibrillas de filamentos de amiloide, sin neuritas degeneradas ni zona central de amiloide condensado.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Placas seniles primitivas: Están compuestas por depósitos extracelulares de A β no fibrilar o escasamente fibrilar que la hace insoluble. Tienen una distribución más extensa de lo que se había apreciado inicialmente con tinciones convencionales de amiloide o de plata y son el subtipo más frecuente de placa. Este tipo de deposición temprana de A β se da en ancianos sin clínica de EA y en pacientes con síndrome de Down. Las placas comienzan a aparecer en un neurópilo aparentemente normal y preceden el desarrollo de otros componentes de placa, tales como neuritas distróficas o células gliales reactivas. Por estos motivos, las placas primitivas representan los cambios morfológicos más tempranos en la secuencia patogénica de la EA.

Placas seniles clásicas (neuríticas): Están presentes en los estadios más avanzados de la enfermedad, el término neurítico implica que existen signos inflamatorios en las neuritas. Es un foco complejo de degeneración del neurópilo que contiene una región central de amiloide rodeada por astrocitos reactivos, microglía activada y neuritas distróficas que corresponden a dendritas y axones degenerados, constituyendo un conjunto de procesos cerebrales distróficos.

Placas quemadas: Representan el estado terminal de la evolución de una placa particular en la que ha desaparecido el componente celular (no contienen neuritas anómalas asociadas). Sólo contienen una zona central de amiloide condensado. Las PS tanto clásicas como difusas y primitivas son más abundantes en la corteza, hipocampo y tálamo. En la corteza las placas se distribuyen más densamente en la base de los giros. En el cerebelo hay placas difusas y clásicas en todas las capas corticales.

La disponibilidad de anticuerpos monoclonales que reconocen regiones específicas de la A β demostraron que los depósitos de amiloide en EA son idénticos a los que se producen en ancianos normales y pacientes con el síndrome de Down. Además estos depósitos no están limitados al cerebro humano y pueden producirse en otros mamíferos de edad avanzada y primates (Selkoe DJ et al, 1987).

Las PS suelen ser más abundantes que los ovillos neurofibrilares (ONF), y más específicas de la EA, al contrario de las lesiones neurofibrilares, que parecen ser más el resultado de la muerte neuronal que una lesión primitiva de la célula (Mann DMA). No obstante no se conoce bien la relación entre las PS y la DNF. En el síndrome de Down primero aparecen depósitos difusos de A β , a continuación las PS y, por último, la DNF; mientras que en la EA el orden temporal acerca de cómo ocurre la degeneración permanece todavía sin dilucidar. El examen con métodos combinados ha puesto de manifiesto que no existen neuritas distróficas aisladas; por el contrario, éstas siempre están asociadas a depósitos focales de amiloide (Dickson DW et al, 1991).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Estos datos sugieren un papel primario del amiloide en la génesis de las PS (Dickson DW et al 1991). La formación y reclutamiento de neuritas distróficas alrededor de depósitos de amiloide es un fenómeno tardío.

Degeneración neurofibrilar (DNF): La DNF está constituida por «filamentos helicoidales dobles» (FHD), los cuales están compuestos fundamentalmente por la proteína tau y neurofilamentos anormalmente fosforilados que corresponden a proteínas que forman parte del citoesqueleto neuronal normal (Cruz-Sánchez FF, 1992).

En el proceso de fosforilación anormal de la proteína tau y su consiguiente transformación en FHD intervienen dos enzimas (hiperactivación de una quinasa e hipoactivación de una fosforilasa). La proteína tau hiperfosforilada conduce a un ensamblaje y desensamblaje alterado de los microtúbulos, y también contribuye a una incorporación adicional de tau normal en filamentos anormales. La glicosilación no enzimática es otra vía que puede aumentar la fosforilación de tau anormal y la estabilización de filamentos ensamblados de forma anormal. Esta vía parece contribuir de forma importante a la insolubilidad de la DNF. La formación de FHD genera como consecuencia una despolimerización de microtúbulos, lo cual da lugar a una alteración del transporte axonal, y consecuentemente a una disfunción y degeneración axonal. Los acúmulos de FHD bloquean el transporte de organelas y proteínas en el citoplasma neuronal, en los axones y dendritas, y la degeneración y muerte neuronal da lugar a una liberación de proteína tau a nivel extracelular y aparición en el líquido cefalorraquídeo.

Los ONF consisten pues en inclusiones filamentosas formadas dentro del citoplasma de las neuronas. Aunque las células piramidales son las que están principalmente implicadas, otros tipos de neuronas también pueden estar afectadas.

Las áreas predilectas de formación de DNF son el hipocampo, núcleo de Meynert, corteza cerebral y amígdala. Sin embargo, se puede encontrar DNF en otras regiones corticales y subcorticales, tales como la formación reticular, núcleos del rafe, mesencéfalo, locus coeruleus y núcleos pónicos. El ON puede asumir una forma de llama o globoide, y cuando se muere la neurona afectada, se transforma en una estructura eosinófila amorfa conocida como ovillo «fantasma». Ovillos intracelulares y extracelulares son fácilmente visualizados por varias tinciones histoquímicas para amiloide o por impregnación argéntica. La microscopía electrónica revela filamentos rectos y torcidos como los constituyentes más abundantes de la DNF. También un menor grado de estructuras membranosas y granulares contribuyen a su composición heterogénea.

Placas y DNF sin demencia La «reserva» aparentemente grande del cerebro puede tolerar varios grados de formación de DNF o PSs con un compromiso funcional mínimo o indetectable. Ocasionalmente, individuos en la 8.^a y 9.^a década de vida sin demencia muestran densidades de DNF y placas similares a las diagnosticadas en la EA. Estas lesiones pueden haberse

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

desarrollado a lo largo de periodos extensos, y los daños lentos habrían sido compensados por la «plasticidad» neuronal.

Los hilos del neurópilo (HN) son estructuras filamentosas dispersas en el neurópilo, y ocurren independientemente de las PS y DNF (Braak H et al, 1988), aunque tienden a ser numerosas cuando hay presencia de ovillos. Los HN se desarrollan en las regiones allocorticales y isocorticales con una distribución y densidad variables en las diferentes áreas y capas corticales, siendo la lámina C cortical la más severamente afectada. Se ha sugerido que la acumulación de HN en áreas corticales que contienen placas, depende de la cantidad de amiloide además de la DNF (Probst A et al, 1989). Sin embargo, otros investigadores no han encontrado ninguna relación entre los HNs y las placas de amiloide (Hauw JJ et al, 1990). Los hilos neurofibrilares argirofílicos están prácticamente siempre presentes en la EA, y muestran propiedades inmunoquímicas y ultraestructurales idénticas a la DNF y procesos neuríticos distróficos. Estudios ultraestructurales de HN han demostrado que éstos se componen de filamentos helicoidales apareados y filamentos rectos (Perry G et al, 1991). Los HNs exhiben tinción positiva para anticuerpos anti-tau y anti-ubiquitina, así como para neurofilamentos fosforilados.

Angiopatía amiloide: En la mayoría de casos de EA, los depósitos de amiloide se encuentran también en los vasos sanguíneos. La deposición de amiloide empieza en las capas externas musculares de arterias pequeñas y grandes. Fragmentos de PPA se depositan en la base de las membranas astrocíticas, miocíticas y pericíticas para formar fibrilas de amiloide típicas. Esta tendencia del amiloide a precipitar en la base de las membranas es una característica de todas las amiloidosis humanas. El grado de angiopatía amiloide no se correlaciona ni con el grado de placas y ovillos, ni con el grado de deterioro cognitivo (Cervós-Navarro J et al, 1995).

Degeneración gránulo-vacuolar (DGV): En la EA existe un hallazgo constante, pero no específico, caracterizado por la presencia de DGV en las células piramidales del hipocampo.

Este cambio puede observarse fácilmente en preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina y también con impregnación argéntica. La mayoría de gránulos localizados centralmente son inmunoreactivos para ubiquitina (Okamoto K et al, 1995). DGV se encuentra, fundamentalmente, en el sector C1 del hipocampo y en el subiculum, pero también puede hallarse en C2 y en la corteza entorrinal. Ocasionalmente, la degeneración neurofibrilar (DNF) y la degeneración granulovacuolar (DGV) ocurren en la misma célula (Tomonaga M et al, 1975).

Pérdida neuronal: La pérdida neuronal afecta particularmente a las capas superficiales de la corteza, y representa aproximadamente un 36% de la población neuronal. Las neuronas que sobreviven exhiben un nucleolo pequeño anormal y una reducción del RNA citoplasmático (Man DMA, 1985). Estudios comparativos de cromatina muestran un descenso en la cantidad de eucromatina con un incremento correspondiente de heterocromatina en neuronas y células

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

gliales. Esto puede ser interpretado como una consecuencia de la reducción en la capacidad transcripcional (Cervós-Navarro et al, 1984).

Neurotransmisores:En el campo de los neurotransmisores, la característica más marcada es el descenso en la actividad colinérgica. La reducción en acetilcolintransferasa es el doble de la pérdida neuronal esperada en la corteza. Las terminales colinérgicas presinápticas están particularmente afectadas (Wood PL et al, 1983). También están afectadas las neuronas de proyección que producen transmisores monoamina, y neuronas corticales que producen glutamato, GABA, somatostatina, neuropéptido Y, factor liberador de corticotropina, sustancia P (SP), y otros neuromoduladores. Existe una reducción en la actividad de neurotransmisor en los sistemas serotoninérgico, noradrenérgico y dopaminérgico (D'Amato RJ et al, 1987). No hay una correlación entre el grado de demencia y las anomalías del sistema transmisor monoaminérgico. También se ha hallado reducciones en receptores muscarínicos en el hipocampo y receptores de GABA en el núcleo caudal (Cowburn RJ et al, 1987).

Cuerpos de Hirano:se encuentran fundamentalmente en el sector CA del hipocampo de un cerebro normal. En la EA son desplazados, frecuentemente, desde el estrato lacunar (su posición usual) hacia el estrato piramidal. Estos cuerpos contienen epítomos relacionados con microfilamentos, neurofilamentos y microtúbulos (Muñoz-García DG et al, 1993).

Procesos inflamatorios: activación microglial y macrofágica

Activación microglialno de los procesos que contribuyen a exagerar la lesión neurodegenerativa es la reactividad microglial. Las células gliales regulan la actividad nerviosa ya que intervienen en fenómenos de plasticidad neuronal, supervivencia de las neuronas, nutrición neuronal, regulación del crecimiento, detoxificación y regulación homeostática. Cuando el tejido nervioso sufre un daño, las células microgliales tienen la capacidad de actuar rápidamente y de manera heterogénea. Una vez activada, la microglía sufre cambios morfológicos, sobreexpresa diferentes receptores y es capaz de migrar, proliferar y transformarse en formas específicas de microglía reactiva. La reactividad de la microglía, mediante la fagocitosis y la secreción de elevados niveles de citocinas, proteasas y otros factores, pueden cumplir una función destructiva o bien puede desempeñar una función beneficiosa (Piani D et al, 1991). La deposición de la proteína A β induce una respuesta inflamatoria local. También induce la activación de la microglía, mediante dos receptores microgliales: el receptor RAGE (Advanced glycation end products receptor) y el receptor SR (scavenger receptor). La microglía activada por los efectos del péptido A β experimenta una serie de cambios morfológicos asociados a un incremento de su metabolismo, expresión de novo de ciertas moléculas y sobreexpresión de otras ya presentes en la microglía inactiva. Esta actividad se ve asociada directamente al proceso lesivo neuronal por ser una gran fuente de radicales libres de oxígeno, contribuyendo a exagerar el estrés oxidativo y sus efectos neurodegenerativos. La forma reactiva de la microglía es un estado muy complejo que incluye fagocitosis y también síntesis y expresión de diferentes moléculas involucradas en el control de

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

la inflamación local y en la modulación de la respuesta inmunológica. La fagocitosis está protagonizada por macrófagos, que invaden el área lesionada para eliminar remanentes celulares. El origen de estos macrófagos puede derivar de la microglía residente o de la infiltración de monocitos exógenos sanguíneos. Estos últimos invaden el tejido nervioso atraídos por factores quimiotácticos, como la trombospondina y las b-quimiocinas, secretados por la microglía reactiva. La reacción inflamatoria protagonizada por la activación de la microglía viene asociada a una activación y proliferación de los macrófagos cerebrales.

Activación macrofágica: Dado que la EA está íntimamente asociada a la activación de macrófagos cerebrales residentes, se han evaluado los niveles de activación macrofágica en sangre periférica de enfermos de Alzheimer y el grado de apoptosis linfocítica. Se ha encontrado una correlación entre los fenómenos de activación macrofágica y apoptosis linfocitaria existente dependiendo del grado de la severidad clínica de la enfermedad. Se concluye entonces que el fenómeno de activación macrofágica periférica y apoptosis es un fenómeno paralelo al proceso cerebral inflamatorio en los enfermos de Alzheimer.

Muerte neuronal: Apoptosis y Necrosis: En el tejido de EA se encuentran tanto células apoptóticas como necróticas (Cruz-Sánchez FF et al, 2000; Behl C et al, 2000), por lo que ambas deben solaparse. Existe evidencia de una mezcla de los dos acontecimientos contribuye a la neurodegeneración en EA y a su patología final (Guimerá A et al.,2002)

1.2.6. Genética en la EA

Aunque el factor de riesgo más importante relacionado con la EA es el envejecimiento, el segundo factor de riesgo es la historia familiar de enfermedad. Los estudios epidemiológicos señalan que el riesgo de padecer EA en un individuo con un familiar de primer grado afecto es de dos a tres veces superior al de la población general (Lautenschlager NT et al , 1996; Van Duijn CM, EURODEM). En estudios llevados a cabo con gemelos, la concordancia de enfermedad en gemelos monocigóticos (comparten el 100% de su genoma) es del 40-50%, mientras que en los dicigóticos (comparten el 50% del genoma) baja al 10-50% (Pericak-Vance MA et al, 1995).

En conclusión, no hay duda sobre la existencia de factores genéticos de riesgo para la EA, los cuales son responsables no sólo de formas genéticamente puras de la EA (más frecuentes en demencias preseniles o precoces (<60 años), sino también de aquellas formas esporádicas, tardías (aparición en mayores de 70 años), de la enfermedad. Aunque minoritarias, el estudio genético de las formas tempranas, familiares (representan tan sólo el 1-6% de los enfermos) ha sido de inestimable valor para establecer alguna de las causas biológicas asociadas a la EA, y gran parte de la investigación neurobiológica de la EA se basa en estos hallazgos (Setó-Salvia N et al, 2010).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La EA, es la causa más frecuente de demencia, es una enfermedad compleja en la que factores ambientales y genéticos interactúan para dar lugar al fenotipo final. Existen tres genes que se han asociado a formas preseniles autosómicas dominantes de la enfermedad: el gen que codifica para la proteína precursora del péptido A β (APP) y los genes de las presenilinas (PSEN1 y PSEN2). Un cuarto gen, el gen de la apolipoproteína E (APOE), es el único gen mayor de susceptibilidad para las formas, tanto esporádicas como familiares, tardías, de EA. Aunque se han realizado miles de estudios genéticos, se conoce poco sobre la arquitectura genética de la EA. Aun así, en los últimos años ha habido un salto cualitativo extraordinario gracias a la utilización de las novedosas tecnologías de genotipado masivo (desde 2007), las cuales han permitido un análisis exhaustivo del genoma. (Bettens K et al, 2013)

Desde el punto de vista genético, la producción del péptido amiloide está condicionada por el estado del propio gen de la PPA, del gen BACE (origen de la beta-secretasa) y de los genes de las Presenilinas 1 y 2 (donde están codificadas varias porciones de la gamma-secretasa)

Una de las evidencias más importantes del papel del amiloide en la EA es la existencia de familias con mutaciones en el gen de la PPA con el desarrollo de la enfermedad. Otra prueba viene determinada por la trisomía 21 (síndrome de Down), ya que en todos los casos se desarrollan lesiones típicas de la EA hacia los 40 años de edad. En esta enfermedad, las personas tienen una copia extra del cromosoma 21. (López deMuniain A, 1998)

Los genes implicados en estas mutaciones son el gen codificador de la APP. (Chartier-Harlin MC et al, 1991) y los genes que codifican a las presenilinas, presenilina-1 (PS1) (Schellenberg GD et al 1992) y presenilina-2 (PS2). (Levy-Lahad E et al, 1996) Los pacientes con síndrome de Down presentan una doble copia del cromosoma 21 donde está localizado el gen codificador de la APP. Los pacientes con síndrome de Down que vivan hasta los 40 ó 50 años tendrán más riesgo de desarrollar la EA. (Rubinsztein DC. 1997)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 5. Factores genéticos asociados a la EA

Factores genéticos asociados a la enfermedad de Alzheimer			
Gen	Cromosoma	Producto del gen	Asociación con la EA
ApoE	19	Apolipoproteína E4	Factor de riesgo para EA de inicio tardía
OLR1 / A2M	12	Receptor LDL o α_2 macroglobulina	"
HLA-A2	6		"
PPA	21	Proteína precursora de Beta-amiloide	EA familiar de inicio precoz
PS1	14	Presenilina 1	"
PS2	1	Presenilina 2	"

Las formas familiares de EA constituyen <5% del total de casos de EA, siendo secundarias a mutaciones hereditarias, han ofrecido una aproximación para el análisis de los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de la enfermedad. Se ha utilizado el estudio y conocimiento de la EA familiar como punto de partida, para avanzar en la comprensión de los otros mecanismos biológicos envueltos en la neurodegeneración de la enfermedad. La sustancia β A está formada por péptidos, los principales de los cuales son el β A-40 y el β A-42, ambos formados a partir de la proteína precursora de amiloide (APP) mediante la acción de las enzimas β -secretasa (BACE1) y γ -secretasa. La síntesis de esta proteína depende de su correspondiente gen, el APP, que está localizado en el cromosoma 21. (Acosta GB, 2013). Mutaciones en 3 genes, los que presentan una herencia autonómica dominante, han sido asociadas a la EA familiar (las cuales representan menos del 5% de los casos y que en general se inicia a edades más tempranas que la forma no-familiar, denominada EA esporádica). Los genes afectados son los que codifican para el APP, la presenilina 1 (PS1) y la presenilina 2 (PS2). Además, el genotipo apoE4 (apolipoproteína E4) es un factor de riesgo que muestra una correlación alta con el desarrollo de EA. ApoE4 aparentemente influye tanto en la formación de depósito de β A, como en la formación de ONF. Un elemento común para la EA familiar y EA esporádica es la acumulación de $A\beta$. Debido a esto se propuso la hipótesis de la cascada del amiloide, la cual establece que la producción excesiva de $A\beta$ es la causa primaria de la enfermedad (Von Bernhardt R, 2005).

Hasta el momento se han identificado 5 cromosomas implicados en su patogenia: 1, 12, 14, 19 y 21. La primera mutación se describió en el gen de la proteína precursora de amiloide en el cromosoma 21 (los pacientes con síndrome de Down de más de 40 años desarrollan cambios similares que los enfermos de EA (López de Munain A, 1998; Cacabelos R et al, 1994; Schenk D et al, 1999). La posesión, por herencia, del gen Apo E-4, en el cromosoma 19 parece ser uno de los factores mejor caracterizados para posibilitar la aparición de la EA.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La Apo E es una proteína plasmática implicada en el transporte del colesterol y otros lípidos en los diferentes tejidos. Es sintetizada primariamente por el hígado y el cerebro, y constituye la principal apolipoproteína expresada en el tejido cerebral, preferentemente en la glía. El gen Apo E tiene 3 isoformas: E2, E3 y E4. La más frecuente es la E3 (constituye el 78 % de los alelos presentes en población caucasiana) y la menos frecuente es la E2 (constituye el 7 %). Se ha observado que el E4 (15 % de alelos en población caucasiana) aumenta el riesgo de padecer la EA mientras que el E2 probablemente reduce el riesgo o es un gen protector. Sin embargo, muchas personas con EA no tienen el gen tipo E4 de la misma manera que otras personas con el gen E4 no desarrollan la enfermedad. Una copia de cada gen es heredada de cada padre, por lo que cada quien tiene 2 copias del gen Apo E. Aquellos que heredaron 2 Apo E-4, tienen mayor riesgo de desarrollar la EA, pero no todos los que los tengan, necesariamente la desarrollarán. Muchos otros genes pueden estar asociados con el riesgo de padecerla, pero el tamaño del riesgo, asociado con cada uno de estos genes es mucho menor que el del Apo E (Huang Y. 2006)

1.2.7. Fisiopatología de la EA

Se han postulado para explicar el proceso degenerativo de la EA varias hipótesis: la hipótesis de la cascada amiloide, la hipótesis colinérgica y la teoría de la desconexión cerebral, excitotoxicidad, estrés oxidativo e inflamación (Angoa P et al, 2007) y otras que iremos detallando a continuación.

Mecanismos moleculares y celulares

Todavía no se ha establecido con precisión el mecanismo patogénico de la enfermedad. Sin embargo, parece ser un trastorno heterogéneo, con interrelación de una serie de factores genéticos y adquiridos a lo largo de la vida. Avances en estudios celulares y moleculares revelan que la formación de A β y otros derivados de la proteína precursora de amiloide son los principales responsables de los cambios en el cerebro de pacientes con EA, se incluyen además la disfunción mitocondrial y de neurotransmisores, el estrés oxidativo, la inflamación, los trastornos neuroinmunes y tróficos. Todos ellos convergen en un síndrome de demencia cuando se han perdido un número crítico de dendritas y sus conexiones sinápticas (Whitehouse PJ et al, 1982). Para los trastornos tales como la EA, que tienen causas heterogéneas, el tratamiento necesita en última instancia apuntar mecanismos moleculares subyacentes. La clasificación molecular racionalizará los ensayos clínicos y facilitará la futura toma de decisiones clínicas (Bettens K et al, 2013).

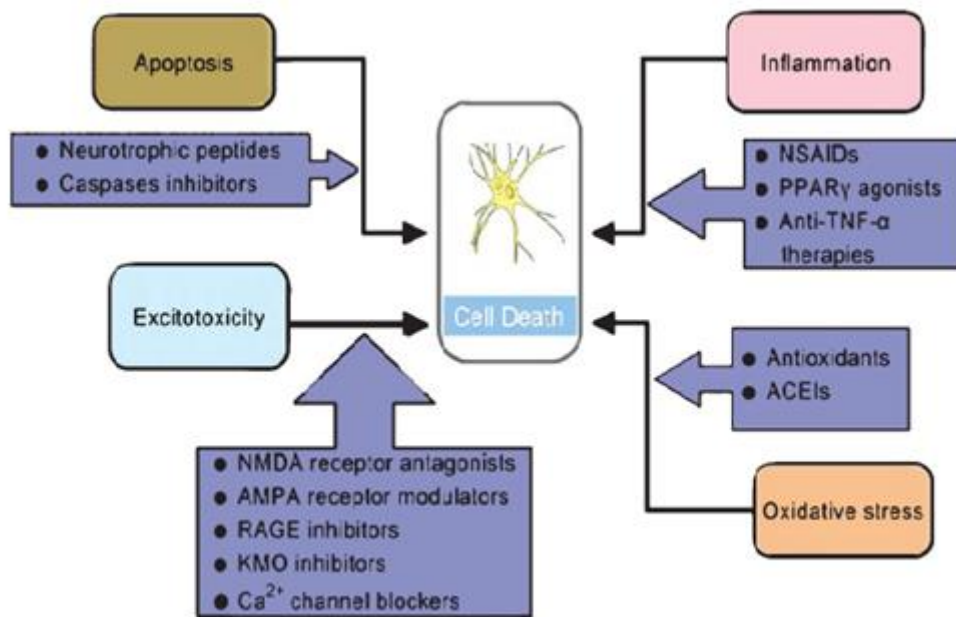
Existen varios mecanismos de daño que están presentes en la EA, varios de ellos además serían comunes a diversas patologías neurodegenerativas. Así, la EA probablemente corresponde a un proceso de múltiples etapas que incluye eventos ambientales, epigenéticos y genéticos, lo que concuerda con las evidencias clínico-epidemiológicas y experimentales. La contribución relativa en la EA de cada uno de los mecanismos expuestos es probablemente

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

diferente para distintos individuos. La EA parece asociarse a un fenotipo pro-inflamatorio, con aumento de la reactividad glial y de la actividad citotóxica en el SNC. La disminución de la agregación proteica, del estrés oxidativo, el daño mitocondrial, la respuesta inflamatoria y la acumulación de metales pesados, como también el restablecimiento de la neurotransmisión y bloquear la excitotoxicidad son aproximaciones terapéuticas experimentales hoy día, pero que pueden demostrar ser beneficiosas como tratamiento el día de mañana (Acosta GB, 2013).

En un sentido general, tanto los ovillos como las placas neuríticas podrían ser precedidos por uno o varios pasos bioquímicos que podrían no resultar aparentes por la identificación de las proteínas que componen estas lesiones. Hasta ahora no se ha identificado un solo factor como la causa de la EA. Es probable que una combinación de factores, incluyendo la edad, la herencia genética, la dieta y el estado de salud en general (Herrera-Rivero M, 2010)

Figura 6. Los procesos causados por $A\beta$ y las intervenciones terapéuticas disponibles. (T. Jiang et al.2012)



A continuación analizaremos las diferentes teorías fisiopatológicas:

1. Tª Cascada amiloide
2. Teoría proteína Tau
3. Tª Desconexión cortical
4. Tª Colinérgica
5. Otros neurotransmisores relevantes en la EA

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Así como fenómenos fisiopatológicos concurrentes relevantes en el desarrollo de la EA (¿causa o consecuencia?)

6. Daño Oxidativo
7. Neuroinflamación
8. Neurogénesis

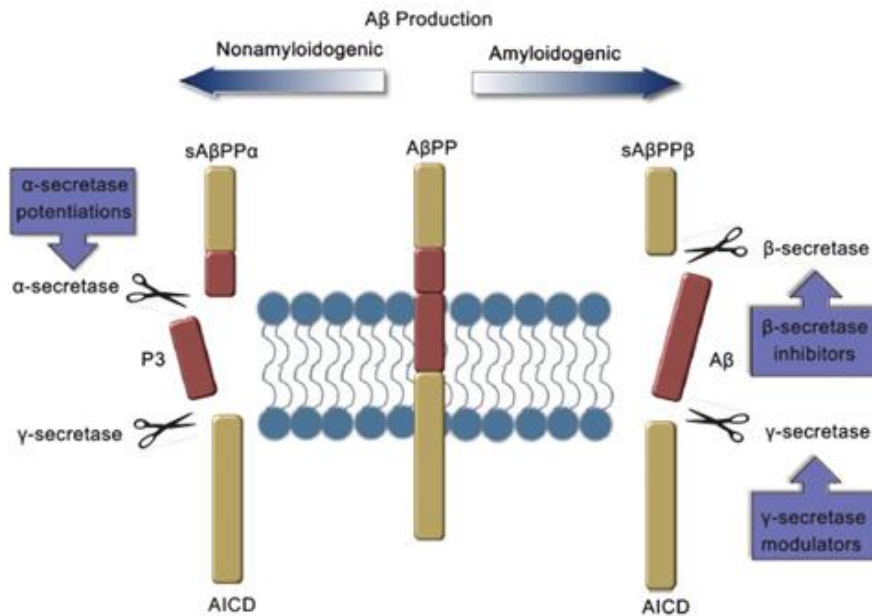
Hipótesis o Teoría de la cascada amiloide:

En 2002, John Hardy propuso "hipótesis amiloide", hizo hincapié en la acumulación de A β como los eventos patológicos iniciales y en la progresión de la EA (Hardy J et al, 2002). Basada en las características neuropatológicas de la EA, que se caracteriza principalmente por la formación de placas neuríticas extracelulares que contienen el péptido A β y la acumulación intraneuronal de ONF constituidos por la proteína tau hiperfosforilada.

En un cerebro normal se produce un péptido denominado A β que tiene dos isoformas A β_{40} y A β_{42} , ambos formados a partir de la PPA mediante la acción de las enzimas β -secretasa (BACE1) y γ -secretasa. La síntesis de esta proteína depende de su correspondiente gen, el APP, que está localizado en el cromosoma 21. (Acosta GB, 2013) A β_{42} es más hidrofóbica, más propensa a formar agregados, se considera una isoforma neurotóxica y es el componente mayoritario de las placas seniles. En condiciones fisiológicas se produce sobre todo A β_{40} , mientras que los pacientes con EA tienen una elevada producción de A β_{42} . Muchos estudios han encontrado que una sobreproducción de este péptido tiene efectos neurotóxicos. Se ha comprobado la formación de placas seniles con depósitos extracelulares A β y ONF que contienen a la proteína tau hiperfosforilada (Pagani L et al. 2011).

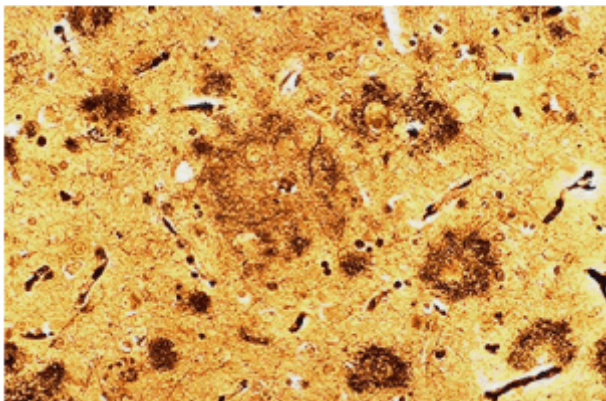
Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 7. Vías amiloidogénica y no amiloidogénica, lugar de acción de posibles terapias modificadoras de enfermedad.



Sin embargo, aunque una sobreproducción Aβ tiene un efecto negativo sobre las células nerviosas, bajas concentraciones pueden potenciar a largo plazo el hipocampo y mejorar la memoria (Sun X et al, 2012). Los niveles de Aβ elevado induce a depósitos; los niveles de Aβ bajo, protegen (Reynaldo G et al, 2008)

Figura 8. Placa beta-amiloide en preparación post-mortem de tejido cerebral de un paciente con EA



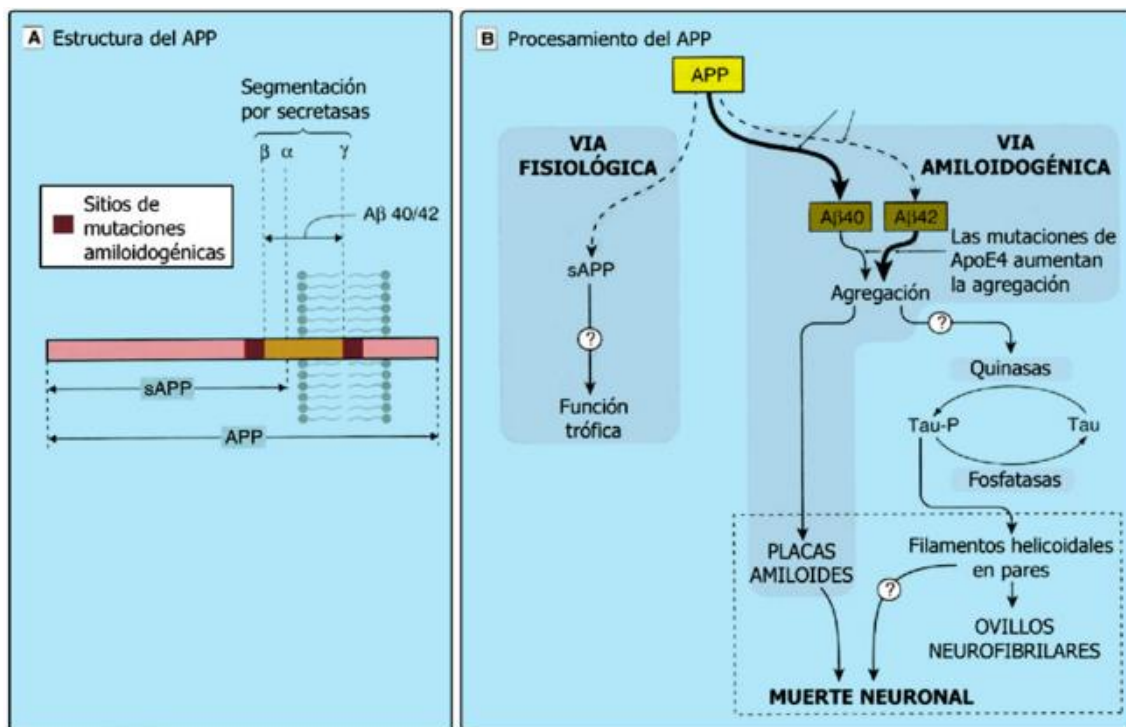
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Las placas de amiloide contienen productos del procesamiento de la PPA, que tienden a agregarse formando sábanas beta-plegada, que son tóxicas. La PPA es una proteína que se encuentra inserta –engastada– en la membrana neuronal y está relacionada con fenómenos como la plasticidad neuronal, la extensión de las ramas neuronales, la formación de sinapsis y del esqueleto neuronal, la regulación del calcio que entra en el interior de las neuronas y otros procesos no del todo conocidos.

La PPA es una proteína de membrana con una región extracelular de gran tamaño, un dominio transmembrana único y una región citoplasmática pequeña. Aunque se desconoce su función con certeza, se piensa que podría tener función como un factor de crecimiento. La isoforma que se encuentra en el sistema nervioso contiene sitios de unión a heparina y a cobre. Este último podría regular la dimerización o el procesamiento proteolítico del APP, o bien podría funcionar como un transportador de metales.

Todavía no está claro el mecanismo mediante el cual el A β produce daño celular. Se plantea la existencia de diversas maneras mediante las cuales podría dañar a las neuronas: activando la microglia (células del sistema inmune innato del sistema nervioso central - SNC), activando la respuesta inflamatoria y liberación de citoquinas neurotóxicas y produciendo daño oxidativo en células vecinas, induciendo mecanismos de apoptosis, dificultando la perfusión por la acumulación de amiloide en capilares y arteriolas y afectando los contactos sinápticos interneuronales. El péptido A β también puede unir metales, lo cual induciría el cambio conformacional hacia sábanas **beta**-plegada, lo que resultaría en un aumento de su agregación.

Figura 9. Estructura y procesamiento del APP



Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El depósito extracelular del *péptido amiloide* es el factor fundamental, aunque no único, en el desarrollo de la enfermedad, y es debido bien a un aumento en su producción, por predominio de la vía amiloidogénica, bien a una disminución en su aclaramiento.

El depósito de amiloide, origen de las llamadas *placas neuríticas* observadas al microscopio, produce diversos efectos perniciosos para el funcionamiento neuronal, como un daño en los receptores colinérgicos, una disfunción de la transmisión glutamatérgica, o un bloqueo en la acción de factores tróficos necesarios para el buen mantenimiento del sistema nervioso (neurotrofinas o factores de crecimiento), además de generar un cierto grado de inflamación tisular y de toxicidad en el medio en el que se desarrollan las células nerviosas (*excitotoxicidad*), y un aumento de los radicales libres y el *estrés oxidativo* al que éstas están expuestas, todo lo cual conduce a una pérdida neuronal acelerada.

La conexión descrita entre el depósito amiloide y la disfunción colinérgica reúne conceptualmente las dos principales hipótesis etiológicas de la EA, y ayuda a entender el efecto protector que algunos autores atribuyen a los pro-colinérgicos a largo plazo.

¿Qué es lo que causa la acumulación del A β ? Para contestar a esta pregunta debemos recordar lo que ocurre en la mayoría de las enfermedades genéticas: las mutaciones causan una alteración en la función biológica de la proteína afectada. Por tanto, se puede explicar de manera análoga, la amiloidosis en ausencia de mutaciones de PPA por varios mecanismos que podrían alterar la función biológica de PPA. Estos mecanismos puede incluir alteraciones en otras proteínas que interaccionen con PPA (secretasas, lipoproteínas o chaperonas) o insultos ambientales, tales como la oxidación de la PPA o de A β . Un gran reto en el campo de la PPA sería la identificación de factores que aumentan el procesamiento amiloidogénico de la PPA en la EA esporádica. La producción de amiloide es la consecuencia de un procesamiento anormal de PPA, quizás de forma independiente del nivel de expresión de PPA o de una falta de eliminación de péptidos amiloide producidos anormalmente (Guimerá A et al, 2002).

Ovillos neurofibrilares: proteína Tau y EA

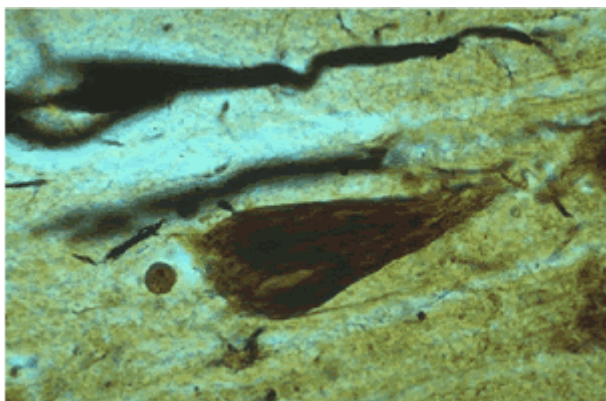
En la EA se observa degeneración neurofibrilar (DNF) debida a la acumulación intracelular de ONF, formados por agregados insolubles de otra proteína, en este caso la proteína tau (implicada también en el transporte de sustancias por el axón neuronal, al servir como estabilizadora de la estructura interna de la neurona). Las neuronas mantienen su forma gracias a una serie de filamentos, el citoesqueleto, que está formado por microfilamentos, microtúbulos (en los que interviene la proteína tau) y neurofilamentos. Esta estructura no es rígida, pero mantiene la estructura interna. También el calcio tiene un papel importante en este proceso. Una clase de proteínas que participan en la regulación de los microtúbulos y su función, entre estas proteínas está la proteína tau, que están codificadas por un gen situado en el cromosoma 17. En la EA, las proteínas tau, que están anormalmente fosforiladas, se agregan en filamentos helicoidales apareados. Esta fosforilación (o incorporación de un fosfato

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

a una molécula) anormal se realiza con intervención del amiloide y de calcio y da lugar a la formación de unas variantes patológicas de la proteína tau. Estos procesos tienen lugar en determinadas áreas del cerebro selectivas y vulnerables, especialmente en el hipocampo y la corteza parietal y frontal. Esta agregación anormal de filamentos helicoidales condiciona, posiblemente, una alteración de las propiedades de los microtúbulos neuronales, que como consecuencia quedan deformados, perdiendo capacidad funcional. La agregación de Tau reduce su habilidad para estabilizar los microtúbulos, y llevaría eventualmente a la muerte neuronal. Su aparición es un evento relativamente temprano en la EA (Iqbal K et al, 1998; Hanger DP et al, 1998)).

La hipótesis Tau, plantea que la proteína Tau desempeña un papel más destacado que la beta-amiloide, como activadora de la neurodegeneración observada en la EA (Geerts H, 1998). En la EA, se observan altos niveles de la proteína Tau, hiperfosforilada y glicosilada (Duyckaerts C et al, 1998; Pavia J et al, 1998). Se cree que la hiperfosforilación de la proteína Tau contribuye a la desestabilización de los microtúbulos y por último a la degeneración neuronal característica de la EA.

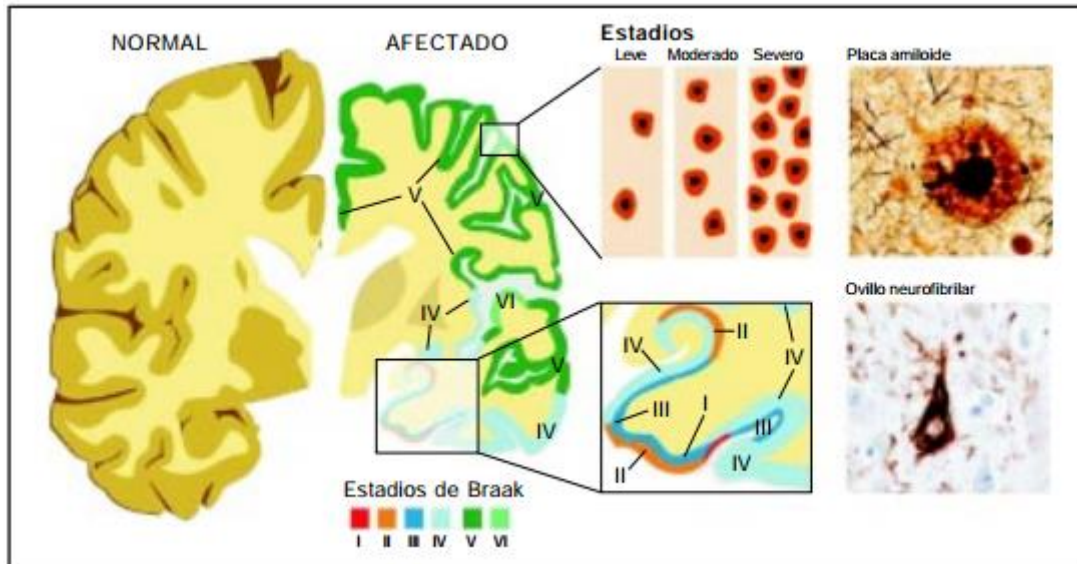
Figura 10. Neuronas que contienen ovillos neurofibrilares



Tau, por sí mismo, desempeña un papel crucial en los procesos de aprendizaje hipocámpico. Sin embargo, la hiperfosforilación anormalmente alta de tau en las taupatías dan cuenta del declive cognitivo (Sennvik K et al, 2007). Ha de ser la fosforilación anormal de tau, y no su hiperfosforilación, un fenómeno crítico en la progresión neurodegenerativa relacionada con la enfermedad. Se sabe que la agregación de ONF es un hecho incontrovertible para la reentrada al ciclo celular, sin división, que es un fenómeno inductor de apoptosis (Schindowski K et al, 2008).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 11. Representación esquemática de un hemisferio de un sujeto normal (izquierda) y un hemisferio de una persona afectada por EA (derecha).



En escala de colores se representan los estados de ONF de Braak. Los primeros estados son entorrinales (I y II) con síntomas ausentes o leves. Los estados III y IV son llamados límbicos y se acompañan de déficit mnésico (influye la reserva intelectual) y cambios sutiles de la personalidad. En los estados corticales (V y VI) continúa el deterioro sumando regiones neocorticales con un patrón inverso a la mielinización, afectando primeramente las áreas de asociación y finalmente las áreas primarias. En la región superior se observan los estados según el número de placas seniles (Álvarez Sánchez M, et al. 2008).

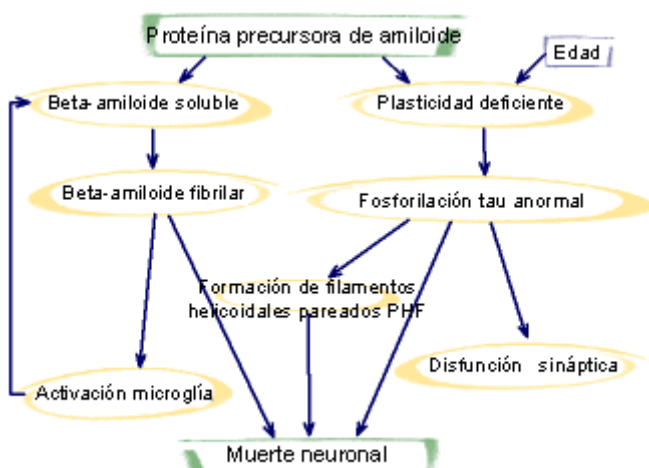
La presencia de A β incrementa la fosforilación y agregación de Tau en ratones transgénicos de Alzheimer. La fosforilación y agregación de tau son procesos clave implicados en la muerte neuronal de la EA. El posible papel secundario de tau en la patología en al EA ha sido cuestionado por estudios recientes que indican que tau media el efecto tóxico del A β . Así, el péptido A β no es capaz de inducir muerte en células donde se ha inactivado tau. El efecto protector de la inactivación de tau en la toxicidad mediada por A β se ha demostrado también en modelos transgénicos. La inactivación de tau reduce los déficits cognitivos y la muerte prematura en ratones transgénicos de APP, sin cambios apreciables en la acumulación de placas amiloides. La reducción de tau también previene los déficits en el transporte axonal inducidos por péptido A β . La Apo-E puede fijarse en la proteína Tau, pero en particular las formas E2 y E3. La forma E4 no sería capaz de impedir la modificación patológica de la proteína tau. (Ferrer I. 1996)

Aunque tau es mayoritariamente una proteína asociada a microtúbulos, recientemente se ha detectado tau en dendritas, una localización que depende de su unión a microtúbulos. Estos datos indican que tau podría participar en diferentes funciones fisiológicas en el

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

comportamiento postsináptico. Por el contrario, en condiciones patológicas tau hiperfosforilado disminuye en axones y aumenta en citosol y dendritas, lo que aumenta la toxicidad del A β , mediada por Tau e este compartimento celular (Saura C, 2012)

Figura 12. Esquema de la patogénesis de la EA en el que la proteína tau juega un papel central



Teoría de desconexión cortical.

Teoría de desconexión cortical se basa en el daño neuronal que ocurre en el hipocampo (HC) de los enfermos de EA. La degeneración neurofibrilar que ocurre en la corteza entorrinal, portal cortical del hipocampo HC, se distribuyen en las cortezas II (que junto a la capa III forman la vía perforante hacia el HC) y IV (que recibe la eferencia desde el HC) de manera que el HC queda aislado de la neocorteza. Esto se une al déficit de glutamato y otros neuropéptidos (neuropéptido Y, oxitocina, vasopresina y somatostatina) en las cortezas de asociación (desconexión córtico-cortical) que correlaciona con la afasia, la apraxia y la agnosia, así como con los trastornos visuoespaciales y ejecutivo. (Álvarez M et al, 2008)

Teoría colinérgica:

La teoría colinérgica junto con la Teoría de la desconexión cerebral descrita previamente, intenta explicar los déficits cognitivos de la EA.

La hipótesis colinérgica se basa en la idea de que la disfunción del sistema de neurotransmisión colinérgico es capaz de explicar, por sí misma, las alteraciones observadas en modelos animales de la EA, y en la constatación de una especial vulnerabilidad de este sistema en estudios realizados en pacientes, con disminución del número de neuronas colinérgicas y alteración de diversos marcadores de su actividad (niveles de colino-acetil-transferasa y de acetilcolinesterasa, enzimas encargadas de la producción y degradación de la acetilcolina)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Esta hipótesis indica que los pacientes con EA muestran pérdida de la actividad colinérgica en el sistema nervioso central (SNC). En los años 70 se constató una disminución significativa en la cantidad y actividad de enzimas sintéticas y degradadoras (colinesterasas y acetiltransferasas) en las cortezas límbicas y cerebrales. El cerebro de estos pacientes tiene concentraciones muy bajas de acetilcolina, sobre todo en áreas asociadas con la memoria y el aprendizaje, tales como el hipocampo y la corteza. (Wollen KA, 2010)

Las cantidades y actividades de las enzimas sintéticas y de degradación, colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa, disminuyen en las cortezas límbica y cerebral, y hay pérdida asociada de cuerpos celulares colinérgicos en el núcleo septal y el sistema colinérgico basal anterior (Herrera-Rivero M et al, 2010).

El razonamiento de fondo utilizado por la hipótesis colinérgica atribuye a la falta de acetilcolina y destrucción de las neuronas colinérgicas, así como el consecuente déficit de la neurotransmisión colinérgica central como causas importantes que explican los síntomas cognitivos y no-cognitivos observados en los pacientes (Cummings y Back, 1998). Bajo este principio se promovió la utilización de inhibidores de la enzima Acetil Colina Esterasa, ACE, y de la Butiril-colina Esterasa (BCE), las cuales degradan por hidrólisis el neurotransmisor acetilcolina. La inhibición de estas enzimas conllevaría al aumento de la concentración del neurotransmisor y a la mejoría del déficit colinérgico (Huete-Pérez J , 2007)

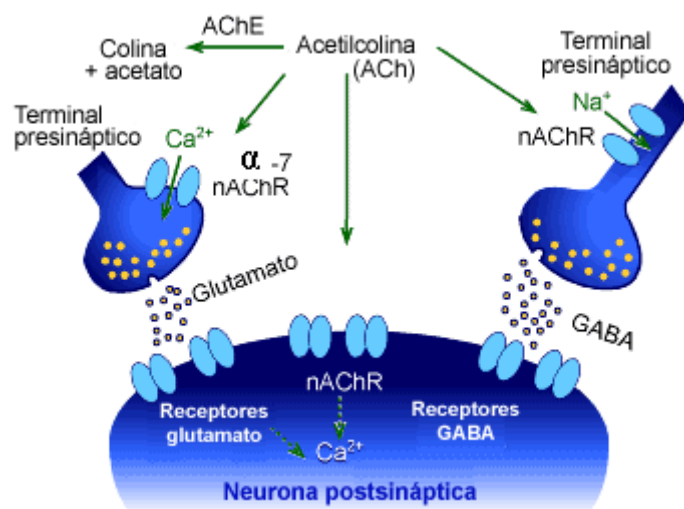
En estados avanzados se observa una disminución de más de 90% de la actividad de la acetilcolinesterasa lo que identifica un compromiso dramático del sistema colinérgico en esta enfermedad. Esto ocasiona el deterioro mnésico inicial y progresivo.

La degeneración selectiva del núcleo basal de Meynert (principal eferencia colinérgica hacia neocortex) y de los núcleos septal y de la banda diagonal de Broca (eferencia colinérgica subcortical, en especial hacia el HC) provocan un déficit progresivo de la memoria anterógrada (Álvarez M et al, 2008).

Existen evidencias de cambios tempranos en el flujo cerebral regional, lo que pudiera relacionarse con la degeneración en la población colinérgica que tiene un efecto regulador, esto se conoce como teoría colinérgico-vascular (Álvarez M et al, 2008). La disminución de la actividad colinérgica afecta la transmisión sináptica e inicia un proceso inflamatorio (Wollen KA, 2010).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 13. Diagrama de un receptor nicotínico cerebral (nAChR)



Los fármacos pro-colinérgicos, inhibidores de Acetil colinesterasas (ACE), disponibles en la actualidad para el tratamiento sintomático de la EA (principalmente Donepezilo, Rivastigmina y Galantamina) (Geldmacher, 2003; Loveman et al., 2006) se basan en esta hipótesis, y ejemplifican la conexión existente entre la investigación básica y molecular, y la aplicación práctica de tratamientos eficaces en el día a día. (Álvarez M, 2008). Mientras Donepezilo y Galantamina únicamente inhiben a la ACE, la Rivastigmina inhibe también a la BCE (Butiril colinesterasa). (Setó-Salviá et al, 2010)

Otros neurotransmisores

Asimismo, en la EA se han identificado déficits variables de otros sistemas neurotransmisores.

La función del cerebro depende del conjunto de informaciones que circulan a través de complejos circuitos formados por redes de neuronas (células nerviosas). La información pasa de una neurona a otra a través de unos puntos de contacto especializados, denominados sinapsis. Una neurona típica puede tener entre 1.000 y 10.000 sinapsis y puede recibir información de alrededor de 1.000 neuronas. Estas cifras permiten comprender fácilmente la complejidad de las interacciones entre las neuronas. La sinapsis química, se realiza con los neurotransmisores. En una sinapsis, el axón suele dilatarse para formar lo que se llama un botón terminal, que es la parte del axón que libera la información. El botón terminal contiene diminutas estructuras esféricas denominadas vesículas sinápticas, cada una de las cuales contiene, a su vez, varios miles de moléculas de un transmisor químico o neurotransmisor. A la llegada de un impulso nervioso al botón terminal, algunas de las vesículas se abren y liberan su contenido en el estrecho espacio que separa una neurona de otra. Las moléculas del neurotransmisor actúan sobre unas diferenciaciones de la membrana opuesta (los receptores)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

destinadas a recibir el estímulo químico. Por lo tanto, el mensaje que va de una neurona a otra se pasa a través de estímulos químicos por medio de los transmisores (Álvarez M, 2008).

Los neurotransmisores son sintetizados a partir de distintas sustancias. Las neuronas contienen un complejo sistema bioquímico de síntesis y de transporte de los neurotransmisores. La activación de una neurona, es el resultado de la activación de cientos de sinapsis por neuronas adyacentes, generando los impulsos nerviosos. Algunas sinapsis son excitadoras, porque tienden a provocar la puesta en marcha de impulsos nerviosos, mientras que otras son inhibitorias, ya que son capaces de frenar la producción de estímulos. La activación depende del resultado final de la suma y resta de estímulos excitadores e inhibitorios.

Los principales neurotransmisores son los siguientes: la acetilcolina, la dopamina, la adrenalina, la noradrenalina, la serotonina y la histamina. Existen muchos más neurotransmisores: los aminoácidos (glutamato, aspartato, glicina, ácido gamma-aminobutírico), los péptidos (endorfinas, encefalinas, SP)... En una enfermedad como la EA, que, a la larga, acaba afectando a tantas zonas cerebrales, es lógico esperar que se vea alterada la capacidad que tienen las neuronas de transmitir información entre sí mediante diferentes neurotransmisores (Álvarez M, 2008).

Por otro lado los **desequilibrios de otras vías neuroquímicas** explican mejor los síntomas no cognitivos (los trastornos de conducta, trastornos psicóticos, trastornos motores...). Existe una afectación de los núcleos superiores del rafe, el núcleo cerúleo y una conservación relativa de la sustancia nigra. **Déficit de serotonina:** Se relaciona con los síntomas depresivos así como con obsesión, compulsión y agresividad. Esto se observa tanto en EA como en personas normales (Álvarez M, 2008). **Déficit de noradrenalina:** Se observa también asociada a la depresión y a la agitación psicomotora. Con este neurotransmisor ocurre algo singular pues a pesar de existir una depoblación del núcleo cerúleo (donde se observan Cuerpos de Lewy), existe una hiperactividad noradrenérgica cortical, lo cual se atribuye a un aumento de la sensibilidad cortical y a la producción de noradrenalina (NA) en corteza. El aumento de la sensibilidad se observa tanto en la corteza prefrontal como en el HC. Sin embargo, el aumento de la concentración de NA sólo se encuentra en el cortex prefrontal. En los casos de depresión existe disminución de NA, mientras que en aquellos con agitación existe un aumento de ésta (Álvarez M, 2008). **Déficit de acetilcolina,** se asocia al deterioro cognitivo, especialmente con los problemas de memoria. Sin embargo, se postula que para que se desarrolle la depresión debe existir indemnidad o niveles de acetilcolina cercanos a la normalidad. Esto sólo ocurre en los estadios iniciales. **Conservación relativa de dopamina.** Este hecho provoca un desequilibrio colina/dopamina con el aumento *relativo* de esta última observándose alucinaciones, trastornos del sueño y psicosis. En un 30% existe un déficit de dopamina con la aparición de un síndrome parkinsoniano (característico de demencia subcorticales). Sin embargo la preservación de la postura y la marcha hasta estadios avanzados es una característica de las demencias corticales por lo que los pacientes deambulan sin fin (Álvarez M, 2008).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El glutamato es un aminoácido relacionado con distintas funciones fisiológicas: la memoria, el aprendizaje y mecanismos fisiopatológicos como la epilepsia. El L-glutamato puede actuar sobre diversos receptores, como los receptores AMPA, NMDA, kainato y AP4. El glutamato es el principal aminoácido excitatorio en el SNC, puede participar en los procesos de transmisión nociceptiva en la ME, siendo el principal responsable de la transmisión sináptica rápida.

Los receptores glutamatérgicos de N-metil-D-aspartato (NMDA) están asociados con los procesos de aprendizaje y memoria, el desarrollo y la plasticidad neural, así como con los estados de dolor agudo y crónico. Intervienen en el inicio y mantenimiento de la sensibilización central, asociada a daño o inflamación de los tejidos periféricos (Wei F et al, 1999).

Homeostasis del calcio

El Ca²⁺ es un segundo mensajero en el organismo. La concentración de Ca²⁺ extracelular es mayor que la intracelular (Reynaldo G et al, 2008). Hay estudios que han demostrado que, después de la exposición de células a proteína A β , existe un deterioro en la homeostasis del calcio, al cual le sigue la oxidación de las bombas de calcio de membranas. El incremento del calcio intracelular conduce a la activación de la óxido nítrico sintasa neuronal (NOS-n) y, consecuentemente, aumenta la concentración del NO intracelular, este reacciona con el anión radical superóxido, proveniente de la cascada del ácido araquidónico (AA), de la mitocondria o de la conversión xantina deshidrogenada a xantina oxidasa, dando lugar al peroxinitrito (ONOO⁻). Este último puede dar lugar a formas transicionales activas con potenciales reactivos comparables al radical hidroxilo. La demostración de la peroxinitración extensiva de proteínas en el cerebro afectado por EA sugiere el papel patológico del ONOO⁻ en esta enfermedad (Canzoniero LM et al, 2005; Scorziello A et al, 2004).

El incremento de calcio a su vez activa proteasas como calpaína y fosfolipasa A₂ (PLA₂). La calpaína activada es capaz de degradar el citoesqueleto neuronal y causar la ruptura de la membrana e inhibir el transporte axonal, asociado a la conversión de XD a XO con generación de anión superóxido y H₂O₂ (Linder N et al, 1999) La PLA₂ activada promueve la producción de AA, aumenta la liberación de radicales libres aparejado con la peroxidación lipídica y la siguiente formación de eicosanoide (Smith WL, 2005)

Disfunción mitocondrial asociada a la EA

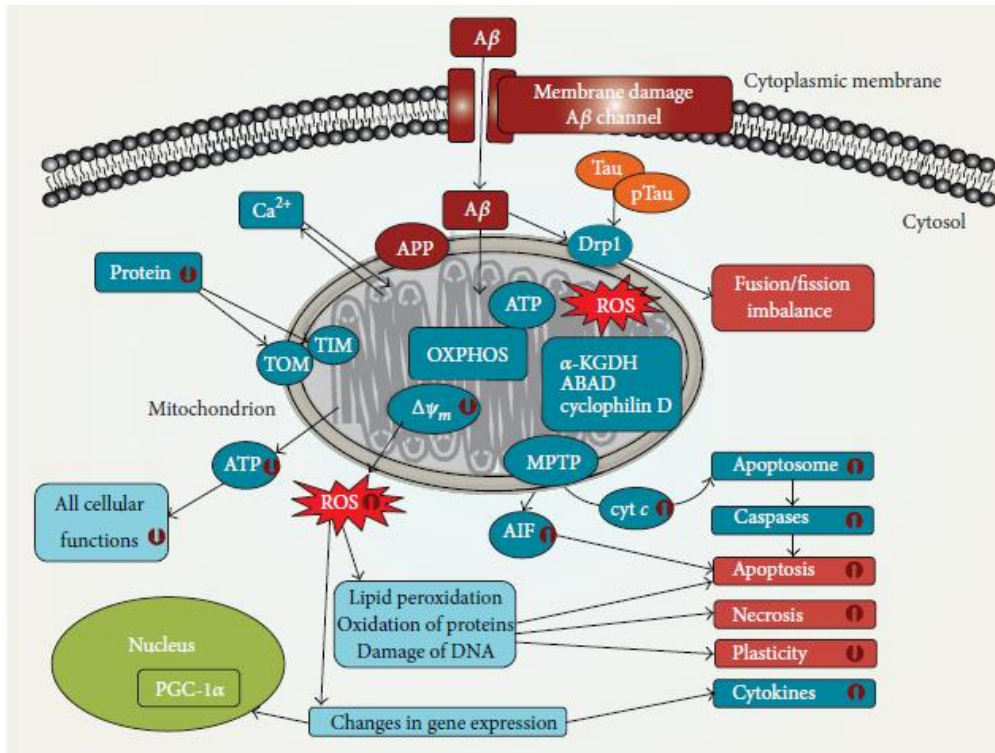
Las mitocondrias son reguladores críticos de la muerte celular; existen fuertes evidencias de que las disfunciones mitocondriales ocurren de forma temprana y actúan causalmente en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas (Lin MT et al, 2006)

La mitocondria constituye uno de los compartimentos celulares más susceptible a sufrir daño oxidativo. En particular, el ADN mitocondrial (ADNmt), por su proximidad a la cadena de transporte de electrones, la carencia de histonas protectoras y de mecanismos eficientes de reparación es un blanco potencial para el impacto de las especies reactivas derivadas del

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

oxígeno y el nitrógeno. En este sentido, se han observado altos niveles de mutaciones en el ADNmt del lóbulo temporal de pacientes con EA (Corral M et al,1994), que a su vez mostró niveles elevados de daño oxidativo (Mecocci PU et al 1994). La toxicidad del péptido amiloide involucra directamente a la mitocondria (Yan SD et al 2005) y su agregación incrementa los niveles intracelulares de Ca^{2+} y de NO en astrocitos (Sultana R et al, 2006)

Figura 14. disfunciones mitocondriales en la EA. (Hroudová J et al, 2014)



El tejido cerebral en pacientes con EA presenta un metabolismo energético defectuoso y anomalías en la respiración mitocondrial constituyen características, pero también de sus células periféricas (plaquetas y fibroblastos) (Bubber P et al 2005). El defecto mitocondrial que de forma más consistente se reporta en pacientes con la EA, es la disfunción de la enzima citocromo c oxidasa (complejo IV) (Castellani R et al, 2002). La participación de otros complejos de la cadena de transporte de electrones en la patogenia de la EA no está aclarada. La inhibición de la respiración por deficiencias del complejo IV limita la síntesis de ATP e incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno y los niveles citosólicos de Ca^{2+} , procesos que conducirían a la muerte neuronal por necrosis o apoptosis. Por otra parte, la disfunción mitocondrial y el déficit energético resultante impedirá el adecuado aclaramiento de los agregados de proteínas, así como el adecuado funcionamiento de los canales de iones y actividad de las bombas transportadoras, la neurotransmisión y el transporte axonal y dendrítico en la EA. (Reynaldo G et al, 2008). Altas concentraciones de calcio intracelular

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

resultan en toxicidad y posteriormente en muerte celular. La ruptura de la homeostasis del calcio puede tener efectos secundarios, como peroxidación lipídica y generación de especies reactivas de oxígeno. Con el tiempo, se reduce la integridad sináptica (Itkin A et al. 2011).

El péptido A β perjudica la integridad de la membrana citoplasmática y las causas disfunciones mitocondriales. A β inhibe la actividad de la fosforilación oxidativa sistema (OXPHOS), que puede dar lugar a disminución de ATP y el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) formación. La disminución de la producción de ATP conduce a la alteración de la ATP-dependientes procesos, donde todas las funciones celulares están involucrados. La disminución de potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi m$) es seguido por apertura de poros de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTPs) . La liberación de citocromo c (*c* cyt) y otros factores proapoptóticos de la intermembrana el espacio de las mitocondrias induce la activación de las caspasas y apoptosis. El factor inductor de apoptosis (FIA) es un factor proapoptótico liberada por las mitocondrias. Ello conduce a alteración de la dinámica mitocondrial, el aumento de la fisión mitocondrial, y la neurodegeneración. Además, la proteína A β inhibe la importación de proteínas en la mitocondria y reduce la actividad de la mitocondria A β alcohol vinculante deshidrogenasa (ABAD), α -cetoglutarato deshidrogenasa complejo (α -KGDH) y ciclofilina D. La capacidad de las mitocondrias para manejar el calcio se ve afectada por la PPA y A β ; en consecuencia, la sobrecarga de calcio mitocondrial conduce a la disminución de $\Delta\psi m$, apertura de MPTPs, la liberación de factores pro-apoptóticos, el aumento de la producción de ROS, y la disminución de la producción de ATP. (Hroudová J et al, 2014).

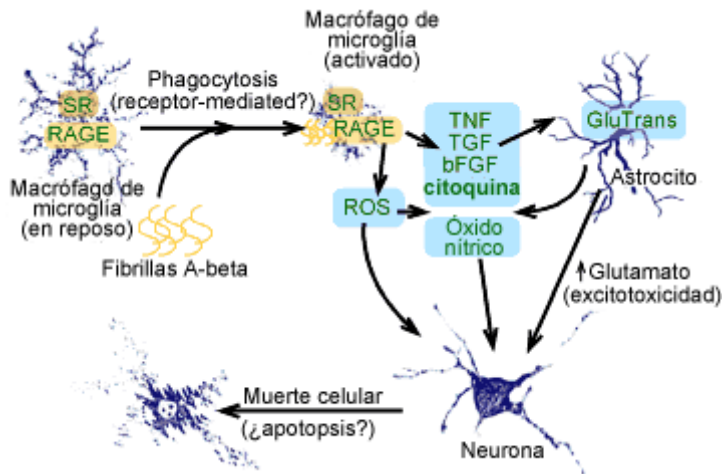
Entre otras hipótesis se encuentra la de la apolipoproteína P (APOE). La APOE es una glicoproteína que ayuda a la reparación neuronal, tiene propiedades antiinflamatorias y facilita el crecimiento de las dendritas. Sin embargo, una de sus isoformas se relaciona con la EA porque promueve los depósitos amiloides, la neurotoxicidad, el estrés oxidativo, la formación de ovillos neurofibrilares y la inflamación del cerebro (Nishitsuji K et al 2011).

Neuroinflamación y daño oxidativo en la EA

La neuroinflamación es uno de los efectos secundarios de los depósitos β A y se caracteriza por la activación de las células gliales y la expresión de mediadores inflamatorios claves. La inflamación se vuelve crónica, se generan especies reactivas de oxígeno, óxido nítrico y proteinasa, lo cual provoca neurotoxicidad. La reacción a la inflamación puede estimular la regeneración A β y formar un círculo vicioso (Armstrong RA, 2011).

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 15. Cascada inflamatoria mediada por la glía



Un radical libre es un átomo o molécula, neutra o cargada, que contiene uno o más electrones desapareados, en su órbita externa confiriéndoles inestabilidad con un alto poder oxidante o reductor, haciéndolos reaccionar con otras moléculas para lograr estabilidad química; como consecuencia, dichas moléculas sufren alteración en su composición, estructura o función y se producen normalmente durante el metabolismo de la célula (Halliwell B et al, 1999). Los radicales libres se clasifican de acuerdo con el tipo de átomo del cuál provienen, de esta forma tenemos radicales libres derivados del oxígeno y del nitrógeno. Ambos participan en reacciones de oxidación-reducción como parte de un sistema fisiológico **celular**. Un desequilibrio en el estatus prooxidante/antioxidante da como resultado estrés oxidativo/nitrosativo provocando citotoxicidad. Un ejemplo es la peroxidación de lípidos de membranas biológicas conocido como lipoperoxidación que tiene como producto final al malondialdehído. La toxicidad de este producto se debe a su alta reactividad con proteínas y ADN para formar productos modificados de bases nitrogenadas como la pirimidopurino-na, que es altamente mutagénica y carcinogénica. Las investigaciones encaminadas a conocer la capacidad de los antioxidantes en la dieta diaria para prevenir/revertir el estrés oxidativo/nitrosativo son de gran importancia ya que tal información puede ser usada con fines terapéuticos para el desarrollo de medicamentos efectivos y selectos, capaces de bloquear la acción de dichos radicales (Halliwell B et al, 1999).

La neuroinflamación observada en la EA depende fundamentalmente de la activación glial. El desbalance entre la actividad inductora de daño inflamatorio y neuroprotectora-moduladora de la glía puede llevar a la neurotoxicidad. Este desbalance podría ser promovido por condiciones como la hipoxia e inflamación, fenómenos fisiopatológicos observados frecuentemente en el envejecimiento que podrían actuar a través de una multiplicidad de mecanismos efectores. Estos procesos finalmente conducen a la muerte neuronal y desempeñan un papel fundamental en el deterioro progresivo que presentan los pacientes con enfermedades neurodegenerativas (Dhib-Jalbut S et al, 2006).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La asociación de la inflamación con la EA se planteó a fines de los años 80 y desde entonces se han identificado mediadores de inflamación como interleuquinas, IL-1e IL-6, y TNF α (Factor de necrosis tumoral), la liberación de dichas interleuquinas está determinada por la existencia de una taquicinina, cuya acción es proinflamatoria, la sustancia P (Muñoz M y Coveñas R, 2014). Por otro lado, estudios epidemiológicos mostraron que el tratamiento crónico con anti-inflamatorios no esteroideos les disminuía la incidencia de EA (Minghetti L, 2005), aunque esto no se ha confirmado en protocolos clínicos realizados con distintos anti-inflamatorios, (Zhang J et al, 2006; Von Bernhardt R. 2007), así como bloqueando la acción de la sustancia P, bloqueando sus receptores (Muñoz et al, 2011a).

Por otro lado, microglia activada participa en la fagocitosis de A β a través de su actividad fagocítica y por lo tanto evita la deposición de A β y la formación de placas amiloides (Li Y.et al 2011). Siendo fundamental la comprensión sobre el papel de la microglia y la neuroinflamación en los mecanismos y la terapéutica de la EA (Teng Jiang et al. 2015)

Figura 16. La microglia y la neuroinflamación

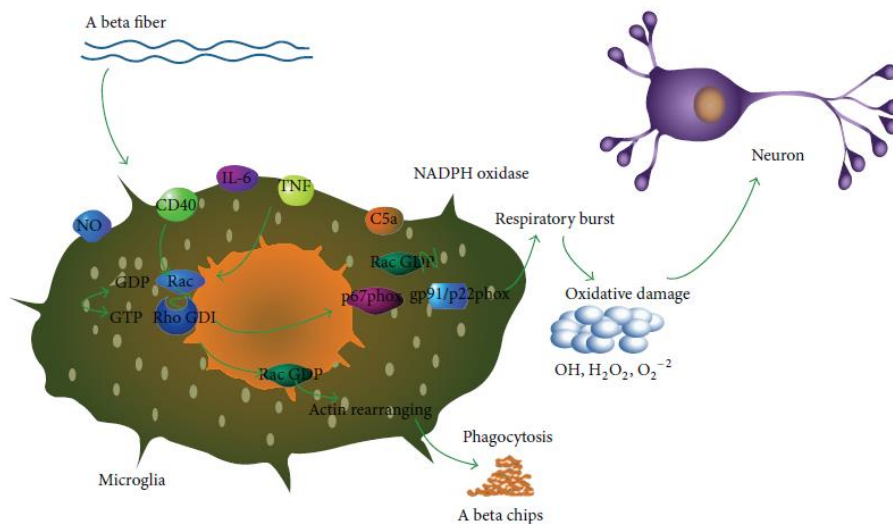


FIGURE 1: A beta activates inflammatory mediators and the complement system on microglia and then generates free radicals and makes toxic effects on neurons; on the other hand glial cells phagocytize A beta chips.

La hipótesis neuroinmune de la patogenia de la EA afirma que un trastorno genético heredado o inducido por factores endógenos y/o exógenos daría lugar a una disrupción del citoesqueleto neuronal, y de la arquitectura de las membranas celulares, ocasionando la exposición de epitopos anómalos de membrana que serían reconocidos por la microglia en reposo. Una vez activada ésta, se iniciaría la síntesis de interleucina 1 (IL-1), que dispararía una cascada de episodios neuroinmunes cuyo fin común sería la destrucción de las neuronas, con formación de placas neuríticas en los focos de detritus. Esta hipótesis está basada en el hecho de que se han detectado altos niveles de IL-1 en el tejido cerebral, líquido cerebro espinal (LCE) y suero

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

de los pacientes con EA. En la actualidad puede concluirse que la EA cursa con activación de mecanismos inflamatorios e inmunes (Cacabelos R et al, 1994; Shenk D et al, 1999).

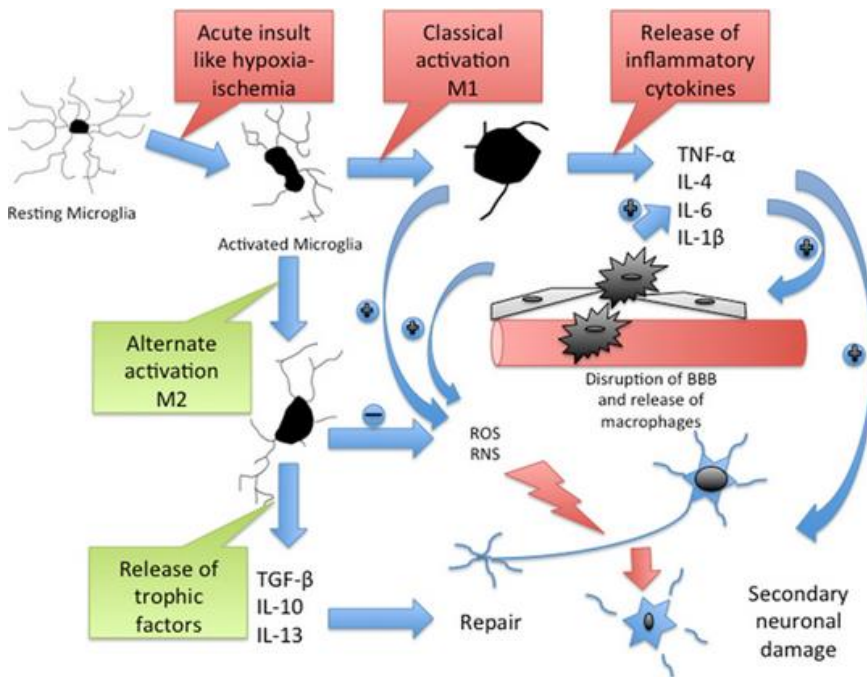
Se ha demostrado la presencia de anticuerpos anómalos en pacientes con EA. Formulándose la hipótesis de que estos anticuerpos, en lugar de cumplir su papel fisiológico al rechazar agresores externos, podrían atacar a los componentes de la barrera hematoencefálica. Una vez que se altera la integridad de la barrera hematoencefálica, un determinado virus u otras toxinas pueden acceder al cerebro y desencadenar la enfermedad.

Activación de la Microglía en la EA

Las microglías son los macrófagos del tejido del cerebro, representan el sistema inmune innato. Estas células normalmente proporcionan el mantenimiento del tejido y la vigilancia inmune del cerebro. En la EA el depósito de la enfermedad amiloide cerebral provoca la activación de la microglía y la elaboración de moléculas proinflamatorias. Los receptores tipo Toll están implicados en reconocimiento microglial y la respuesta a las fibrillas de amiloide. Estas células exhiben fenotipos complejos y heterogéneos, apreciando que reflejan tanto la plasticidad de estas células y su capacidad de transición entre estados de activación. Fenotípicamente la diversidad está asociada con la inactivación de la respuesta inflamatoria y la reparación de tejidos (Cameron B et al, 2010). Hay una mutua relación entre el daño de las neuronas y la activación de la microglía. Por un lado, el daño neuronal puede promover toxicidad pequeña de pegamento para activar las células, paracrina de citoquinas, y señalización autocrina; todo lo que puede conducir a la activación sostenida de la microglía. Por otro lado, la activación crónica de la microglía se puede utilizar como estímulo de las citoquinas cerebrales y fuente de radicales libres activos; estos factores promueven juntos daños neuronas y forman un círculo vicioso; se ha considerado una degeneración neuronal crónica como un importante mecanismo en el proceso de desarrollo de la enfermedad. Una revisión reciente (Ying Li et al, 2014) mostró que los fármacos inhibidores de la activación de la microglía pueden proteger las neuronas dopaminérgicas en cierta medida; esto es también una gran importancia en el proceso de la pérdida dopaminérgico de las neuronas de lesiones desde el lado de la activación de la microglía.

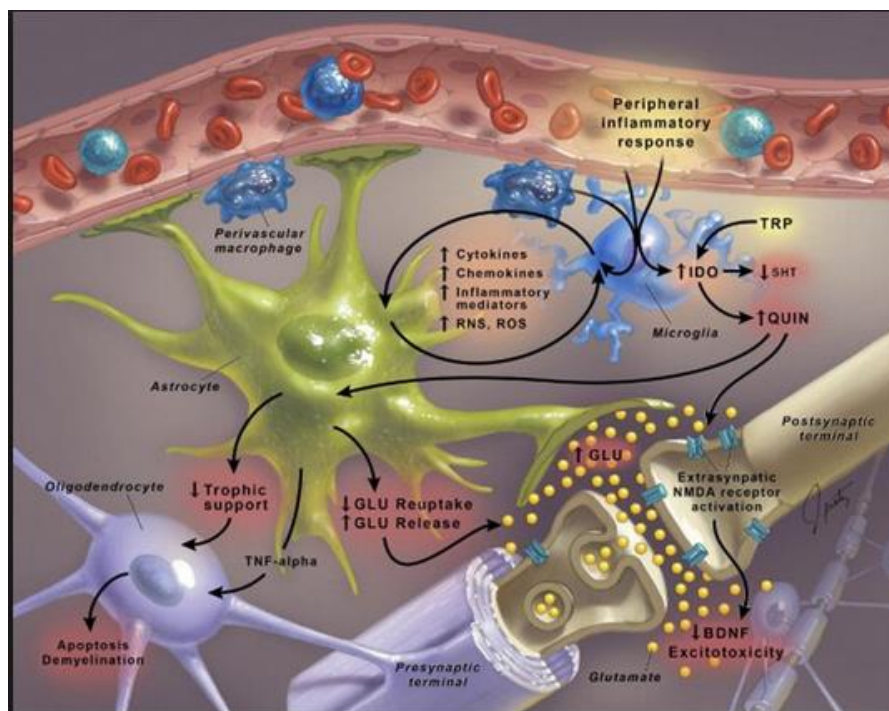
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 17. Efectos de Microglía activada (Ying Li et al , 2014)



La microglía activada y los astrocitos son los generadores principales de factores pro-inflamatorios, aunque también las neuronas secretan citoquinas en forma constitutiva (Asanuma M et al 2006)

Figura 18. Activación de la microglía en la EA (Ying Li et al 2014)



Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El A β activaría a la microglía, ya sea activando la fagocitosis e induciendo daño sobre neuronas vecinas en forma directa, o agrediéndolas indirectamente, al liberar citoquinas inflamatorias, óxido nítrico y otras neurotoxinas capaces de dañar neuronas cercanas. Esto podría autopropagar el proceso inflamatorio en caso que fallen los mecanismos de regulación normales ejercidos por los astrocitos y las neuronas (Asanuma M et al 2004; Sayre LM et al , 2011; Salmon DP et al, 2002)

La patogénesis de la EA aún no está clara en la actualidad; la mayoría estudiosos piensan que debe ser causada por múltiples factores. En la actualidad, está en debate si la A β directa o indirectamente afecta a las neuronas por la actividad microglial. En una palabra, la inflamación mecanismo (inmune) puede jugar un papel fundamental en la evolución patológica, y los AINE u otros tratamientos antiinflamatorios pueden abrir nuevas vías para la prevención de la EA (Li Y. et al, 2014).

Cameron et al, discuten la evidencia reciente de que el cerebro enfermo puede ser infiltrado por los monocitos circulantes y que estas células pueden comprender una subpoblación única de células mieloides que pueden ser funcionalmente distinta de la microglía endógena (Cameron B et al, 2010).

Estrés oxidativo

El cerebro es particularmente vulnerable al estrés oxidativo ya que presenta una elevada tasa metabólica derivada de la glucosa, posee niveles muy bajos de defensas antioxidantes, contiene altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, que son posible blanco de peroxidación lipídica, y además es rico en actividades enzimáticas relacionadas con metales de transición, los cuales pueden catalizar la formación de radicales libres (Halliwell B et al, 1992).

El estrés oxidativo parece jugar un papel importante en la EA aunque aún se discute si es un mecanismo causal o sólo estaría envuelto en la propagación del daño (Sitte N et al, 2000)

Las neuronas son altamente sensibles al estrés oxidativo, el cual actúa a diferentes niveles activando una serie de vías relacionadas con daño oxidativo y apoptosis, además de activar un proceso inflamatorio no específico. El grado de deterioro en las enfermedades neurodegenerativas está correlacionado con la degeneración y subsiguiente pérdida de poblaciones neuronales específicas. Esta pérdida de neuronas se correlaciona con lesiones patológicas que abarcan proteínas del citoesqueleto que son selectivamente vulnerables al estrés oxidativo, por lo que se tiende a especular que la química de los radicales libres juega un importante papel en estas condiciones neurodegenerativas.

Sin embargo, aún no está determinado cómo los efectos del estrés oxidativo se manifiestan diferencialmente en poblaciones neuronales específicas afectadas por cada enfermedad.

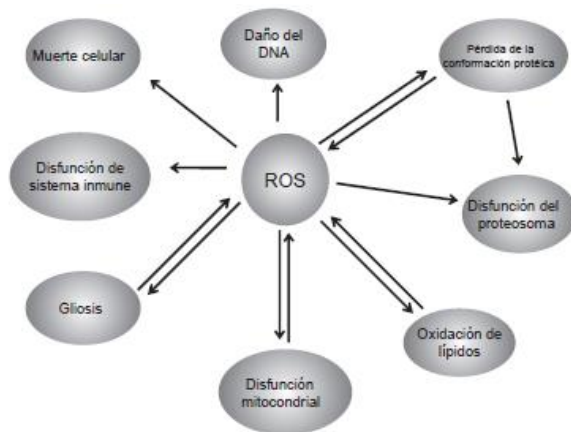
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El estrés oxidativo parece ser la unión entre factores ambientales (pesticidas herbicidas, exposición a metales pesados), factores endógenos y factores de riesgo genético. Aún no está claro, si el estrés oxidativo puede ser un epifenómeno o tener un papel causal. Existen evidencias en ambos sentidos que indican que los oxidantes inducen distintas consecuencias patológicas que amplifican y propagan el daño y que llevan a una degeneración irreversible. La capacidad de las especies reactivas de activar el sistema inmune a través de la activación de diferentes vías metabólicas puede ser las responsables de la progresión de las enfermedades neurodegenerativas. (Angoa M et al, 2007)

Varias líneas de investigación han implicado al estrés oxidativo y daño por radicales libres en la etiología y patogénesis de la EA. Este daño incluye una asociación de defectos en el metabolismo energético y la compensación de las enzimas antioxidantes (De Leo ME et al, 1998).

El estrés oxidativo secundario a la disfunción mitocondrial se observa en etapas tempranas de la EA, y podría depender de daño directo o indirecto por el A β . Recientemente se ha descrito la interacción del A β con un ligando mitocondrial, la A β -*binding alcohol dehydrogenase* (ABAD). ABAD está incrementada en las neuronas en los pacientes con EA y funcionalmente se le ha asociado a muerte celular (Angoa M et al, 2007).

Figura 19. Efectos de las especies reactivas al oxígeno en el cerebro (Angoa M, 2007)



Los radicales libres (RL) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) son normalmente generados por el metabolismo celular para la obtención de energía (McCord JM, 2000).

Los sistemas antioxidantes eliminan las ROS para mantener un equilibrio de óxido-reducción en el organismo. En un estado de estrés oxidativo, se presenta un exceso de pro-oxidantes que no puede ser contrarrestados por los sistemas antioxidantes. Bajo condiciones patológicas, existe un estado de estrés oxidativo donde el metabolismo celular aumenta la producción de radicales libres y ROS (Lin MT et al, 2006). Cuando los propios mecanismos celulares no

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

pueden contrarrestar estos cambios, se inicia una cadena de reacciones que involucran alteraciones de los canales iónicos, aumento en la liberación de calcio (Hilliwell B et al, 2006) y en la producción de óxido nítrico (ON). El aumento en los niveles de calcio y ON estimula la producción de interleucinas inflamatorias causando gliosis e incrementando el estado de estrés oxidativo. Las ROS también activan al factor nuclear *kappa* beta (NF κ B), produciendo una alteración en la regulación del sistema inmune.

Una gran cantidad de evidencias indican que el incremento en la generación de ROS, y un déficit en las defensas antioxidantes (Olanow CW et al, 1994), así como la disminución en la eficiencia de los mecanismos de reparación del DNA y la proteólisis, además de pérdida de regulación del sistema inmune, son factores que contribuyen primariamente al aumento de estrés oxidativo y llevan a daño cerebral progresivo.

Las modificaciones en las proteínas, se asocian por lo general con pérdida de función y pueden llevar por un lado al desdoblamiento y degradación de las proteínas dañadas, o por el otro, a su agregación, resultando en acumulación como inclusiones citoplásmicas, tal como se observa en las enfermedades neurodegenerativas (Dalle-Donne I et al, 2005). Las proteínas oxidadas son de alta sensibilidad a la degradación por el proteasoma (Grune T et al, 1997).

Estos procesos finalmente conducen a la muerte neuronal y desempeñan un papel fundamental en el deterioro progresivo que presentan los pacientes con enfermedades neurodegenerativas (Dhib-Jalbut S et al, 2006).

Desde hace algunos años, las investigaciones se han centrado en los defectos de la cadena respiratoria mitocondrial para dilucidar el papel de las mutaciones en el DNA mitocondrial y de la combinación de la expresión de genes de DNA nuclear y mitocondrial (Bonilla E et al, 1999). Hay estudios que reportan la presencia de glicosilación en las marañas neurofibrilares y en las placas seniles (Moreira PM et al, 2005), modificaciones lipoxidativas en proteínas (Liu Z et al, 2003), modificaciones en neurofilamentos inducidas por grupos carbonilo y nitrotirosina (Smith MA et al, 1997) en neuronas hipocámpales con EA. También se reportaron estudios que indican la presencia de un estado de estrés oxidativo regionalizado en cerebros con EA, sobre las bases de una cuantificación de daño en proteínas y DNA (Sultan R et al, 2006)

Más aún, existen evidencias de un incremento en la oxidación de RNA (Shan X et al, 2006) y peroxidación de lípidos en la EA (Korolainen MA et al, 2006).

A pesar de la amplia documentación de daño oxidativo en la EA, las fuentes del incremento de ROS responsables de iniciar dicho daño aún permanecen poco claras. Algunos candidatos son:

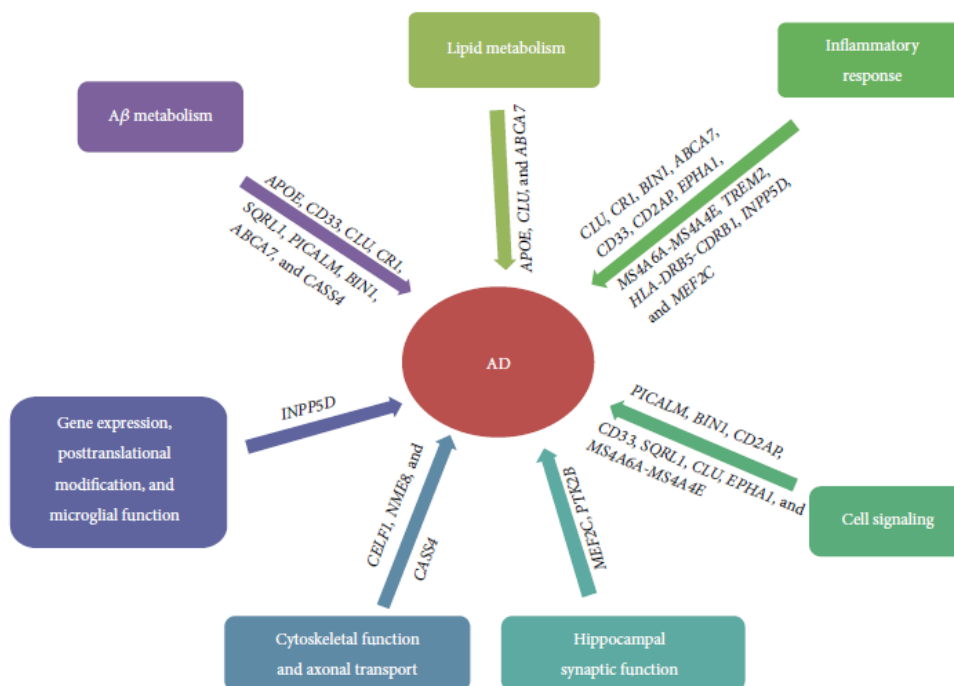
a. La microglía activada, como aquella presente alrededor de las placas seniles, ya que es una fuente de óxido nítrico y superóxido, los cuales reaccionan para formar peroxinitritos.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

b. Los depósitos de proteínas A β , debido a que estos promueven la generación de ROS por su conjugación con metales de transición o por su interacción con receptores de superficie que participan en la respuesta inflamatoria (Sayre LM et al, 2001 et al, 2001)

c. El estrés oxidativo puede modificar proteínas por los productos finales de glicación y lipoxidación avanzada (AGEs y ALEs, respectivamente), lo cual puede activar receptores de superficie, como los RAGE, y al receptor *scavenger* tipo A, para inducir un incremento en la producción de ROS (Sato T et al, 2006). Los AGEs y ALEs también pueden unirse a iones metálicos, lo cual da como resultado un incremento autocatalítico de ROS (Angoa M et al, 2007).

Figura 20. Potential pathways of susceptibility genes involved in the pathogenesis of AD.(Zhangyu Zou, et al 2014)



Agentes ambientales en la EA

Se piensa que numerosos agentes ambientales, que incluyen metales como el aluminio y mercurio, plaguicidas, factores dietéticos y daños en el cerebro pueden contribuir a la aparición de la enfermedad (Kawahara M et al, 2011; Mutter J et al 2010).

Estudios realizados *in vivo* e *in vitro* han asociado los depósitos de A β , formación de las placas y acumulación de proteína tau con el desbalance de la homeostasis de los iones metálicos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

como el zinc y el cobre. La homeostasis de estos iones está severamente desregulada en la EA, fenómeno que afecta el metabolismo de la PPA. La proteína A β unida a estos metales y una alteración del metabolismo PPA dan lugar a procesos neurotóxicos. A principios de 1990, *AshleyBush* descubrió que el Zn (II) y Cu (II) inducían agregación de A β en su ausencia las placas seniles en muestras de tejidos celulares se disolvían. Fue establecido que la combinación de A β con iones metálicos generan concentraciones incrementadas de peróxido de hidrógeno, originan radicales hidroxilos que ocasionan daño oxidativo en el cerebro (Multhaup G et al, 2002).

El peróxido de hidrógeno, una de las especies reactivas clave como mediadora de estrés oxidativo, es generada durante la agregación de las proteínas amiloides asociadas a algunas enfermedades neurodegenerativas. El peróxido de hidrógeno es catalíticamente convertido en el radical hidroxilo altamente agresivo en presencia de Fe(II) y Cu(I), el cual vuelve a las proteínas amiloidogénicas (β A y α -sinucleína) vulnerables al ataque por el radical hidroxilo.

Los pacientes con EA, en comparación a pacientes con otras demencias, poseen concentraciones elevadas de aluminio en plasma. Se ha publicado el hallazgo de aluminosilicatos en las placas seniles y dentro de las neuronas que contienen los ovillos neurofibrilares típicos de la enfermedad. En estudios epidemiológicos se ha relacionado el número de casos de EA y el contenido de aluminio en el agua que se consumía. Como el aluminio es un metal neurotóxico, podría estar involucrado en el mayor daño oxidativo observado en la EA, ya que puede estimular -en presencia de hierro- la oxidación de lípidos y proteínas. Por otra parte, el aluminio también estimula a los fagocitos, los cuales generan grandes cantidades de especies reactivas del oxígeno. También se han hallado elevadas concentraciones de lípidos oxidados en el cerebro de ratones intoxicados crónicamente con aluminio. No obstante, el papel del aluminio en la EA es aún controvertido y permanece en el área de las hipótesis (Rondeau V, 2002; Gupta VB et al, 2005).

Hipercolesterolemia

En la EA también se plantea que existe una relación entre deposición amiloide y colesterolemia. Mediante la utilización de un modelo de ratón transgénico de amiloidosis, se demostró que la hipercolesterolemia inducida por la dieta daba como resultado una dramática aceleración de los cambios bioquímicos y neuropatológicos en el ratón transgénico, por otra parte, el ratón hipercolesterolémico mostró marcado incremento en la deposición de amiloide y concentraciones de péptidos A β significativamente mayores en el SNC (Refolo LM et al, 2000). Otros investigadores también fundamentaron la conexión entre el colesterol elevado y la patología amiloide *in vivo*. En un estudio donde se emplearon ratones marcados con el gen de la proteína precursora de amiloide (PPA), que expresa la mutación de EA familiar Suiza, el incremento en el colesterol dietético condujo a cambios en los niveles de PPA y Ab en cerebro que correlacionaron negativamente con los niveles de colesterol en suero (Howland DS et al, 1998).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La reducción en PPA secretada conllevó al procesamiento de PPA amiloidogénica y finalmente una producción de Ab incrementada. Estos resultados demuestran que el procesamiento de PPA y el nivel de péptidos Ab puede ser modulada *in vivo* por la hipercolesterolemia y sustenta las evidencias de que el colesterol juega un papel mecánico en la formación de la placa amiloide (Pappolla MA et al, 2002).

Teoría basada en la Neurogénesis

La neurogénesis en el cerebro adulto es un proceso dinámico influido por la acción de neurotransmisores, hormonas, factores de crecimiento, estímulos ambientales y condiciones de estrés. Los factores ambientales, como el ambiente enriquecido, el aprendizaje instrumental fortalecido y el ejercicio físico, estimulan la neurogénesis, en tanto que el estrés, la separación maternal o la abundante exposición a glucocorticoides la inhiben (Fabricius F et al, 2008)

Existen dos épocas: antes y después de Joseph Altman. Antes, se refería que después del nacimiento el cerebro era incapaz de crear nuevas neuronas o de regenerarse tras una lesión. A partir de 1965, surge la propuesta de Altman acerca del proceso de generación de nuevas neuronas (neurogénesis) en el cerebro adulto (Altman J, 1965).

Existen diferentes propuestas de mecanismos biomoleculares que controlan la neurogénesis en el cerebro adulto:

- Propiedades estructurales y de composición celular del nicho (células endoteliales, ependimales, astrogía, células troncales neurales y neuronas maduras), que participan en la regulación de las células progenitoras neurales adultas (Jordan JD et al, 2007)
- Genes como el *meis-1*, que controla la proliferación de las células multipotentes (Bessa J et al, 2008) y el *c-myb*, requerido en el cerebro adulto para la proliferación de células progenitoras y el mantenimiento del nicho de células troncales neurales (Malaterre J et al, 2008).
- Factores de crecimiento que regulan el ciclo celular de las células progenitoras neurales, entre ellos el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor 2 de crecimiento fibroblástico.
- Sistemas de señalización celular como la *Sonic hedgehog* (Shh), que estimula a los progenitores neurales adultos para reentrar al ciclo celular y genera nuevas neuronas *in vitro* *in vivo* [31]; y el Wnt, secretado por los astrocitos de las zonas neurogénicas adultas, que causa la proliferación de neuroblastos y regula la especificación neuronal, y si se inhibe el Wnt, se reduce la neurogénesis en el hipocampo, pero la sobreexpresión de Wnt-3, la acrecienta (Morris D et al, 2007); y el ácido retinoico, un

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

importante factor de diferenciación neuronal que comparte vías de señalización con Wnt y participa en la generación de los nichos neurogénicos del cerebro adulto.

- Algunas moléculas que regulan la especificación de las células progenitoras neurales, como la proteína morfogénica de hueso (BMP), que promueve la gliogénesis *in vitro* e *in vivo* (Kasai M et al, 2005); la nogina, secretada en la zona subventricular, y la neurogenesina-1, en la capa subgranular del giro dentado, que son antagonistas de la BMP y participan en la generación del nicho neurogénico (Itsykson P et al, 2005); y la sinapsina III, una proteína asociada a las vesículas sinápticas, que se expresa en la capa subgranular del giro dentado y regula la proliferación de las células progenitoras neurales (Kao HT et al, 2008)
- La precisión del destino de las células troncales neurales es regulada por las proteincinasas activadas por el mitógeno MAPK: la cinasa regulada por la señal extracelular (ERK), la proteincinasa activada por el estrés/JNK (JNK/SAPK), la p38, el ERK5 y las isoformas, que pueden presentar variaciones (Miloso M et al 2008).
- Neurotransmisores como el glutamato, la sustancia P, el ácido γ -aminobutírico, la serotonina, la noradrenalina y la dopamina, regulan la proliferación, la migración, la maduración neuronal y la integración sináptica [40]. La sustancia P actúa en el receptor de neurocinina-1 (NK1R) activando la proliferación de las células progenitoras neurales en la zona subventricular y la capa subgranular del giro dentado de ratas adultas (Park SW et al, 2007) En resumen, la actividad neurogénica en el cerebro adulto responde a factores extrínsecos (entrenamiento motor, cognitivo y cambios ambientales) e intrínsecos (factores neurotróficos, citocinas y neurotransmisores, asociados a cascadas moleculares que involucran factores de transcripción y vías de señalización) (Fernández CI et al 2004; Thuret S et al, 2009)

Biomarcadores en la EA

Los biomarcadores han irrumpido con fuerza en el contexto del diagnóstico de la EA. Son el reflejo del estado de nuestro conocimiento de la enfermedad y han supuesto un notable avance para su caracterización. Pese a ello, aún adolecen de serios problemas para su uso clínico generalizado entre los que se encuentran, en primer lugar, una insuficiente estandarización de los métodos de medida y de los puntos de corte que permitan diferenciar lo normal de lo patológico. Esta estandarización depende también del estadio de la enfermedad en que se halle el paciente. El margen de error de algunos de los métodos es aún muy grande para su generalización. Se critica de los biomarcadores no sólo una probabilidad de certeza en el diagnóstico inferior al 80%, sino las consecuencias negativas que puede acarrear un diagnóstico de la enfermedad sin una mejora de las opciones terapéuticas. Además, son poco sensibles en las etapas tempranas de la enfermedad y sólo deberían aplicarse a aquellos individuos que muestran algún mínimo déficit cognitivo (Pernecky R et al,

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

2012). En ciertos grupos clínicos, el uso de biomarcadores puede tener un valor añadido con respecto a su empleo en la población general debido a la mayor dificultad para diferenciar su situación clínica respecto al componente de neurodegeneración. (López-Álvarez J et al, 2015)

1.2.8. Clasificación de EA

La demencia es un síndrome multietiológico causado por una disfunción cerebral, que suele ser focal, multifocal o difusa. Se pueden considerar tres grandes categorías etiológicas, según la Sociedad Española de Neurología (SEN). Clasificación etiológica de las demencias por Consenso del GENCD de la SEN:

- Demencias degenerativas primarias: Demencia tipo Alzheimer y otras demencias primarias.
- Demencias secundarias: demencias vasculares y otras demencias 2ª.
- Demencias combinadas o de etiología múltiple: EA con enfermedad cerebrovascular asociada. Otras demencias combinadas.

Las demencias degenerativas primarias, se definen como causadas por un trastorno que afecta primariamente al sistema nervioso central, y cuya etiología no es bien conocida en la actualidad. En la mayoría de ellas se produce un depósito cerebral de material proteico de índole diversa (A β , Tau, alfa-sinucleína, ubiquitina), por lo que una "proteínopatía cerebral" podría constituir un mecanismo patogénico común en muchas demencias degenerativas. No obstante, es probable que la diferencia clínica entre ellas se deba más a la distribución neuroanatómica de las lesiones que a la naturaleza de las mismas.

La más frecuente, es la EA o demencia tipo Alzheimer, que por sí sola representa en torno al 50% de los casos en las series clínicas de los hospitales y entre el 60-80% del total de los casos en las series anatomopatológicas. (Robles A, 2002)

Diferentes condiciones que se pueden manifestar como demencia:

- Ejemplos de demencias "no tratables": Enfermedad de Alzheimer; Enfermedad de cuerpos de Lewy; enfermedad cerebrovascular; síndrome de inmunodeficiencia adquirido (SIDA); enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; enfermedad de Pick; enfermedad de Huntington; enfermedad de Parkinson idiopática; demencia fronto-temporal; parálisis supranuclear progresiva; degeneración córticobasal.
- Ejemplos de causas "tratables" que cursan con demencia: Depresión; hipotiroidismo; déficit de vitamina B12; vasculitis; neurolúes; tumores (Robles A, 2002).

Clasificación Teórica: demencias corticales y subcorticales

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Demencias corticales, con afectación de corteza, se caracterizan por déficit cognitivo y el prototipo es el Alzheimer.

Demencias subcorticales, se caracterizan por otros trastornos tipo del movimiento, el prototipo es la Enfermedad de Parkinson. En etapas avanzadas, la afectación es global y esta distinción ya no se podría hacer. Finalmente, afecta a todas las estructuras cerebrales.

1.2.9. Criterios diagnósticos de la EA

Conforme se ha avanzado en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas, ha aparecido la necesidad de perfilar unos criterios diagnósticos de consenso para uniformizar la práctica médica.

En 1980 se publicaron los criterios DSM-III, los primeros operativos para el diagnóstico de los trastornos mentales, incluidas las demencias, y en 1984, los criterios NINCDS-ADRDA (McKhann G, 1984) para el diagnóstico de la EA. Hasta 2009 el diagnóstico para EA se establecerá en base a los criterios DSM IV TR y/o CIE-10 y NINCDS-ADRDA: EA posible, probable o de certeza. Y para el diagnóstico de Demencia vascular, nos basaremos en criterios NINCDS-AIREN, con nivel de evidencia B (Alayón A et al, 2009). Recientemente se han desarrollado criterios diagnósticos específicos para otras demencias, así en 2015 los nuevos criterios para EA los más utilizados son los denominados criterios de Dubois et al (2007) y la actualización de los criterios NINCDS-ADRDA, que fueron revisados en 2011 por su mismo autor y el trabajo conjunto de grupos pertenecientes al National Institute of Aging estadounidense (NIA) y la Alzheimer's Association (AA) y constituyen ahora los denominados criterios NIA-AA (McKhann GM, 2011). Se mantiene CIE-10 (última revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades CIE), DSM-5, revisión (Grupo de trabajo de la Guía de la práctica clínica sobre la atención integral a las personas con EA y otras demencias, 2009).

Describimos los más utilizados en la práctica clínica actual:

Criterios DSM El Manual diagnóstico y estadístico de las enfermedades mentales (DSM) de la Asociación Americana de Psiquiatría (APA)(1995) en la cuarta edición revisada (DSM-IV-TR) sigue considerando primordial el déficit mnésico que debe acompañarse de alteraciones afásicas, apráxicas, agnósicas o en las funciones ejecutivas y provocar un deterioro en el funcionamiento habitual para considerarse como demencia. También en esta clasificación los síntomas psiquiátricos obtienen escasa relevancia. El DSM-5 ha modificado sustancialmente sus criterios con respecto a la versión anterior. Al ser una clasificación de enfermedades tampoco incluye los estadios preclínicos, pero sí contempla un estadio patológico predemencia al estilo del deterioro cognitivo leve de Petersen (Petersen RC, 2009). Se introduce el concepto de 'trastorno neurocognitivo', que ocupa el lugar de los 'trastornos mentales orgánicos' de ediciones anteriores. Así, los trastornos neurocognitivos se dividirán en tres categorías: delirium, trastorno neurocognitivo menor y trastorno neurocognitivo mayor. El DSM-5 incluye

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

distintos subtipos etiológicos dentro de su clasificación de trastornos neurocognitivos (López-Álvarez et al, 2015).

Criterios NINCDS/ADRDA para la EA. (McKhann G et al, 1984; Molinuevo JL et a, 2009).

EA probable: Síndrome demencial demostrado mediante un cuestionario concreto y confirmado mediante un test neuropsicológico. Constatación de déficit en dos o más áreas cognitivas. Empeoramiento progresivo de la memoria y otras funciones cognitivas.

No existe un trastorno del nivel de conciencia. Inicio entre los 40 y 90 años de edad. Ausencia de enfermedades sistémicas o cerebrales que puedan causar los síntomas que presenta el enfermo.

La demencia se define por un declinar de la memoria y de otras funciones cognitivas respecto al estado del enfermo previo al comienzo de la enfermedad.

EA posible: El diagnóstico de EA posible se basa en lo siguiente: Síndrome demencial sin causa aparente aunque haya variaciones en el comienzo del proceso, su presentación y curso clínico con respecto a la EA característica. Si hay otro trastorno cerebral u otro proceso sistémico suficientes para causar una demencia, pero no se considera que sean la causa real de ésta. Si el enfermo tiene un déficit cognitivo aislado gradualmente progresivo y no se demuestra otro síntoma.

EA segura: Se exige que el enfermo haya cumplido en vida los criterios diagnósticos de EA probable y que existan datos confirmatorios patológicos obtenidos mediante biopsia cerebral o necropsia.

Clasificación NIA –AA: Es la revisión de los criterios NINCDS-ADRA de 1984 por sus autores, el grupo dirigido por McKhan en 2011, donde se dan valor a los marcadores biológico (Mc Khann G, 2011).

Criterios NIA-AA para el diagnóstico de demencia por cualquier causa:

Se diagnostica demencia cuando hay síntomas cognitivos o conductuales que:

1. Interfieren con la capacidad de funcionar normalmente en el trabajo o en las actividades habituales
2. Suponen un deterioro con respecto a los niveles de rendimiento y funcionamiento previos
3. No se explican por la presencia de un delirium o de un trastorno psiquiátrico mayor
4. Se detectan y diagnostican por la combinación de la historia clínica obtenida en la entrevista con el paciente y un informador que lo conoce, y la valoración objetiva del estado mental, bien

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

sea una evaluación neuropsicológica formal o una evaluación cognitiva en la cabecera del paciente

5. La alteración cognitiva o conductual involucra al menos dos de los cinco siguientes aspectos:

- a) Capacidad alterada de adquirir y recordar nueva información
- b) Alteración o cambios en el razonamiento, manejo de tareas complejas o capacidad de juicio
- c) Alteración de las capacidades perceptivas y visuoespaciales
- d) Alteración de las funciones del lenguaje
- e) Cambio de personalidad o en el comportamiento

Tabla 1. Diferencias entre los criterios NINCDS-ARDRA y NIA-AA

	NINCDS-ARDRA	NIA-AA
Edad de aparición	De los 40 a los 90 años	A cualquier edad
Clínica	Presencia de síndrome amnésico	Síntomas cognitivos o conductuales
Deterioro cognitivo leve	No recogido	Se diagnostica en función de la repercusión funcional
Biomarcadores	No	Evidencia opcional de biomarcadores de fisiopatología Alzheimer

Criterios de Dubois et al:

El grupo de Dubois ha establecido recientemente criterios para el diagnóstico de la EA, no siendo de aplicación para otro tipo de demencia. Considerando fundamental la afectación gradual y progresiva de la memoria episódica, bien aislada o bien asociada con otras alteraciones cognitivas, pero siempre objetivada mediante los resultados de tests neuropsicológicos. Junto con la presencia de biomarcadores como la atrofia en el lóbulo temporal medial evidenciada por RM, la alteración de los biomarcadores en líquido cefalorraquídeo, alteraciones en pruebas de neuroimagen funcional con PET o una mutación autosómica dominante en un familiar de primer grado. Los criterios de exclusión para este

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

grupo incluyen la rapidez de instauración del cuadro, la presencia de enfermedades psiquiátricas o de condiciones médicas o farmacológicas que puedan justificar la clínica, así como la existencia de datos que sugieran otro origen neurodegenerativo.

Criterios diagnósticos de EA probable de Dubois et al: reúne los criterios de A más al menos uno de B, C, D o E. (Dubois B et al, 2007)

Criterio principal: A. Presencia un trastorno de memoria episódica inicial y significativo que incluya las siguientes características: 1. Pérdida de memoria progresiva y gradual durante al menos seis meses comunicada por el paciente o un informador fiable 2. Objetivar mediante tests neuropsicológicos la pérdida de memoria episódica. Normalmente consiste en recoger fallos de reconocimiento que no mejoran o no se normalizan con claves 3. El defecto de memoria episódica puede ser aislado o asociarse a otras alteraciones cognitivas

Características adicionales:

B. Presencia de atrofia en el lóbulo temporal medial: Pérdida de volumen del hipocampo, la amígdala y la corteza entorrinal, evidenciada por resonancia magnética utilizando medidas visuales directas o por técnicas de volumetría

C. Alteraciones de biomarcadores en líquido cefalorraquídeo: Disminución de A β 42 o aumento de la concentración de tau total o tau fosforilada, o combinaciones de ellos Otros posibles marcadores futuros.

D. Alteraciones características de neuroimagen funcional con tomografía por emisión de positrones: Hipometabolismo de glucosa bilateral en regiones temporales y parietales Otras alteraciones con radioligandos que sean validadas tal y como se prevé con el compuesto B de Pittsburgh (PIB) o el FDDNP

E. Evidencia de una mutación autosómica dominante en un familiar de primer grado

Tanto los criterios de Dubois et al (2007) como los criterios NIA-AA (2011) suponen un importante avance en la conceptualización de la enfermedad y en la búsqueda de un diagnóstico precoz y deberán tenerse muy en cuenta a partir de ahora. (López-Álvarez, J et al, 2015).

1.2.10. DIANAS TERAPEÚTICAS

Los procesos que interactúan en la patogenia y progresión de la EA (acumulación de A β y otros derivados de la PPA, la disfunción mitocondrial y de neurotransmisores, el estrés oxidativo, la inflamación, los trastornos neuroinmunes y tróficos), son pasos importantes en los procesos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

que conducen a la muerte neuronal, por lo que parece ser improbable que una sola línea terapéutica pueda prevenir o disminuir de forma significativa la progresión de la enfermedad, resulta más efectiva una terapéutica que incluya estrategias paralelas que confieran neuroprotección y eviten la disfunción neuronal y la neurodegeneración ((López de Silanes M).

Muchos estudios y ensayos clínicos están en curso con una gran cantidad de terapias que modifican la enfermedad, pero todavía nadie tiene muestra un efecto definitivo en la Fase III de ensayos clínicos. La complejidad de la patogénesis de la EA es una explicación razonable para esto. Sin embargo, no está claro si la seña de identidad patológica de EA son las placas seniles y ONF, son causales, productos finales, o incluso los mecanismos de protección en los procesos fisiopatológicos de la EA (Reynaldo G et al, 2008).

Existen muchas terapias modificadoras de la enfermedad que afectan a la patogénesis subyacente de la EA, mientras que los resultados clínicos se mantienen sin cambios. Por ejemplo, las vacunas que buscan el aclaramiento del A β , redujeron significativamente los niveles, pero no tuvo efecto en la alteración de la progresión de la EA (Hardy J et al, 2002)

Por lo tanto, los mecanismos que subyacen en la patogénesis de la EA todavía necesitan mayor investigación y verificados antes de iniciar el desarrollo de las siguientes terapias modificadoras de la enfermedad.

El objetivo final sería desarrollar terapias modificadoras de la enfermedad que puedan ser introducidas de forma precoz, en un momento en que las personas todavía permanecen asintomáticas o mínimamente sintomáticas, para mantener su calidad de vida (Viloria A, 2011).

Dianas terapéuticas:

- Factores de riesgo

La EA, y los cambios histológicos de los que se acompaña, se han relacionado con la presencia de factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, diabetes o hipercolesterolemia, entre otros), de manera que un adecuado control de los mismos puede disminuir el riesgo de desarrollar la enfermedad a largo plazo.

- Neurotransmisión colinérgica

Además de poder aumentar la disponibilidad de acetilcolina a nivel sináptico por medio de los fármacos actualmente disponibles, otros inhibidores de la acetilcolinesterasa podrían ser comercializados en el futuro, como por ejemplo la *Huperzina* (un extracto natural, empleado en China como remedio para la demencia desde hace siglos)

La *Nicotina*, agonista natural de los receptores colinérgicos así llamados *nicotínicos*, no tiene aparentes efectos sobre la memoria del paciente con demencia.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Una estrategia prometedora en el tratamiento de la EA es la actuación a nivel de los mecanismos moleculares del procesamiento de la PPA y del péptido amiloide. La inactivación farmacológica de las beta y gamma-secretasas, así como la activación o potenciación de la alfa-secretasa (propiedad que poseen por ejemplo los estrógenos), son mecanismos que logran disminuir la producción de A β 42, y su depósito consiguiente. La *Phenserina* y el *Memoquin*, además de mejorar la función colinérgica (evitando la degradación de la acetilcolina producida), logran, respectivamente, disminuir la cantidad de PPA producida y la cantidad de amiloide depositado.

También algunos agonistas de receptores colinérgicos de tipo muscarínico (como las moléculas *Cevimeline* y *Talsaclidine*), disminuyen los niveles de A β en el tejido nervioso.

Existen diversas moléculas que logran modificar la estructura del amiloide ya producido, evitando así su acumulación, que se encuentran en distintas fases de ensayo clínico.

Los llamados MPAC -*Clioquinol*, *PTB2* y otros- (compuestos que preservan los iones metálicos con que normalmente trabaja el sistema nervioso), el *Tramiprosato* o *Alzhemed* (análogo de los glicosaminoglicanos con que interactúa el amiloide para formar los depósitos), el *iA β 5p* (inhibidor del plegamiento patológico del péptido amiloide previo a su acumulación), o los inhibidores del amiloide P sérico (presente también en los depósitos amiloides, así como en el suero de los pacientes), son sustancias con efectos beneficiosos a través de este mecanismo terapéutico.

La proteína GSK3, cuya función está anormalmente elevada en pacientes con EA, induce cambios en la estructura de la proteína tau (*hiperfosforilación*) que favorecen su agregación y acumulación patológica. La utilización de inhibidores de la GSK3, tales como el *Litio*, el *Valproato*, o los *Tiadiazoles* (TZDZ), está obteniendo unos buenos resultados preliminares en estudios experimentales.

Dianas terapéuticas: vacuna e inmunoterapia

Después de algunos intentos infructuosos de desarrollar una vacuna contra el amiloide de la EA (debido principalmente a la aparición de algunos casos de meningoencefalitis con la vacuna AN-1792), en la actualidad esta línea de investigación está recobrando protagonismo, alentada por los resultados de nuevos experimentos más selectivos.

En lugar de dirigirse contra la estructura completa del péptido amiloide, las nuevas vacunas lo hacen sólo contra pequeños fragmentos de la misma, lo que mejora la especificidad de la respuesta inmunológica desencadenada en el huésped.

Otras formas de inmunoterapia se basan en la utilización de anticuerpos selectivos contra el péptido amiloide (*anticuerpos monoclonales*), como el *Bapineuzumab*, que ha mostrado ser capaz de aumentar el aclaramiento de las placas neuríticas.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El *Etanercept*, un modulador de la respuesta inmunológica del organismo (inhibidor del factor de necrosis tumoral -TNF-), se encuentra asimismo en fase de ensayo clínico, con unos resultados preliminares esperanzadores.

Dianas terapéuticas: neuroprotección

Las distintas vías metabólicas por las que se produce el daño tisular en la EA acaban produciendo un aumento en el estrés oxidativo que soporta el tejido nervioso, por lo que son muy diversas las moléculas con propiedades *anti-oxidantes* investigadas en estos pacientes

Entre las más conocidas están las *vitaminas E y C* (también llamadas α -Tocoferol y Ácido Ascórbico, respectivamente), la *Coenzima Q10*, el *Ginkgo biloba*, o la *L-Carnitina*. Algunos anti-inflamatorios, como el *Ibuprofeno* o la *Propentofilina*, también han mostrado actividad anti-oxidante. El *Ácido Indol-3-Propiónico* (IPA u Oxigon), además de poseer potentes propiedades anti-oxidantes, ha demostrado actuar también como inhibidor de la formación de fibrillas de péptido amiloide

Dentro de estos factores tróficos cabe citar el Factor Neurotrófico Cerebral (BDNF), el Factor Neurotrófico Glial (GDNF), el Factor Neurotrófico Ciliar (CNTF), o el anteriormente citado Factor de Crecimiento Relacionado con la Insulina (IGF-1), todos ellos en estudio no sólo en modelos animales, sino también en pacientes afectados por la enfermedad

Uno de los factores que contribuye significativamente al proceso degenerativo puesto en marcha en la EA es un aumento en la actividad *apoptótica*, proceso metabólico por el cual un tejido se deshace de las células alteradas o dañadas (*muerte celular programada*), y que está anormalmente presente en estos casos.

Siguiendo esta línea, las moléculas inhibitoras de las *Caspasas*, unas de las principales proteínas participantes en este proceso (ejemplos de posibles fármacos a este nivel son la *Minociclina*, la *Cerebrolylina*, o el *Q-VD-Oph*), o del *Dimebon* (Latrepirdina), un anti-histamínico con propiedades frente a la apoptosis.

Cabe mencionar también la estrategia anti-citotóxica de algunas moléculas moduladoras de los receptores del glutamato, como los antagonistas del receptor NMDA (la ya comercializada *Memantina*, o el *Naromexano*), o los moduladores del receptor AMPA (moléculas *S18986* y *CX516*, por ejemplo).

Dianas terapéuticas: terapia génica y terapia celular

Algunas moléculas que comienzan a mostrar resultados positivos en la regulación de la actividad de genes terapéuticos son las *Tetraciclinas* (empleadas hasta ahora como antibióticos), la *Rapamicina* (utilizado para evitar el rechazo de trasplantes), o el *Ecdysone* (un derivado hormonal). En un sentido inverso, también se están desarrollando otras moléculas

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

capaces de inhibir la actividad de genes patológicos o mutados (fragmentos de RNA dirigidos contra regiones alteradas de un gen -*siRNA*-) (López de Silanes M.)

Dianas terapéuticas: Neurogénesis

Aunque las enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la EA, tienen diferentes rasgos e inicios, todas comparten la pérdida progresiva por apoptosis de neuronas de diferentes áreas, con el declive consecuente de funciones concretas, por lo que resulta inaplazable diseñar métodos para reemplazar las funciones de las células faltantes o dañadas. Se han abordado diversas variantes de terapéuticas potenciales en neurodegeneración, que por lo general no son excluyentes entre sí y posiblemente deban buscarse efectos sinérgicos entre ellas. Se deben eliminar las sustancias tóxicas involucradas en la patogenia. Una de las posibles rutas de eliminación de la proteína A β es intervenir en la respuesta inmune, mediante la opsonización dirigida al anticuerpo y la eliminación de la A β a través de células microgliales (Thompson A et al, 2008).

Se plantea el uso de Células troncales de la médula ósea como fuente alternativa de células troncales para la terapia de reemplazo celular en las enfermedades neurodegenerativas y, particularmente, en la EA. La vía MAPK modula la diferenciación celular, la proliferación, la supervivencia y la muerte neuronal, y podría ser una candidata para regular la neurogénesis de las células troncales de la médula ósea (Miloso M et al, 2008). Las células estromales, según Tondreau et al, 2008, pueden diferenciarse fiablemente en células neuronales, con expresión específica de genes y propiedades funcionales. Los animales envejecidos trasplantados en el estriado o el hipocampo recuperaron las funciones motoras o cognitivas, respectivamente, lo cual, como era de esperar, fue dependiente de la especificidad de la estructura 'restaurada' (Fernández CI et al, 2004).

Existe un 'condicionamiento' previo de neuronas troncales para activar programas genéticos intrínsecos. Según Waldau y Shetty, mejorar el microambiente cerebral para fomentar la maduración de neuronas derivadas del trasplante celular será de importancia capital (Waldau B et al, 2008). No hay un agente terapéutico convincente para inducir o vigorizar la neurogénesis en el cerebro adulto después del daño cerebral (Thompson A et al, 2008).

Los factores de crecimiento, son capaces de inducir y vigorizar la neurogénesis endógena (Miloso M et al, 2008), *in vitro* e *in vivo*, pero están reducidos en cerebros envejecidos y en EA, la reserva de células troncales neurales y su potencial proliferativo están disminuidos de manera acentuada (Brinton RD et al, 2006). En resumen, la neurogénesis continúa en casi toda la vida, pero disminuye marcadamente con la edad y con la progresión de fenómenos neurodegenerativos.

La inducción de fenómenos endógenos mediante el tratamiento epigenético (ambiente, ejercicio, estimulación cognitiva y multisensorial...) Un factor medioambiental con posibles propiedades neuroprotectoras y neurogénicas para la EA son los cambios en el estilo de vida a

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

través de la dieta, a saber: el extracto de *Ginkgo biloba* EGb 761 (Tchantchou F, 2007) y la curcumina, una antigua especia de la India, familia del jengibre, un antiinflamatorio natural con propiedades anticancerígenas. La curcumina induce neurogénesis en el hipocampo del cerebro adulto, efecto que se asocia a la activación del ERK y la cinasa p38, que son vías de transducción de la señalización intracelular, las cuales están implicadas en la regulación de la plasticidad neuronal y la respuesta al estrés. (Panchal HD et al, 2008).

1.3. SUSTANCIA P Y RECEPTOR NK-1

1.3.1 NEUROTRANSMISIÓN

El Sistema nervioso Central (SNC) es un entramado de tejidos que se ocupa de capturar y procesar estímulos para que el cuerpo pueda concretar una interacción eficaz con el medio. El SNC posee un papel sensitivo (por recibir estímulos tanto internos como externos), una función integradora (por analizar las señales captadas, guardar información y formular una reacción) y una función motora (el movimiento muscular o la secreción glandular en respuesta a los estímulos).

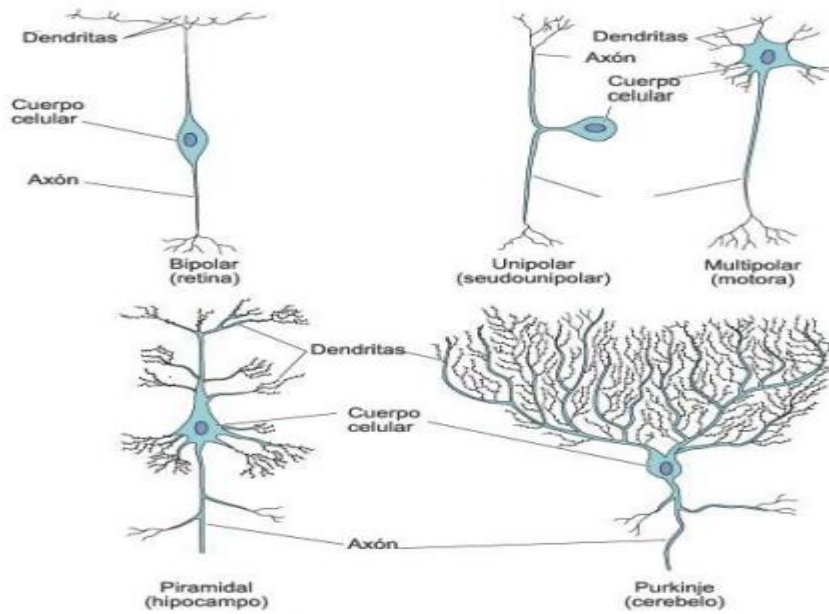
Neurona

Dentro de este excepcional sistema, la neurona adquiere un papel primordial como unidad funcional básica del sistema nervioso central (SNC). Hoy en día sabemos que el sistema nervioso (SN) contiene más de cien mil millones de neuronas. Aunque nuestros conocimientos actuales sobre el SN en general y el cerebro en particular son el resultado del trabajo colectivo de un gran número de científicos, debemos reconocer la contribución decisiva de los estudios del científico y Premio Nobel español Don Santiago Ramón y Cajal (1852-1934).

Y es que los más de 30 artículos publicados por este científico entre 1888 y 1892, resumidos en su primera revisión sobre la estructura del SN (Ramón y Cajal, 1892), establecieron claramente la base de la teoría neuronal. Esta teoría establece los principios fundamentales de la organización y función del sistema nervioso al afirmar que las neuronas son las unidades anatómicas, fisiológicas, genéticas y metabólicas del mismo (Jones, 1994; Shepherd, 1991).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 21. Esquema de los diversos tipos de neuronas (Saunders Company. 2002)



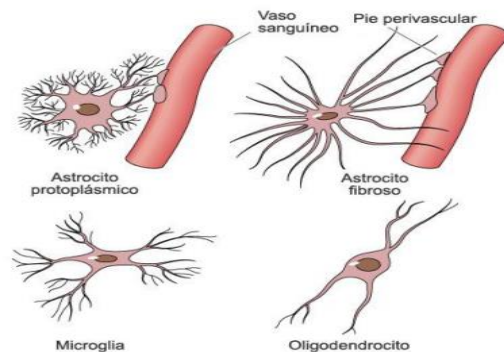
Células neurogliales: Su función es dar apoyo metabólico, mecánico y protector a las neuronas. Estas células forman en conjunto a la neuroglia. Puede haber 10 veces más neuroglia que neuronas. No reaccionan a impulsos nerviosos ni los propagan.

Tipos de Neuroglías: Astrocitos; Oligodendrocitos; Células Microgliales; Células Ependimarias; Células de Schwann (están Sistema Nervioso periférico, SNP).

Destacar que la microglía se localiza en todo el SNC, se origina en la médula ósea. Forman parte de la población fagocítica mononuclear, son células pequeñas, oscuras. Formadas por poco citoplasma y núcleo oval, tienen prolongaciones irregulares cortas, con espinas. Son fagocitos, presentan antígenos y secretan citocinas.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 22. Esquema de los diversos tipos de células neurogliales ((Saunders Company. 2002)



Neurotransmisores

Desde que el premio Nobel español Don Santiago Ramón y Cajal en 1888, demostrara la auténtica organización estructural del sistema nervioso en unidades celulares independientes, neuronas, se planteó la necesidad de un mediador para la transmisión sináptica, cuya naturaleza química ya lo sospechó a finales del siglo pasado Claude

Bernard y Langley, y demostrada posteriormente por Sherrington C 1906.

Uno de los hechos que más han influido en la evolución del conocimiento del SNC ha sido el descubrimiento de la existencia de sustancias de naturaleza peptídica en la neurona.

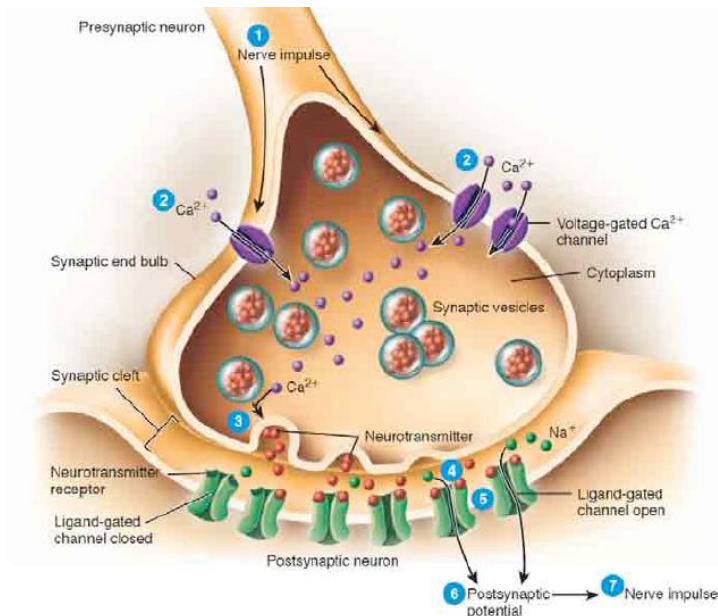
Aproximadamente varias decenas de péptidos han sido localizados en neuronas del SNC y van mostrando, de forma cada vez más convincente, tener la capacidad de participar en la transmisión del impulso nervioso.

Cuando un impulso nervioso llega a la terminación de la neurona, desde su membrana presináptica se libera una sustancia, el neurotransmisor, que se difunde en el espacio intersináptico y posteriormente se fija en la membrana postsináptica. En esta transmisión hay un retardo de 0,3 ms a 5 ms por los diferentes pasos implicados en la misma y según sea este retraso, la transmisión será rápida o lenta. El que la sinapsis sea excitadora o inhibidora depende del neurotransmisor liberado por la célula presináptica y de los receptores específicos de la membrana postsináptica (Bustamante E et al. 2007).

La comunicación entre las neuronas se realiza gracias a la transmisión sináptica que puede ser eléctrica o química. Esta última es la más frecuente y está mediada por un mensajero químico al que clásicamente se le ha denominado **neurotransmisor**. En 1933, Dale establecía que una célula nerviosa sólo sintetiza y libera un único neurotransmisor, "el principio de Dale".

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 23. Representación esquemática de una sinapsis química (Imagen tomada de Tortora & Derrickson, 2009, capítulo 12).



Existen diferentes clasificaciones de neurotransmisores. Una de las más aceptadas en la actualidad los divide en dos grandes grupos: los transmisores de acción rápida y molécula pequeña (neurotransmisores clásicos) y neuropéptidos (NP). Los transmisores de acción rápida y molécula pequeña son los que producen las respuestas más inmediatas del sistema nervioso (p.e. la transmisión de las señales sensitivas hacia el encéfalo y de las señales motoras hacia los músculos). En cambio los NP suelen provocar acciones más prolongadas, como son los cambios a largo plazo en el número de receptores neuronales, la apertura o el cierre duraderos de ciertos canales iónicos e incluso las modificaciones persistentes en la cantidad de sinapsis o su tamaño.

1.3.2. NEUROPEPTIDOS

Los NP conforman un grupo de neurotransmisores totalmente diferente a los neurotransmisores clásicos ya que se sintetizan de una forma distinta y desempeñan acciones diferentes. A partir de trabajos pioneros sobre la insulina y lipotropina (Lazure C et al. 1983) se formuló la hipótesis de que estos péptidos derivaban de un largo precursor que se escindía enzimáticamente. Mediante estudios de secuenciación de aminoácidos, Schwartz y Costa (1986) descubrieron las denominadas poliproteínas, llamadas así porque sirven de precursor de más de un péptido biológicamente activo. Estas proteínas, también denominadas prohormonas, serán fraccionadas después por enzimas específicas en fragmentos más

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

pequeños, formando de esta manera los NP que serán liberados posteriormente (Seidah NG et al. 1999).

En 1919 se describen unas células neuronales gigantes, con aspecto secretor, en la médula espinal de los peces, hablándose por primera vez de la neurona como una célula secretora o neurosecretora (Speidel CC et al. 1922). Esto fue confirmado por Bargmann W (1968) que utilizando la técnica de tinción de Gomori, encontró unos gránulos en el interior de las células que se desplazaban hacia los axones.

Apareció el término de "neurona secretora", ya que además de comportarse como las neuronas convencionales o colinérgicas, sintetizan enzimas o precursores peptídicos, almacenan la secreción en vesículas, la transportan axonalmente y las liberan, pudiendo además tener más de una secreción, lo que contradecía el principio de Dale. Estas secreciones son los neurotransmisores peptídicos.

Cuando se habla de neuromodulador son aquellas sustancias cuya acción se considera reguladora y que actúa sobre grupos neuronales amplios de forma indirecta. Sin embargo hay neuropéptidos que cumplen todos los criterios necesarios para ser considerados neurotransmisores y no sólo neuromoduladores y, al revés, algunos neurotransmisores han demostrado también su actividad neuromoduladora en ciertas áreas cerebrales como por ejemplo la dopamina.

Diferencias entre neuronas peptídicas y no peptídicas

A diferencia de los neurotransmisores clásicos, que son sintetizados en la región presináptica de las terminaciones nerviosas y almacenados en vesículas hasta su utilización, los neuropéptidos se sintetizan en los ribosomas del soma, en forma de precursores de gran tamaño molecular, sin que tenga lugar recaptación ni tampoco síntesis a nivel del terminal nervioso (Hökfelt T et al. 1980).

Actualmente, se realiza una clasificación más funcional de los mensajeros intercelulares desde el punto de vista de su estructura química en peptídicos y no peptídicos. Pertenecientes a este último grupo son: aminas (epinefrina, norepinefrina, dopamina, serotonina e histamina), acetilcolina y aminoácidos como glicina o glutamato.

En 1967 se utiliza por primera vez el término de "Neurona Peptidérgica" para designar a aquellas neuronas que sintetizaban los octapéptidos oxitocina y vasopresina, liberaban estas hormonas a la sangre y también formaban sinapsis sobre la superficie de otras células (Bargmann W. 1968).

La existencia de péptidos en el interior de la célula nerviosa presenta una serie de peculiaridades diferenciales con respecto a las características de las neuronas que contienen neurotransmisores primarios.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Los péptidos se liberan intermitentemente en lugar de tónicamente. Las cantidades liberadas de péptidos son menores que las de los transmisores clásicos lo que justificaría las menores concentraciones encontradas para los péptidos en el SNC (mil veces menor que las monoaminas y cien mil veces menor que los aminoácidos).

Los péptidos pueden activar receptores a concentraciones mucho más bajas que los transmisores primarios, una situación que podría compensar el mecanismo de renovación menos eficaz de los péptidos, y con una duración más larga debido a una disociación lenta con el receptor específico con el que tiene una afinidad diez mil veces mayor que los neurotransmisores clásicos (Hökfelt T et al. 1980).

Si el péptido neurotransmisor potencial contiene una modificación del grupo carboxílico terminal (SP: grupo amida) o del grupo amino (neurotensina: piroglutamilo), las enzimas están localizadas en el terminal nervioso, y son reguladas posiblemente por aquellos iones que entran en la célula durante el proceso de actividad neuronal.

Los péptidos, una vez que se liberan y actúan a nivel del receptor, su vía primordial de inactivación consiste en la degradación por peptidasas, sin embargo la inactivación que para catecolaminas y serotonina la recaptación por el terminal es el mecanismo más eficiente.

Van a existir diferencias entre los neurotransmisores clásicos y la utilización de un péptido por una célula nerviosa como neurotransmisor. La utilización de una monoamina se va a diferenciar en aspectos tan fundamentales como son la forma en que la célula sintetiza la sustancia, su almacenaje y su mecanismo de acción. (Bloom FE. 1981)

Para clasificar un neuropéptido como neurotransmisor potencial ha de cumplir una serie de criterios, ya establecidos para definir los neurotransmisores clásicos como transmisores del impulso nervioso:

1. Concentraciones relativamente altas de la sustancia en el terminal presináptico.
2. Mecanismos especializados para la biosíntesis y degradación del neurotransmisor.
3. Liberación del neurotransmisor por un estímulo despolarizante, dependiente de la concentración de calcio.
4. Ha de modificar la excitabilidad eléctrica de neuronas aisladas.
5. La acción de un antagonista debe bloquear las respuestas desencadenadas tanto por el neurotransmisor potencial como por estimulación nerviosa.
6. Se han realizado muchas clasificaciones de los neuropéptidos, quizás una de las más útiles y completas sea la de Salvador L et al. (1986).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Sólo algunas sustancias cumplen todos los criterios para ser consideradas como verdaderos neurotransmisores. Las que cumplen con certeza los requisitos son: encefalinas, neurotensina, LHRH y la SP que es el objeto de nuestro estudio.

Tabla 2. Clasificación de los neurotransmisores según el tipo de molécula y mecanismo de acción (Guyton & Hall, 2011 modificada)

NEUROTRANSMISORES CLÁSICOS, DE MOLÉCULA PEQUEÑA O DE ACCIÓN RÁPIDA	CLASE I	Acetilcolina Noradrenalina Adrenalina
	CLASE II: AMINAS	Dopamina Serotonina Histamina
	CLASE III: AMINOÁCIDOS	Ácido γ -aminobutírico (GABA) Glicina Glutamato Aspartato
	CLASE IV	Oxido nítrico (NO)
NEUROPEPTIDOS O NEUROTRANSMISORES DE ACCIÓN LENTA	HORMONAS LIBERADORAS HIPOTALÁMICAS	Hormona liberadora de tirotrópina Hormona liberadora de hormona luteinizante Somatostatina (factor inhibidor de la hormona del crecimiento)
	PÉPTIDOS HIPOFISARIOS	Hormona adrenocorticotropa (ACTH) β -endorfina Hormona estimuladora de los melanocitos α Prolactina Hormona luteinizante Tirotrópina Hormona de crecimiento Vasopresina Oxitocina
	PÉPTIDOS QUE ACTÚAN SOBRE EL INTESTINO Y EL ENCEFALO	Leucina-encefalina Metionina-encefalina Sustancia P Gastrina Colecistocina Péptido intestinal vasoactivo (VIP) Factor de crecimiento nervioso Factor neurotrófico derivado del cerebro Neurotensina Insulina Glucagón
	PROCEDENTES DE OTROS TRIDOS	Angiotensina II Brdicnina Carnosina Péptidos del sueño Calcitonina

1.3.3. COEXISTENCIA-COTRANSMISIÓN

De acuerdo con el principio de Dale se pensaba que cada neurona utilizaba un único transmisor. El descubrimiento de la **coexistencia** en la misma neurona de neurotransmisores clásicos (monoaminas y aminoácidos) junto con neurotransmisores peptídicos mediante la

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

técnica de la doble tinción (Hökfelt T et al. 1980) superaba el principio de Dale; lo que supuso un avance en la Neurobiología.

Existen decenas de neuropéptidos que se agrupan en siete familias de péptidos, existiendo en todas ellas una analogía en la secuencia de aminoácidos (aa) o al menos, una similitud en su conformación molecular, lo que nos permite comprender algunas acciones que hasta ahora no eran explicables.

Del concepto de coexistencia deriva el funcional de **cotransmisión** que supone la regulación de un neurotransmisor peptídico o no (clásico) por otro de naturaleza peptídica. Entre otros casos coexiste 5-hidroxitriptamina (5 HT) en neuronas que contienen SP (Chan- Palay V et al. 1978).

Además es conocida la coexistencia de la sustancia P (SP) con otros transmisores moleculares en el asta dorsal de la médula espinal como catecolaminas (Ljungdahl A et al. 1978), péptido intestinal vasoactivo (VIP), galanina, neurotensina, colecistoquinina (Radhakrishnan V y Henry JL. 1995).

Otro ejemplo clásico de cotransmisión en las neuronas del ganglio de la raíz dorsal es el glutamato y la SP (De Biasi S y Rustoni A. 1988) sugiriendo que cuando se antagonizan ambos neurotransmisores la excitación se reduce enérgicamente existiendo una interacción sinérgica que induce sensibilidad central.

También pueden coexistir dos neurotransmisores peptídicos, como por ejemplo la presencia de la SP y opioides como leu-enkefalina en determinadas neuronas del sistema nervioso aviaro. Así mientras la SP tiene efectos postsinápticos de tipo excitador, la leu-enkefalina tiene efectos postsinápticos de tipo inhibitor. Además, mientras el efecto de la SP es persistente, muy acorde con un papel neuromodulador, el de las encefalinas es muy efímero y apropiado para ser neurotransmisor.

En conclusión, parece que los NP ejercen sus funciones principales cuando el SN padece algún estímulo estresante, agresión o enfermedad. En este sentido se piensa que estos péptidos actuarían como una importante vía de señalización en dichas situaciones y que la comunicación peptidérgica funcionaría como un “lenguaje” del cerebro enfermo susceptible de convertirse en una importante diana para el desarrollo farmacológico en diversas patologías (Hökfelt et al., 2000)

1.3.4. TAQUICININAS

Las taquicininas (TK) son una familia de péptidos ampliamente distribuida en animales vertebrados e invertebrados (Nakanishi S et al. 1987), tradicionalmente clasificada como neurotransmisores y a la que pertenece la SP.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Además de la distribución clásica de las taquicinas, en el SNC y periférico, han sido también detectadas en células no neuronales de los sistemas inmune (Weinstock JV et al. 1988), inflamatorio (Metwali A et al. 2004), endotelio vascular (Milner P et al. 1990) y también en poblaciones celulares somatotrofolásticas y tirotrofolásticas de la glándula pituitaria (Brown ER et al. 1991), circulando en sangre (Pernow B et al. 1983) e incluso en tejido placentario (Page NM et al. 2005; 2006; 2010; Muñoz M et al. 2010a) órgano totalmente desprovisto de nervios (Hofstater C et al. 2001).

Dentro de la familia de las TK en mamíferos, la primera en ser descubierta fue la SP (Von Euler US y Gaddum JH 1931); posteriormente se describieron la Neurokinina A (NKA) y la Neurokinina B (NKB) (Kimura S et al. 1983; Maggio JE et al. 1988) y las formas elongadas de la NKA, el Neuropeptido K (NPK) (Kangawa K et al. 1983; Nawa H et al. 1984; Takemoto K et al. 1985) y el Neuropeptido gamma (NPγ) (Kage R et al. 1988), cuyas funciones aun no han sido totalmente definidas.

En el año 2000, se encontró una nueva TK en ratón que se llamó Hemokinina-I (HK-I)

(Zhang Y et al. 2000), expresada principalmente en tejido no neuronal y que llevó a la creación de un nuevo grupo de TK, las endokininas (Kurtz MM et al. 2002; Page NM et al. 2003). Se han descrito otros péptidos en especies no mamíferas pertenecientes a esta familia: Fisalemina, Eledoisina y Kassina (Erspamer V et al. 1981) y Ranakinina perteneciente al grupo de la fisalemina (O'Harte F et al. 1991)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Tabla 3. Estructura de las Taquicininas. (en negrita se destaca el residuo que varía dentro de la estructura conservada, marcada como subrayado).

ESTRUCTURA DE LAS TAQUICININAS	
SP	Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂
NKA	His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH ₂
NKB	Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH ₂
NPK	Asp-Ala-Asp-Ser-Ser-Ile-Glu-Lys-Gln-Val-Ala-Leu-Leu-Lys-Ala-Leu-Tyr-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH ₂
NP _γ	Asp-Ala-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH ₂
Hemokinina-I	Thr-Gly-Lys-Ala-Ser-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂
Fisalemina	pGlu-Ala-Asp-Pro-Asn-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met-NH ₂
Eledoisina	pGlu-Pro-Ser-Lys-Asp-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-MetNH ₂
Kassinina	Asp-Val-Pro-Lys-Ser-Asp-Gln-Phe-Val-Gly-Leu-MetNH ₂
Ranakinin	Lys-pro-Asn-Pro-Glu-Arg-Phe-Tyr-Gly-Leu-MetNH ₂

La estructura primaria de las TK se ha conservado a través de la evolución de las especies sugiriendo el papel destacado de este grupo molecular en los sistemas biológicos. Característicamente todas las TK presentan un grupo amida en el extremo carboxi-terminal hidrofóbica y la secuencia común: Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂, siendo X un aminoácido alifático (Val o Ile) o aromático (Tyr o Phe) hasta completar los 10-11 aminoácidos que generalmente posee la estructura y el extremo amino-terminal distinto para cada péptido. La secuencia carboxílica es esencial para la interacción y la activación del receptor, mientras que el extremo amino define la especificidad al subtipo de receptor (Krause JE et al. 1992).

Genes de las taquicininas

Las TK de mamíferos están codificadas por tres genes diferentes, llamados **preprotaquicinina TAC1**, **TAC3** y **TAC4**, de acuerdo con el Comité de Nomenclatura de

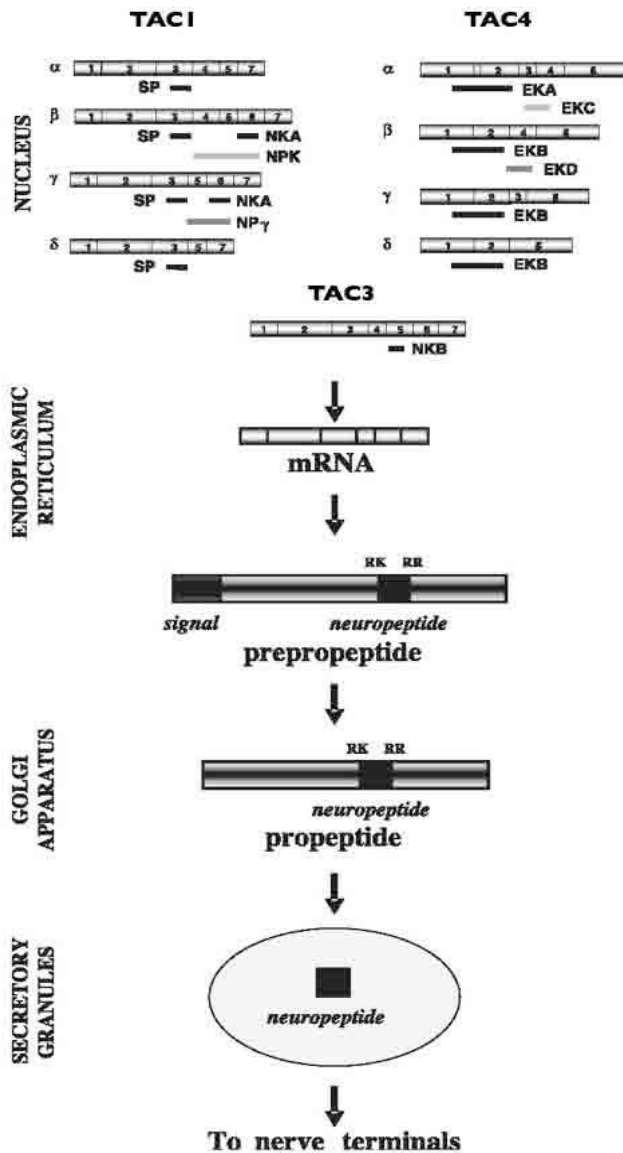
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Genes (www.gene.ucl.ac.uk/nomenclatura) de la Organización del Genoma Humano(HUGO), sustituyendo los términos clásicos PPT-A/PPT-I , PPT-B/PPT-II y PPT-C/PPT-III por *TAC1*, *TAC3* y *TAC4*, respectivamente (Patacchini R et al. 2004). El gen *TAC1* puede generar cuatro formas diferentes de péptidos. Por medio de diferentes procesamientos a partir de segmentos del gen y uniones alternativas del ARNm, se producen las formas α *TAC1* y δ *TAC1* (que codifican sólo para la SP) y las formas β *TAC1* y γ *TAC1* (que codifican tanto para la SP como para la NKA) (Nawa H et al. 1985; Kawaguchi Y et al. 1986; Harmar AJ et al. 1990). La inclusión o exclusión diferencial del exón 4 en β *TAC1* y γ *TAC1* permite la formación de dos péptidos que son formas elongadas de la NKA, el neuropéptido K (NPK) (Takemoto K et al. 1985) y el neuropéptido γ (NP γ) (Kage R et al. 1988).

Es importante tener en cuenta que a veces la SP se expresa de manera aislada, mientras que la NKA se expresa siempre acompañada de SP. Hay estudios sobre las diferentes concentraciones de las distintas isoformas γ y β , en concreto las que expresan SP y NKA (Pintado CO et al. 2003).

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 24. Figura. Esquema del proceso general de síntesis neuronal de las TK a partir de los genes *TAC1*, *TAC3* y *TAC4* (Modificado de Pennefather JN et al., 2004)



En cuanto al gen *TAC3* (PPT II según anterior nomenclatura), éste codifica exclusivamente para la NKB (Hökfelt T et al. 2001) y su organización se asemeja bastante a la del gen *TAC1* en humanos; aunque su procesamiento no es tan complejo, existen evidencias de la existencia en humanos de dos isoformas precursoras de *TAC3*, la α *TAC3* y la β *TAC3* (Page NM et al. 2004) y de una forma elongada de la NKB en el cerebro de rata (Lang S y Sperk G 1995).

Varios estudios inmunorreactivos han dado negativos para la presencia de la NKB en tejidos periféricos (Moussaoui SM et al. 1992), pero sí que se encuentran niveles altos de ARNm de

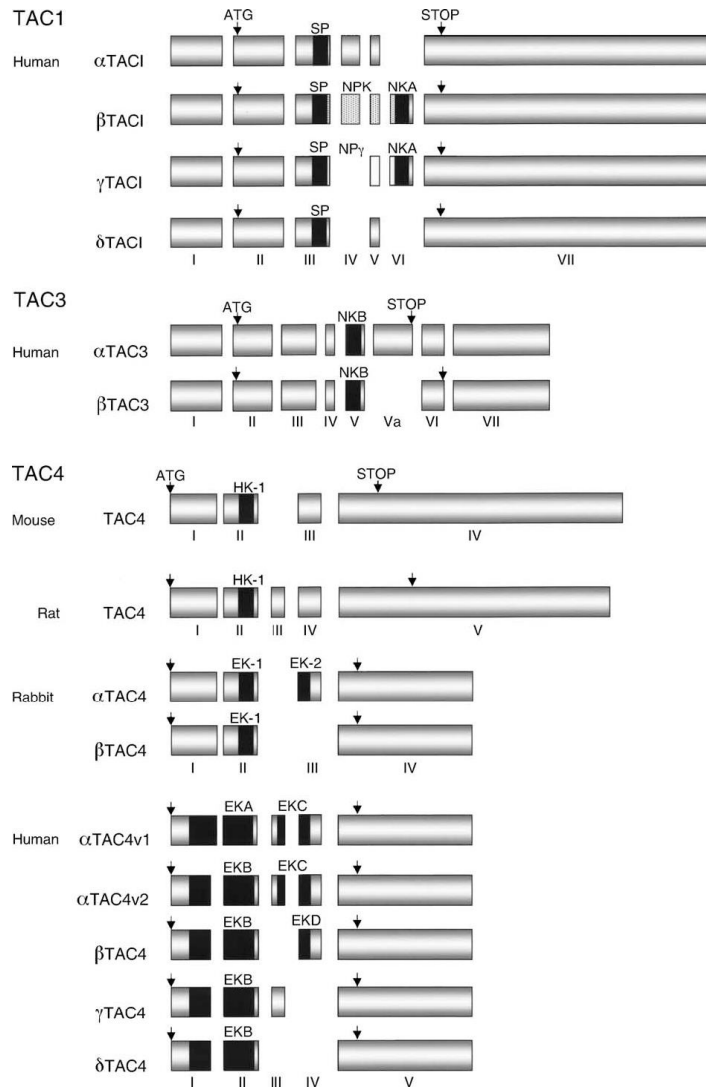
Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

NKB en la placenta humana (Page NM et al. 2003, 2010). Algunos investigadores proponen, que la distribución de la expresión de *TAC3* en tejidos humanos era igual o incluso más amplia que la de *TAC1* (Pinto FM et al. 2004).

Por último, el gen más recientemente identificado perteneciente a la familia de las TK, es el gen *TAC4* (anterior PPT III) (Zhang Y et al. 2000; Kurtz MM et al. 2002; Page NM et al. 2003). Éste puede ser procesado de manera que da origen a cuatro variantes alternativas: α , β , γ y δ , codificando cada una para cuatro péptidos diferentes clasificados como EKA, EKB, EKC y EKD (endokinina A, B, C, D respectivamente). Mientras que la EKB está codificada por las cuatro isoformas, la EKA y la EKC lo están sólo por el α *TAC4* y la EKD por el β *TAC4* (Page NM et al. 2003). La distribución de las cuatro isoformas de *TAC4* no ha sido definida completamente, aunque sí se sabe que α *TAC4* y δ *TAC4* se expresan en tejidos periféricos humanos, particularmente en la placenta (Page NM et al. 2003, 2004).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 25. Organización de los exones en los genes de TK de diferentes especies de mamíferos (Figura tomada de Page, 2005, p. 1358).



1.3.5. RECEPTORES TAQUICINÉRGICOS

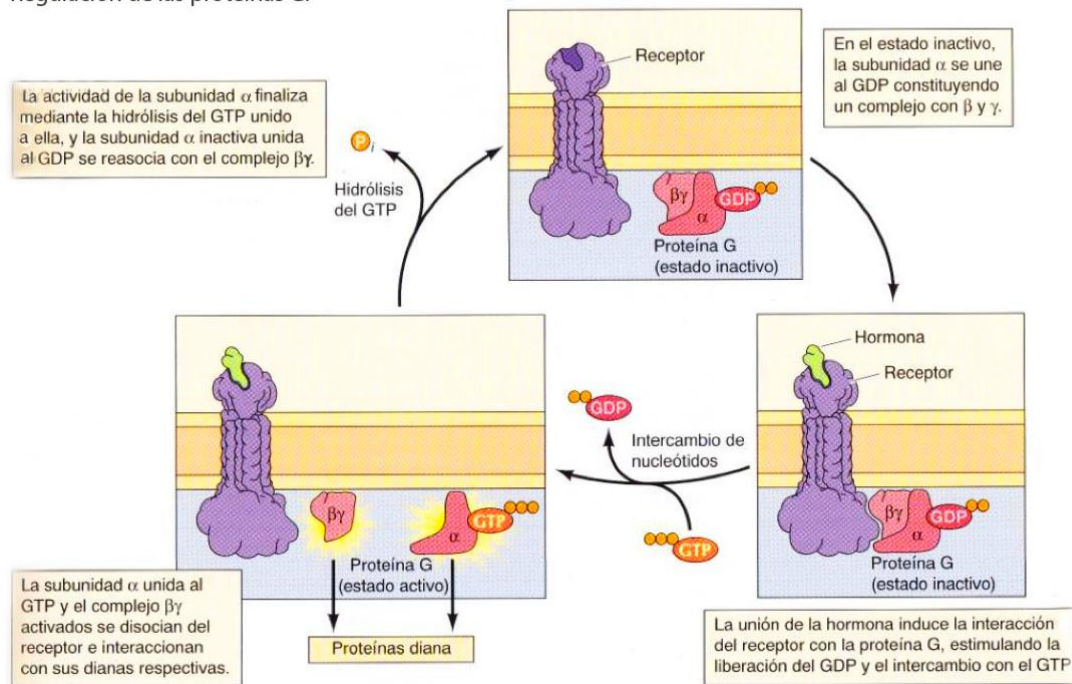
Los receptores taquicinérgicos son receptores pertenecientes a la familia de los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) (guanina nucleotide-binding regulatory proteins), son proteínas transmembranas responsables de la traducción de señales en el proceso de comunicación celular. Por su estructura, también se les llama receptores *de los siete dominios transmembranas*.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

La unión del NP a su receptor provoca la activación de una enzima, generalmente una adenilatociclasa, que convierte ATP en AMPc. Este AMPc se combina con una proteincinasa dependiente de adenilatociclasa (proteincinasa A), que consta de una subunidad reguladora y otra catalítica. La interacción del AMPc con la subunidad reguladora provoca la liberación de la unidad catalítica, que puede actuar sobre el ADN y producir efectos a largo plazo sobre el metabolismo, crecimiento y diferenciación celular. Otros NP actúan a través de la hidrólisis del fosfatidil inositol 4,5 bifosfato, que da lugar a la formación de otro grupo de segundos mensajeros, como el diacilglicerol y el inositol trifosfato. También existen receptores de NP acoplados a guanilatociclasa o tirosinacinasas.

Figura 27. Regulación de la Proteína G trimérica (figura procedente de Cooper's MARBAN).

Regulación de las proteínas G.



Basándose en los análisis comparativos de las propiedades farmacológicas de varias taquicinas, fue posible comprobar la existencia de tres receptores diferentes para estos mensajeros moleculares (Teichberg VI et al. 1981; Lee CM et al. 1982; Buck SH y Burcher E 1986, Maggi CA et al. 1993). Masu Y et al. (1987) fueron los primeros en clonar un receptor afín a la SP, el receptor de la Sustancia K, que fue el primer receptor clonado de un neuropéptido (Masu Y et al. 1987). Más tarde otros receptores de taquicinas fueron clonados en pocos años por Nakanishi S et al. (1991) y Betancur C et al. (1997). Por medio de clonación molecular y métodos electrofisiológicos, se han identificado los tres receptores de TK de mamíferos como un subgrupo de la superfamilia de receptores heptahelicales asociados

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

a proteína G, con un extremo amino extracelular y un extremo carboxilo citoplásmico (Nakanishi S et al. 1987; Harrison S y Geppetti P 2001; Höktfel T et al. 2001).

De manera general, las TK se unen a sus receptores específicamente, aunque existe afinidad hacia los otros subtipos de receptores por el reconocimiento del grupo carboxilo del núcleo carboxi terminal de los diferentes neuropéptidos (Werge TM et al. 1994).

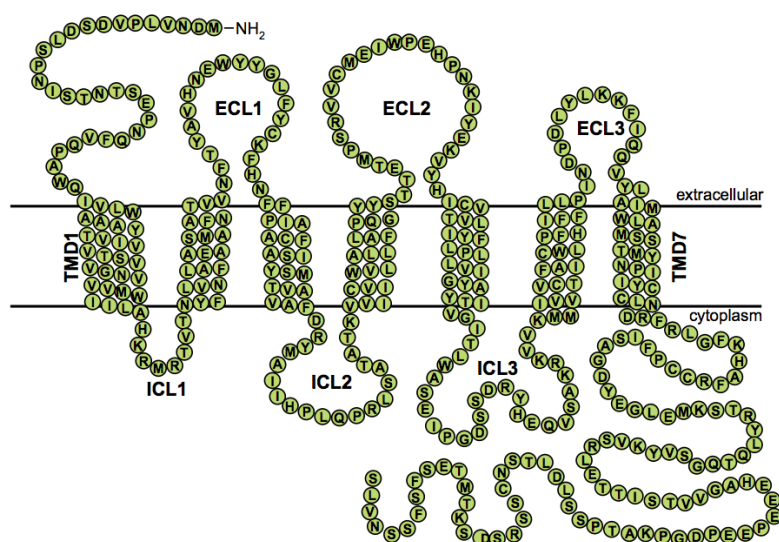
Más recientemente tres receptores de taquicininas de mamíferos se clonaron (Höktfel T et al. 2001): receptor NK1 (407 residuos), NK2 (398 aminoácidos), NK3 (receptor más desconocido). Finalmente se ha clonado una variante del NK3 referido como NK4.

El **Receptor NK1 (RNK1)** es el receptor taquicinérgico mejor caracterizado de los tres subtipos. Es miembro de la familia de los receptores acoplados a proteína G y más en concreto con las subunidades α de la proteína de Gq y G11 (MacDonald SG et al. 1996). En el ser humano RNK1 se compone de 407 residuos de aminoácidos y tiene un peso molecular relativo de 46 kDa. (Hopkins et al. 1991). Dichos receptores poseen una moderada selectividad a las taquicininas endógenas. Así, la SP, NKA y NKB actúan como agonistas de los tres receptores, no obstante, no todos se unen con la misma afinidad. Así pues, la SP es el ligando más afín del receptor NK1, la NKA del receptor NK2 y la NKB a su receptor NK3.

Gracias al desarrollo de los antagonistas tanto peptídicos como no peptídicos, se conoce más sobre el sitio unión de la SP al RNK1. De esta manera, se sabe que los giros extracelulares del segundo y tercer dominio transmembrana están involucrados en esta unión, debido al carácter hidrofílico de la SP. Los antagonistas no peptídicos hidrófobos se unen más profundamente entre los segmentos transmembrana (Gether U et al. 1993). El tercer bucle citoplásmico es responsable de la interacción de proteína G, mientras que el grupo carboxilo terminal que contiene serina y treonina, cuando se fosforila, causa la desensibilización del receptor en respuesta al estímulo repetido del agonista (O'Connor TM et al. 2004).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 28. Esquema modelo del receptor NK-1. Constituido por 407 aminoácidos. Contiene un extremo N-terminal extracelular, siete dominios que atraviesan la membrana, 3 bucles extracelulares (ECL1, ECL2, ECL3) y 3 bucles intracelulares (ICL1, ICL2, ICL3). (Imagen tomada de Steinhoff MS et al. 2014).



Existen diferentes isoformas del RNK1 que se diferencian en la composición aminoacídica y en su peso molecular, aunque las posibles diferencias funcionales no son del todo conocidas. Kage et al. demostraron la existencia de dos isoformas del NK1R en rata; en la especie humana también están estudiadas y clonadas. Estas dos isoformas poseen los mismos dominios de unión pero se diferencian en la longitud del polipéptido generado, la forma larga posee 407 aminoácidos, mientras que la corta tan sólo 311. La expresión de ambas isoformas se distribuye de manera que la corta predomina en determinados sitios del cerebro y la larga en SNC y periférico. Parece ser que la forma corta tiene menor capacidad para la internalización del receptor. (Kage R et al.1993)

Han sido descritos varios tipos de isoformas en un total de 5, siendo la mayoría de ellas descritas en la línea celular linfoblástica humana IM-9. Caberlotto L et al. (2003) determinaron diferentes isoformas en cerebro humano; van Ginkel FW y Pascual DW1996; Nakata Y et al. 1988 observaron isoformas de iguales pesos moleculares en cerebros de ratas.

La SP no sólo activa los RNK1, sino también los receptores NK-2 (RNK-2) y receptor NK-3 (RNK-3) en diversos tejidos y según diversas condiciones, como es la disponibilidad del receptor o bien las altas concentraciones del neuropéptido (Harrison S y Geppetti P, 2001).

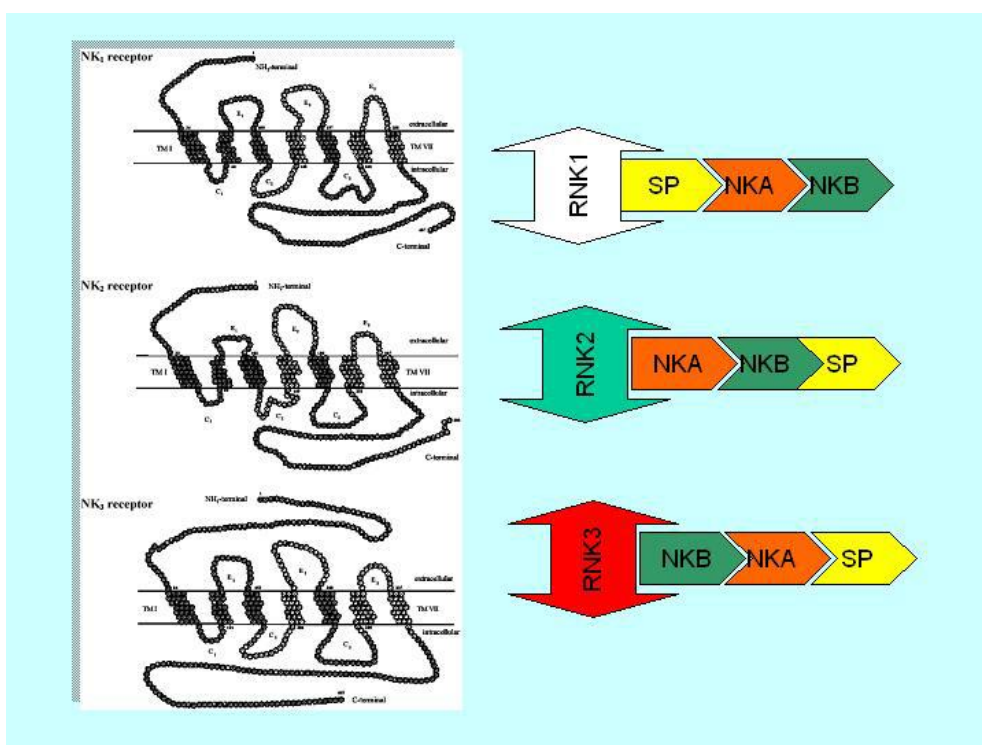
Se han clonado tres receptores de taquicininas de mamíferos (Hökfelt T et al. 2001): RNK1 (407 residuos), RNK-2 (398 aminoácidos), RNK-3 (465 aminoácidos). Ha sido clonado un cuarto receptor de taquicinina (Donaldson LF et al. 2001). Dichos receptores poseen una moderada

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

selectividad a las taquicinas endógenas. Así, la SP, NKA y NKB actúan como agonistas de los tres receptores, no obstante, no todos se unen con la misma afinidad.

La afinidad relativa de RNK1 para la neuroquinina A y neuroquinina B es 100 y 500 veces menor que para SP, respectivamente (Gerard et al. 1991). Así pues, la SP es el ligando más afín del RNK1, la NKA del RNK2 y la NKB a su RNK3 (Nakanishi et al. 1991).

Figura 29. Receptores de las Neuroquininas y sus ligandos.



También han sido identificados los genes que codifican los tres receptores (Hershey AD 1991; Sasai Y y Nakanishi S, 1990).

El gen que codifica el RNK1 ha sido llamado Receptor Tachykinin 1 (*TACR1*), el de RNK2 Receptor Tachykinin 2 (*TACR2*) y Receptor Tachykinin 3 (*TACR3*) para RNK3.

Mediante RT-PCR, se ha establecido la presencia del gen *TACR1* en diferentes tejidos humanos. Previamente a conocer la estructura genética de los RNK1, se conocía su distribución, así la mayor expresión en el SNC se encuentra a nivel del locus coeruleus, estriado ventral, hipocampo y núcleos amigdalares y en menor proporción en el córtex cerebral, aunque su distribución es muy amplia en todo el organismo humano, como en las células intersticiales arteriales de Cajal de vasos arteriales (Bobryshev YV et al. 2005), células endoteliales, islotes celulares en páncreas de ratones (Persson-Sjogren S et al. 2005), sistema inmune, células

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

musculares (Muñoz M et al. 2010a), tracto gastrointestinal (Holzer P y Holzer-Petsche U. 1997), pulmón (Chapman RW et al. 1998), fibroblastos (Ziche M et al. 1990), en tejido uterino de mujeres embarazadas y no embarazadas (Patak E et al. 2003, 2005) y tracto genitourinario (Green SA et al. 2006). Li Y et al demostraron la expresión del RNK1 en la línea de células madres hematopoyéticas humanas TF-1 y en células madre primarias derivadas de la sangre del cordón placentario humano (HPCB) (Li Y et al. 2000). El RNK1, se ha localizado en el hipocampo epiléptico de la Esclerosis Mesial Temporal (EMT) a nivel neuronal y glial (Blanco Martínez B, 2012) y también se expresan en la superficie de cardiomiocitos (Robinson P et al. 2009). Además, el ARNm RNK 1 ha sido situado en monocitos, macrófagos y linfocitos de sangre periférica humana (Ho WZ et al. 1997) y en sinoviocitos. Mediante inmunohistoquímica, Muñoz M et al. demostraron el RNK1 en el citoplasma y en la membrana celular de la placenta, cordón umbilical y membranas ovulares (Muñoz M et al. 2010a).

Existen diferentes **isoformas del RNK1** que se diferencian en la composición aminoacídica y en su peso molecular, aunque las posibles diferencias funcionales no son del todo conocidas.

Hasta día de hoy, se han descrito siete isoformas, la mayoría de ellas en la línea celular linfoblástica humana IM-9 en las que se presentan las isoformas de 16, 33, 58, 78 y 116 kDa. (Payan DG et al. 1986; McGillis JP et al. 1987a) mientras que en los linfocitos normales humanos se presenta mayoritariamente la de 58 KDa. (McGillis JP et al. 1990). Caberlotto L et al. (2003) determinaron diferentes isoformas en cerebro humano; Van Ginkel FW y Pascual DW (1996) y Nakata et al (1988) observaron isoformas de iguales pesos moleculares en cerebros de ratas.

También se ha descrito la existencia de RNK1 en tejido pancreático tanto tumoral como normal de un peso molecular de 46 kDa (Friess H et al. 2003).

En los últimos años, Muñoz M et al han demostrado la presencia de isoformas de los RNK- 1 en líneas celulares tumorales humanas, en neuroblastoma, glioma (Muñoz M et al. 2005a), retinoblastoma (Muñoz M et al. 2007) adenocarcinoma gástrico y de colon (Rosso M et al. 2008) y en el cáncer de laringe (Muñoz M et al. 2008). Muñoz M, demuestra la expresión de

RNK1, ARNm RNK1 y la sobreexpresión del gen del *TAC1* en las líneas celulares CORL23 en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) y H69 en el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) (Muñoz M et al. 2012c).

En el año 2010 Muñoz et al. identificaron tres isoformas de RNK1 en las tres líneas de melanomas estudiadas MEL-HO, COLO 858, COLO 679; dos isoformas en la línea celular de leucemia de células B BE13 y tres en otra línea de células T SD-1 (Muñoz M et al. 2012b). En todas estas células el RNK1 está constitutivamente expresado, a diferencia que en la médula ósea, donde lo está de una manera inducible (Bandari et al. 2002).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El RNK-2 está presente principalmente en la periferia y de una manera muy selectiva en ciertos núcleos cerebrales (Pennefather JN et al. 1993; Saffroy M et al. 2001; Tsuchida K et al. 1990).

Por último, el RNK-3 se expresa sobre todo en el SNC aunque también se ha visto en ciertos tejidos periféricos como placenta, útero, músculo esquelético, vena porta y mesentérica de la rata, pulmón e hígado y ciertas neuronas entéricas de diferentes especies (Tsuchida K et al. 1990).

1.3.6. SUSTANCIA P

La SP es la TK estudiada desde hace más tiempo, siendo la mejor caracterizada en cuanto a su distribución, liberación, acciones fisiológicas e implicación fisiopatológica en diversos procesos patológicos.

En 1931 Von Euler US y Gaddun JH, tratando de encontrar acetilcolina en extractos hipotalámicos e intestinales de caballo, descubrieron una sustancia que producía contracciones del propio intestino y disminuía la presión sanguínea como consecuencia de la dilatación vascular (Von Euler US y Gaddun JH 1931).

Este nuevo material fue designado sustancia P (P “powder”, polvo en inglés), se observaba que las propiedades de ese nuevo extracto se mantenían cuando se evaporaba al polvo seco en el extracto de los tejidos (Hökfelt T. et al. 2001).

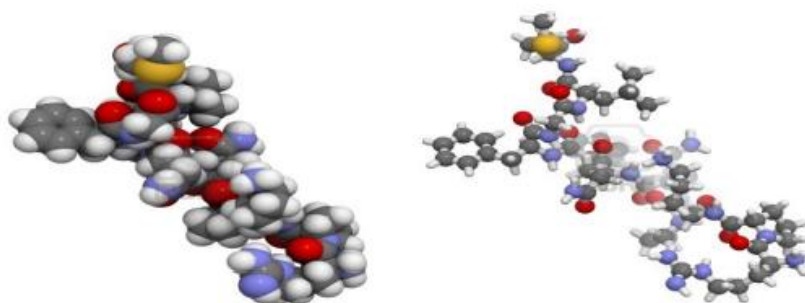
Imagen tridimensional de la molécula de SP. Chang M.M y Leeman S.E, en 1970, identificaron la Sustancia P como un undecapéptido formado por 11 aminoácidos (Chang M.M., et al. 1971) y en el mismo año Treager G.W. et al. fueron los primeros en sintetizar el compuesto (Treager G.W. et al. 1971). Studer RO y cos. (1973) aislaron SP de intestino de caballo.

La secuencia de 11 aminoácidos de la SP es la siguiente:

Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 30. Imágenes tridimensionales de la SP.



Esta molécula pertenece al grupo de las taquicininas (TK), es un péptido de cadena corta de once aminoácidos, de los que seis correspondiente al extremo C-terminal son esenciales para su actividad biológica a través de la unión con su receptor de membrana específico.

La SP es soluble en agua y alcohol, insoluble en éter y cloroformo. Tolera ebullición a pH entre 1-7 y es rápidamente destruida en medio alcalino. En electroforesis se desvía hacia el cátodo a $\text{pH} < 10$ y su punto isoeléctrico está próximo a 9. La actividad biológica de la SP es inactivada por Tripsina y Pepsina, y resiste la acción de las carboxipeptidasas.

La SP está ampliamente distribuida por el organismo así como en el sistema nervioso central y periférico.

Fue la primera molécula neuroactiva propuesta como neurotransmisor, dentro de la familia de taquicininas, por Lembeck F. en 1953, existiendo varios datos a favor de la acción neurotransmisora de la SP: como son la localización neuronal y concentración preferentemente en los terminales de la región sináptica, el transporte desde el cuerpo neuronal hasta los terminales nerviosos, la liberación dependiente de calcio, en respuesta a un estímulo despolarizante adecuado y que un decapeptido puro, o sus análogos sintéticos, parecen imitar los efectos mediados por SP.

Actúa también como neuromodulador, regulando la actividad de otras moléculas y como hormona debido a que ejerce su actividad a distancia de los lugares donde es liberada, y las funciones fisiopatológicas más conocidas son: nociceptiva, espasmogénica, hipotensora, sialagoga, colérica, y está involucrada en el edema y broncoconstricción del árbol bronquial y posee capacidad mitogénica en células tumorales. Es el mayor mediador de la inflamación neurogénica.

Una vez liberado el péptido, como respuesta a un estímulo despolarizante, su vía primordial de inactivación consiste en la degradación por peptidasas sin que participen procesos de recaptación por el terminal nervioso.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Por el contrario, el ligando se degrada enzimáticamente en el interior de los endosomas ya que no parece de nuevo en la membrana plasmática junto con los receptores.

Parece ser que estos mecanismos de endocitosis y reciclaje de los receptores son los responsables de los fenómenos de desensibilización y resensibilización ante la presencia de SP, de este modo la célula se haría insensible a cantidades excesivas de SP y se conseguiría una regulación celular frente a este neuropéptido.

Otro mecanismo de regulación del sistema SP/RNK1 sería a través del grupo carboxilo terminal que contiene serina y treonina que cuando se fosforila, causa la desensibilización del receptor en respuesta al estímulo repetido del agonista (O'Connor TM et al. 2004) este mecanismo de regulación es no constitutivo (full-length RNK1). Por último, existe una regulación constitutiva por pérdida del extremo carboxilo terminal del receptor (truncated RNK1) (Martin S et al. 2014).

1.3.7. Distribución y funciones de las taquicininas

1.3.7.1. Distribución y funciones de las taquicininas en el sistema nervioso central: SNC

En el SNC existe una amplia distribución de la SP tanto en fibras nerviosas como en cuerpos celulares demostrada por la alta inmureactividad para SP. La distribución de la NKA es similar a la SP.

Las taquicininas están implicadas en una variedad de funciones como transmisión sensorial, control de actividades motoras, funciones autonómicas y endocrinas, así como el procesamiento de la memoria.

Neocortex:

La SP se encuentra a bajas concentraciones en el neocortex. Las fibras nerviosas se tiñen para las taquicininas en todas las capas del neocortex. El NKB está presente en grandes concentraciones en las capas IV y V de los cerebros de las ratas.

Mediante iontoforeis se ha podido comprobar que la SP induce una excitación prolongada de las neuronas corticales de ratas, en especial de las capas V y VI.

Otros estudios demuestran que la privación visual produce una gran disminución de la inmunoreactividad de taquicininas en las neuronas del cortex visual en monos, sugiriendo que cambios en la percepción sensorial pueden inducir cambios en la síntesis de neurotransmisores como las taquicininas en corteza cerebral (Hendry et al. 1988).

Núcleo estriado:

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Los núcleos caudal y putamen muestran altos niveles de inmunorreactividad a SP. El núcleo estriado de los mamíferos está compuesto por dos compartimentos distintos, el estrioso y la matriz. Estos compartimentos están dispuestos por un mosaico y presentan diferentes propiedades neuroquímicas. El estrioso presenta altos niveles de SP, dinorfina y encefalina así como endopeptidasas que degradan estos péptidos anteriores.

Diversos estudios indican la existencia en este núcleo de grandes concentraciones del RNK1 y muy bajas para RNK2 y RNK3(Dam et al. 1986, Saffroy et al. 2001).

Globo pálido:

En los primates, el segmento interno del globo pálido y el pálido ventral presenta una gran inmunorreactividad para SP, por el contrario el externo presenta una tinción muy débil. Son las fibras nerviosas las que tiñen para la SP. Los cuerpos celulares de los primates no presentan inmunorreactividad para este neuropéptido. El principal origen de la SP en el globo pálido proviene de la proyección existente a través de las neuronas del núcleo estriado. Los terminales nerviosos que presentan reactividad para la SP, dinorfina o encefalina en el globo pálido muestran una morfología en ovillo de lana donde los terminales nerviosos peptidérgicos envuelven por completo las dendritas receptoras (Haber et al. 1985).

Sustancia negra:

Es de las regiones cerebrales de mayor concentración para la SP. Se ha podido observar esta distribución en cerebros de ratas donde se aprecia una intensa inmunorreactividad en las fibras nerviosas. Las principales fuentes de dopamina cerebral son el área tegmental ventral y la pars compacta de la sustancia negra. Se ha podido comprobar mediante microscopía electrónica que los terminales que presentan inmunorreactividad positiva para la SP hacen sinapsis directamente con las células dopaminérgicas de la sustancia negra. La aplicación de SP mediante electroforesis sobre las neuronas de la sustancia negra produce una excitación mantenida de las mismas. El hecho de que la SP active las neuronas dopaminérgicas nigroestriales se ha reforzado por distintos estudios: la infusión de la SP en la sustancia negra produce un incremento marcado de los comportamientos estereotipados de las ratas como olisqueo, siendo estos bloqueados por la infusión de 6-hidroxidopamina en el núcleo caudado. Una inyección intranigral de SP produce una elevación de los niveles de dopamina así como de ácido homovalínico en el ganglio estriatal ipsilateral. El hecho de que una inyección intranigral de GABA y dinorfina A produzcan una disminución de la liberación de dopamina en el núcleo estriado sugiere que la SP actúa como un neurotransmisor estimulador de las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal, mientras que el GABA y la dinorfina A actúan como inhibidores de la misma (Chen et al. 2004).

Se ha demostrado también la existencia de un mecanismo de feedback opuesto de la dopamina sobre la SP. Los axones dopaminérgicos contactan directamente con las neuronas productoras de SP que se hallan en el núcleo estriado. La administración de un agonista

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

indirecto de la dopamina o bien de la administración de un inhibidor de su recaptación va a producir una elevación de la SP en la sustancia negra. Por otro lado, el bloqueo de la sinapsis dopaminérgica mediante un antagonista de la dopamina va a producir una disminución de los niveles de SP en la sustancia negra. Se ha comprobado además en la enfermedad de Parkinson donde existen un menor concentración de dopamina en la sustancia negra, existe una disminución de la concentración de SP (Levesque et al. 2007).

Hipocampo:

A pesar de que las concentraciones de SP en los mamíferos son bajas en esta región, son de 2 a 10 veces superiores que en otras áreas corticales de monos y humanos. Además se ha demostrado la existencia de receptores para las taquicininas. Dentro del hipocampo, las fibras nerviosas que contiene SP se hayan principalmente en las capas piramidales y granular, en cambio, los cuerpos neuronales que expresan alrededor de su núcleo SP se hayan principalmente en la capa polimorfa. Se piensa que el origen de las terminaciones nerviosas que contienen SP puede ser el núcleo supramamilar y el hipotálamo posterior.

El hipocampo y la amígdala están implicados en diversas funciones relacionadas con la memoria. Algunos estudios realizados con ratones sometidos a descargas eléctricas muestran una mayor retención de memoria tras la administración intracerebral de taquicininas (Beal et al. 1987).

Amígdala y núcleos del lecho de la estría terminal:

La concentración de SP en la amígdala cerebral es considerablemente alta en ratas, no así en humanos donde es bastante baja. El área entre el núcleo amigdal central y medial es donde se encuentran mayor cantidad de células positivas para SP. Estas neuronas no solo conforman un denso plexo intrínseco en la amígdala sino que proyectan haces hacia el lecho de la estría terminal y el hipotálamo lateral. Se ha demostrado además la presencia de receptores de taquicininas en estas áreas.

La amígdala y los núcleos del lecho de la estría terminal están relacionados con la regulación del comportamiento sexual, habiéndose detectado así una distribución y concentración diferente de SP entre ambos sexos. Las ratas hembras presentan menor nivel de SP en estas áreas que los machos. La castración de machos adultos produce una disminución de la inmunorreactividad de la SP en la amígdala (Kanazawa et al. 1976, Massi et al. 1990).

Eje hipotálamo-hipofisiario:

El hipotálamo de los mamíferos contiene altas concentraciones de SP, de hecho esta sustancia fue aislada por primera vez en extractos hipotalámicos de bovino. La distribución de la SP en el hipotálamo varía mucho entre cada especie. En humanos la región tuberal basal es la zona más

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

rica en SP. El origen de las fibras nerviosas que contienen SP no se conoce del todo aunque se piensa que procede de la amígdala (Langevin et al. 1982).

El lóbulo hipofisiario anterior contiene una gran cantidad de fibras portadoras de SP que se localizan alrededor de las células hipofisiarias. Además, mediante inmunofluorescencia se ha demostrado la existencia de receptores de la SP en estas células. En ratas, la aplicación intraventricular de SP produce una inhibición de la liberación de la hormona de crecimiento, mientras que la aplicación de un antagonista produce un incremento de los niveles plasmáticos de esta hormona. Por el contrario la SP produce una elevación de los niveles de prolactina (Sakanaka et al. 1981).

La inyección intracerebrovascular de SP en la rata produce una típica respuesta de defensa cardiovascular basada en aumento de la presión sanguínea, frecuencia cardíaca, actividad simpática eferente y vasoconstricción visceral. Esta respuesta viene acompañada por un aumento en el estado de conciencia y aumento de la motricidad. La parte anterior y ventromedial del hipotálamo es considerada la zona diana donde afecta la SP, se ha demostrado que la microinyección de SP en estas áreas evocan respuestas similares a las producida por inyecciones intracerebroventricular (Tsuruo et al 1983, Hönfelt et al. 1978).

A excepción de los núcleos centromediales y posterolaterales, todas las regiones del tálamo presentan fibras nerviosas que contiene SP pudiendo proceder estas fibras del hipotálamo, regiones pretalámicas y regiones del cerebro medio. Respecto a los cuerpos neuronales, prácticamente el 100% de ellos expresan SP en su interior (Rubin et al. 1983, Burcher et al. 1986).

1.3.7.2. Distribución y funciones de las Taquicininas en tejidos periféricos:

1. SISTEMA VISUAL

La SP participa como mediador en la respuesta ocular ante sustancias químicas irritantes.

Produce tras su liberación hiperemia y miosis que provoca de forma secundaria hipertensión ocular (Camras CB y Bito LZ, 1980). De hecho, han sido identificados RNK1 y RNK2 en las arteriolas de la retina (Gaspar MN et al. 2004).

2. CADENA GANGLIONAR SIMPÁTICA

Parece que la SP forma parte del arco reflejo no colinérgico intestinal que permite la conexión funcional de las neuronas sensoriales del tracto gastrointestinal con las simpáticas ganglionares (Jiang Z, Dun NJ y Karczmar AG, 1982). Algunos trabajos hablan de un regulación de la actividad simpática en los ganglios por la SP (Kessler JA y Black IB, 1982).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

3. APARATO DIGESTIVO

En la actualidad, el papel y la distribución de las TK en el tracto gastrointestinal son bien conocidos gracias a los trabajos de investigación que diversos autores han realizado durante más de dos décadas (Furness JB y Costa M, 1987; Holzer P y Holzer-Petsche U, 1997). Los tres subtipos de receptores de TK se expresan en neuronas entéricas, músculo liso, células epiteliales, sistema inmune y vasos sanguíneos. La SP está implicada junto con las restantes TK en las funciones de secreción de fluidos y electrolitos, motilidad intestinal, vascularización y función inmunitaria; se habla incluso de la regulación taquicinérgica intestinal, actividad secretora y del probable papel de los receptores de dichas sustancias como dianas terapéuticas.

4. SISTEMA RESPIRATORIO

Nilsson G et al (1977) determinaron la inmunoreactividad de la SP en el aparato respiratorio, identificando fibras nerviosas de SP en el músculo, el tejido conectivo y el epitelio de la tráquea y el bronquio. Hoy día se sabe que es el más potente broncoconstrictor, con potente efecto vasodilatador; induce la secreción de moco y regula el mecanismo de aclaramiento mucociliar (Chapman RW et al. 1998).

5. SISTEMA CIRCULATORIO

La SP es uno de los vasodilatadores conocidos más potentes; su capacidad vasodilatadora es 100 veces mayor que la de las bradisininas. La SP está implicada en la denominada vasodilatación neurogénica; se trataría de neuronas extrínsecas de tipo sensorial las cuales rodean los vasos sanguíneos adyacentes (Furness JB et al. 1982).

6. PIEL

Diversos estudios sobre este órgano en humanos muestran inmunorreactividad para SP en los terminales nerviosos de las fibras existentes en la dermis papilar y epidermis. La SP aparece en las fibras C de la piel, lo que indica que cumple un papel fundamental en la nocicepción (Dalsgaard CJ et al. 1983; Bjorklund HC et al. 1985). Clásicamente, la inyección intradérmica de SP en el hombre da lugar a una respuesta tipo histamina, con habón, prurito y enrojecimiento, lo que confirma su implicación en la urticaria. Este efecto se bloquea con la administración de antihistamínicos (Hagermark O et al. 1978).

7. SISTEMA HEMATOPOYÉTICO

Li Y et al (2000) demostraron la presencia del gen para SP y para RNK1 en las células madre hematopoyéticas humanas TF-1 y en células madre primarias derivadas de sangre del cordón umbilical humano (HPCB) (Li Y et al. 2000), por lo que la SP interviene en la regulación de la hematopoyesis. El control neuropeptídico del sistema inmune (SI) se inicia desde la propia

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

hematopoyesis medular. La MO está inervada por fibras nerviosas peptidérgicas y simpáticas, habiéndose encontrado fibras con expresión de TK (Fras C et al. 2003). Esta inervación es necesaria para la retención de CMH y otros progenitores en la propia MO (Afan AM et al. 1997) y se ha comprobado que cualquier alteración neural de la hematopoyesis se traduce en una disfunción inmunológica (Kang HS et al. 2004). Así, la liberación de neurotransmisores, entre los que destacan la SP y NKA, resultaría fundamental para mantener una homeostasis hematopoyética. Todo esto ha llevado a hablar de la existencia de un auténtico eje neuro-inmune-hematopoyético (Rameshwar P y Gascon P, 1997).

De esta manera, la SP y la NKA tienen efectos opuestos en cuanto a la proliferación de las CMH, regulando la misma por un mecanismo autocrino y/o paracrino. Parece que esta especificidad funcional viene determinada por la expresión del tipo de receptor taquicinérgico, bien sea el RNK1 o el RNK2, de forma que la SP/RNK1 estimula la proliferación de los progenitores hematopoyéticos y la NKA/RNK2 tiene un efecto inhibitor de la misma. Sin embargo resulta interesante que el fragmento 1-4 de la SP parece ser que compite con la propia SP por el RNK1 y realiza un efecto opuesto y una retroalimentación negativa sobre este receptor, de manera similar a la NKA (Kang HS et al. 2004).

Estudios recientes señalan el probable papel de la enzima convertidora de angiotensina y un sistema renina-angiotensina propio de la MO, a través del cual la angiotensina II actuaría de forma conjunta y coordinada con la SP y otros NP en la regulación de la hematopoyesis (Shen XZ y Bernstein KE, 2011).

8. RIÑÓN Y SISTEMA URINARIO

La SP se expresa en pelvis renal y uréteres en forma de una densa red de fibras nerviosas. Dicha molécula es actualmente reconocida como sustancia natriurética y diurética, actuando a nivel central y localmente, favoreciendo el flujo sanguíneo renal, volumen de orina y excreción de sodio (Pernow B, 1983), efectos supuestamente relacionados con la acción vasodilatadora de la SP sobre los conductos eferentes renales.

9. SISTEMA ENDOCRINO

En los últimos años se ha puesto de manifiesto el papel relevante que desempeñan las TK y especialmente la SP, en la regulación neuroendocrina de la reproducción (Lasaga M et al. 2011). Los cambios en la concentración de la SP plasmática durante el ciclo menstrual sugieren que ésta desempeña un papel importante en la regulación de la ovulación de diferentes mamíferos entre los que se encuentra el hombre (Kerdelhue B et al. 2000; 2006).

También se ha relacionado a la SP con los cambios producidos por el envejecimiento a nivel del eje hipotálamo-hipofisario (Yuan M et al. 2005). La presencia de SP en la pars tuberalis de la hipófisis apunta su papel en la regulación de la secreción de prolactina (Skinner et al. 2009).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

10. APARATO REPRODUCTOR

Útero, ovarios y vagina son también órganos donde se pueden encontrar fibras positivas para SP, NKA y sus receptores. La SP y el RNK1 se expresan en el cordón umbilical y la placenta en recién nacidos a término estudiados mediante técnicas inmunohistoquímicas. (Muñoz M et al. 2010a). Se ha comprobado la existencia de SP tanto en las células de Leydig testiculares de ratas (Ortega HH et al. 2006) como en células granulosas del ovario de estos roedores y se ha sugerido el papel de esta TK en la estimulación del ovocito sobre la contracción muscular de las trompas de Falopio y posterior implantación (Pintado CO et al. 2003). Tanto SP como NKA aumentan la motilidad de los espermatozoides humanos de forma proporcional a su concentración ya que éstos expresan tanto RNK1 como RNK2 (Ravina CG et al. 2007).

1.3.8. Fisiopatología relacionada con la SP y NK1R

1. SP Y NOCICEPCIÓN

El papel de la SP en la transmisión del dolor no fue del todo aclarado hasta finales de los ochenta. Hasta entonces se consideraba como primer transmisor de la nocicepción en las fibras sensoriales aferentes relacionadas con la respuesta de estímulos cutáneos nocivos y en la participación de la conducción de fibras C. Estas fibras nerviosas aferentes también transmiten señales a la médula espinal en respuesta a la inflamación y al dolor, por tanto, la SP contribuye a la transmisión del dolor al sistema nervioso central provocado por los procesos inflamatorios (Holzer P et al. 1988). El asta dorsal es la primera estación relacionada con la señal aferente primaria donde se integra la información al cerebro, así datos presentados en los noventa informan del papel de la SP en el procesamiento de la información sensorial nociva hacia el cerebro.

Hoy sabemos que la SP no sólo regula la excitabilidad de las neuronas nociceptivas del asta dorsal, sino que también está involucrada en el proceso de integración del dolor a nivel central y en la generación del estrés y la ansiedad que este desencadena (DeVane CL et al. 2001).

Después de la estimulación eléctrica del ganglio del trigémino se ha demostrado la liberación de SP a partir de las terminales sensoriales primarias (Samsam M et al. 2000, 2001). Lo que sugirió que la SP podría actuar como un transmisor-modulador en la primera sinapsis central de la vía sensorial del trigémino.

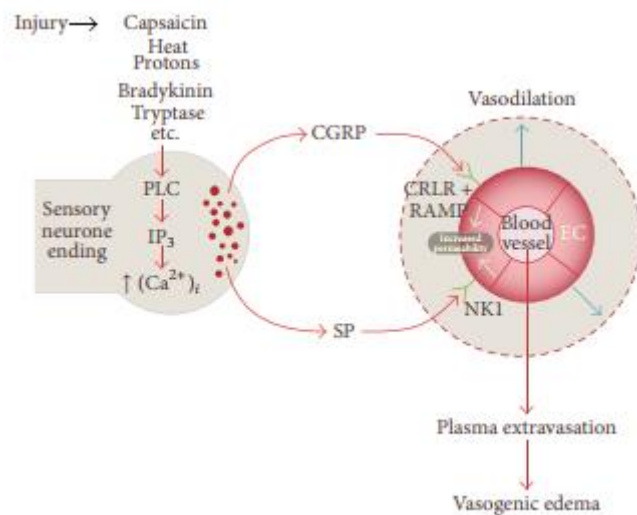
2. RELACIÓN DE LA SP Y RNK1 CON EL SISTEMA INMUNE

La SP está considerada actualmente como el principal mediador de la inflamación neurogénica, estimulando las células del endotelio vascular produciendo vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, extravasación de plasma e infiltración granulocítica, así como la

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

activación de los neutrófilos y eosinófilos aumentando la expresión de los ICAM-1 en las células del endotelio vascular y mejorando por tanto, la migración transendotelial de neutrófilos y el aumento de la expresión de los CD11B de los neutrófilos humanos (Nakagawa N et al. 1995; Quinlan KL et al. 1998). La SP, es un modulador de la neuroinmunorregulación, en particular de las funciones inmunes de los fagocitos mononucleares. La SP es secretada por células inmunes humanas, participa en la inmunorregulación de modo autocrina y está implicada en la patogénesis de las enfermedades mediadas inmunológicamente, incluyendo enfermedades neuroinmunológicas y el SIDA (Muñoz M et al. 2011a). La SP es un potente inmunomodulador que enlaza el sistema nervioso y el sistema inmunológico (Muñoz M et al. 2011a).

Figura 32. Iniciación inflamatoria neurogénica de edema vasogénico (Lewis KM et al, 2013)



La SP provoca vasodilatación actuando directamente sobre las células del músculo liso e indirectamente por estimular la liberación de histamina de los mastocitos (Shibata H et al. 1985). Es una molécula neuroinmunorreguladora de los sistemas inmunes clásicos celular y humoral, ya que puede estimular la proliferación de células T (Payan DG et al. 1983), la diferenciación de células B, la degranulación de los mastocitos y estimular la diapédesis de los leucocitos (Krause JE et al. 1992; McGillis JP et al. 1990). La SP contribuye al reclutamiento de leucocitos en los procesos inflamatorios, aumenta la producción de citoquinas y favorece la quimiotaxis en los leucocitos a través de los RNK1. La SP induce la síntesis de citoquinas proinflamatorias en células de la neuroglia y células linfoides y aumenta la expresión de las IL-2 en células T (Calvo CF et al. 1992; Rameshwar P et al. 1993). Estimula la producción de IL-1, IL-6 y TNF- α por los astrocitos y microglías (Gitter BD et al. 1994) y por los macrófagos (Lotz M et al. 1988; Kimball ES y Fisher MC 1988).

La SP regula las funciones inmunes de los fagocitos mononucleares, activa NF-kB, un factor de transcripción, implicado en el control de la expresión de citoquinas (Marriot I et al. 2000; Lieb

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

K et al. 1997) y productos de genes proinflamatorios (Schreck R et al. 1991) y estimula monocitos sanguíneos periféricos humanos para producir citoquinas inflamatorias, incluyendo IL-1, IL-6, IL-12 y TNF- α (Lotz M et al. 1988; Kincy-Cain T et al. 1997). Además, el ARNm de la SP y la SP han sido situados en monocitos, macrófagos y linfocitos de sangre periférica humana así como la presencia de ARNm RNK1 en la misma localización (Ho WZ et al. 1997).

Lieb K et al (1997) investigarían el efecto de activación de la SP sobre el NF-kB en la línea celular del astrocitoma humano sugiriendo que sería un mediador esencial en la síntesis de citoquinas inducida por la SP, con un papel muy importante en la regulación de la expresión de moléculas proinflamatorias como IL-8 y que además participa en la regulación de la apoptosis. De ahí la estrecha relación existente entre la neuropatología de las citoquinas inflamatorias y ciertas enfermedades como la Enfermedad de Alzheimer, la demencia en el SIDA y la esclerosis múltiple en las que la SP puede iniciar ó exacerbar el proceso inflamatorio observado en estas enfermedades (Barker R et al. 1991). Debido a que la SP es secretada por monocitos y macrófagos humanos y porque participa en la inmunorregulación autocrina (Pascual DW et al. 1990; Castagliuolo I et al. 1998), el péptido puede estar implicado en la patogénesis de la enfermedades mediadas inmunológicamente, incluyendo enfermedades neuroinmunológicas y las producidas por el virus de la inmunodeficiencia humana VIH/SIDA (Azzari C et al. 1992).

La regulación de la función de las células inmunes por la SP podría originarse no sólo de fuentes neuronales (nervios sensoriales e inflamación neurogénica) sino también de elementos no neuronales como eosinófilos y macrófagos; además, la expresión de la SP y de los RNK1 en estas células, están aumentados durante la inflamación (Weinstock JV et al. 1988; Cook GA et al. 1994). La SP es un importante regulador de motilidad en varias células, in vitro, media la quimiotaxis de los leucocitos de sangre periférica en humanos (Schratzberger P et al. 1997). La secuencia carboxilo-terminal de la SP induce la quimiotaxis de los monocitos humanos (Ruff MR et al. 1985). El péptido también tiene efectos quimiotácticos en eosinófilos (Dunzendofer S et al. 1998) y estimula la migración de las células natural-killer (NK) de forma dosis dependiente (Feistritz C et al. 2003). Además, se ha demostrado que la SP induce un cambio rápido en la forma celular, incluyendo la formación de vesículas en la membrana de los fibroblastos (Meski J et al. 2009).

Las células NK constituyen la principal población linfocitaria de la inmunidad innata. Se ha descrito que la SP aumenta su citotoxicidad y reduce su actividad migratoria (Lang K et al. 2003), si bien estudios posteriores han demostrado que si se deja incubar a dichas células con SP el efecto es contrario y su citotoxicidad disminuye (y se reduce su degranulación), siendo este efecto mediado por el RNK1 (Monaco-Shawver et al. 2011). Esta aparente contradicción se podría explicar por la mayor exposición a SP a la que se sometía las células NK del segundo estudio y puede justificar el hecho de que en circunstancias en las que se eleva la concentración plasmática de SP, como son la infección por VIH o la depresión, estas células disminuyen su capacidad funcional.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Las células dendríticas (CD), pertenecientes al sistema mononuclear fagocítico, forman parte de la inmunidad innata y actúan como las más potentes células presentadoras de antígenos profesionales de nuestro sistema inmune. La liberación de SP en el foco inflamatorio es capaz de reclutar CD inmaduras hacia el mismo (Lambrecht BN et al. 2001). Y es que las CD expresan RNK1 de forma constitutiva y son capaces de aumentar la expresión de este receptor ante estímulos como lipopolisacáridos bacterianos (Janelsins BM et al. 2009; O'Connor BM et al. 2004). Además, tanto la SP como sus análogos a concentraciones fisiológicas inducen un efecto antiapoptótico sobre estas CD, mediado por el RNK1 (Janelsins BM et al. 2009). Por todo esto se cree que las CD desempeñan un papel fundamental como dianas directas del elevado número de citoquinas proinflamatorias que se liberan en el foco de inflamación.

También se ha informado que SP estimula agregación de las plaquetas a través de la movilización intracelular del calcio y la degranulación (Shibata H et al. 1985). Las plaquetas expresan tanto SP y RNK1. Estos datos implican que la SP regula la función plaquetaria y los antagonistas de los RNK1 podrían inhibir agregación plaquetaria (Graham GJ et al. 2004). La inhibición del RNK1 disminuye la formación de trombos, aumenta el tiempo de sangrado en ratones y disminuye el tromboembolismo inducido experimentalmente (Jones S et al. 2008).

El edema inducido por la SP es principalmente debido al aumento de la permeabilidad vascular mediada a través su acción sobre los RNK1 situados en las vénulas post-capilares en las células endoteliales (Lembeck F et al. 1992). SP induce la contracción de las células endoteliales y la extravasación de plasma posterior permiten que sustancias tales como la bradisinina e histamina puedan tener acceso al sitio de la lesión. En estos procesos, la SP también interactúa con otros neurotransmisores.

La SP y otra taquicinina, la NKA, están íntimamente relacionada con la inflamación neurogénica y tienen una relación dependiente de los niveles de SP/NKA (Cao YQ et al. 1998). Además, la disponibilidad de modelos animales knockout para SP/NKA ha permitido comprobar que la expresión de estas TK en las neuronas sensoriales y células hematopoyéticas es necesaria para el desarrollo de inflamación en la vía aérea tras la formación del complejo antígeno-anticuerpo (Chavolla-Calderón M et al. 2003). El óxido nítrico endógeno, modula la formación de edema mediada por SP (Hughes SR et al. 1990).

También se ha demostrado que la SP induce la proliferación de linfocitos T (Scicchinato R et al. 1988; Nio DA et al. 1993) y que las células inmunes producen SP y también expresan su receptor RNK1 (Lai JP et al. 1998). Por otra parte, los linfocitos T humanos contienen ARNm preprotaquicinas, que codifican y producen SP (Lai JP et al. 1998). La activación con un lipopolisacárido in vitro produce un marcado aumento de la expresión de SP en los fagocitos mononucleares y células dendríticas (Lambrecht BN et al. 1999).

Además, la SP ha sido implicada en procesos inflamatorios del aparato respiratorio, gastrointestinal y sistemas musculoesquelético. En los pacientes con asma, la expresión de SP

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

y RNK1 está aumentada en los bronquios (Advenier C et al. 1999). La inflamación neurogénica también participa en la fisiopatología de los virus asociados a infección respiratoria y en la sarcoidosis (O'Connor TM et al. 2004). También se ha establecido su relación con el liquen plano oral, enfermedad mucocutánea inflamatoria crónica (González Moles MA et al. 2009).

Los efectos de esta TK se amplifican por la pérdida de su principal enzima degradante, la endopeptidasa neutra (EPN), en las células epiteliales que resultan dañadas en los procesos crónicos (Hwang L et al. 1993).

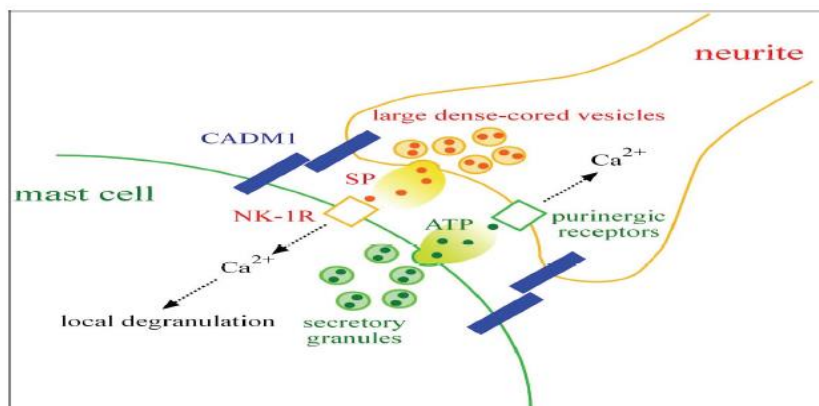
La SP también regula la contractilidad del músculo liso, el transporte epitelial de iones, la permeabilidad vascular y la función inmune en el tracto gastrointestinal. Se ha demostrado la elevación de la expresión de SP y del RNK1 en el recto y el colon de pacientes con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (O'Connor TM et al. 2004).

Se ha encontrado un aumento de los niveles de SP en el fluido sinovial y el suero de pacientes con artritis reumatoide (AR). La SP estimula la producción de prostaglandina E2 y la liberación de colagenasa por los sinoviocitos en la AR y aumenta la proliferación de estos sinoviocitos (Lotz et al. 1987). El ARNm RNK1 está incrementado en los sinoviocitos en la AR (Krause JE et al. 1992). Estos hallazgos apoyan el papel de la SP en la destrucción del cartílago, el desarrollo de la lesión ósea y la formación de pannus en la artritis. O'Connor TM et al (2004) correlacionan niveles elevados de SP en sangre y el aumento de expresión de los RNK1 en enfermedades inflamatorias como asma, enfermedad inflamatoria intestinal, sarcoidosis y artritis reumatoide.

Los glucocorticoides pueden atenuar la inflamación neurogénica disminuyendo la expresión del RNK1 en células epiteliales y en células inflamatorias y por aumento de la producción de endopeptidasa (EPN), enzima que degrada la SP. Por lo tanto, la prevención de los efectos proinflamatorios de la SP, utilizando antagonistas de los RNK1 pueden tener potencial efecto terapéutico en enfermedades inflamatorias tales como asma, sarcoidosis, bronquitis crónica, enfermedad inflamatoria intestinal, cistitis, artritis reumatoide y de hecho en todas las enfermedades inflamatorias (O'Connor TM et al. 2004).

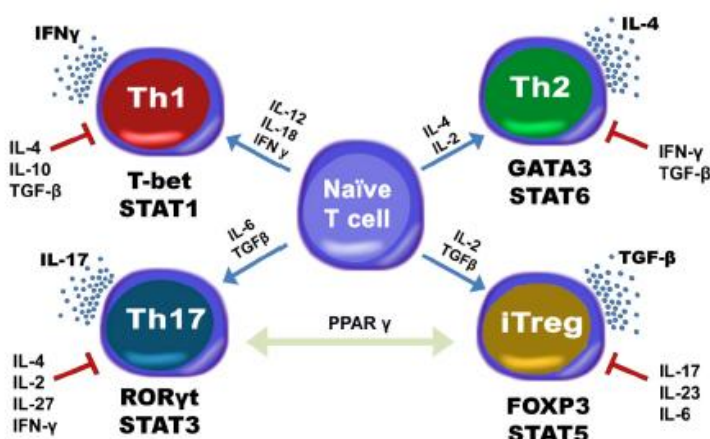
Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 33. Representación esquemática del mecanismo molecular en la comunicación entre células nerviosas y mastocitos.



La naturaleza e intensidad de la respuesta inmune depende en gran medida de la diferenciación de las células Th (*T helpers*) CD4+ efectoras. Estos linfocitos Th CD4+ vírgenes pueden diferenciarse hacia Th1 (responsables de la inmunidad celular frente a virus y patógenos intracelulares), Th2 (implicados en trastornos alérgicos y control de infecciones por helmintos), Th17 y células T reguladoras (Treg). Las células Th17 inducen una respuesta inmune protectora frente a bacterias y hongos y están involucrados en la fisiopatología de las enfermedades inflamatorias crónicas (artritis reumatoide, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis...). Las células Treg frenan la respuesta efectora T celular que en caso de ser excesiva, podría dañar los tejidos del propio huésped y mantiene la tolerancia periférica de las células T.

Figura 34. Diferenciación de las células Th.



Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

3. SP Y NEOANGIOGÉNESIS

Un proceso característico de la inflamación es la neoangiogénesis, creación de nuevos vasos capilares y crecimiento de éstos a partir del sistema vascular preexistente con el consecuente incremento del flujo sanguíneo. Existen varios estudios en los que se ha relacionado la SP con la neoangiogénesis tanto in vivo como in vitro. Ziche M et al. (1990, 1994) describieron como la SP estimula la neovascularización in vivo, a través de la inducción de la proliferación de las células endoteliales, mientras que antagonistas específicos de la SP bloquean esta respuesta en córnea de conejo. Fan TP et al. (1993) confirmaron la acción proangiogénica de la SP y mostraron también su inhibición por antagonistas del RNK1 en rata (Fan TP et al. 1993).

Walsh DA et al (1996), utilizando un modelo experimental en ratas, pusieron también de manifiesto que la SP aumenta la angiogénesis por una acción directa mediada por los RNK1 en la microvascularización, siendo un proceso esencial en la cura de heridas y en la inflamación.

Por otra parte, experimentos in vivo han demostrado que la SP endógena podría estar implicada en la neoangiogénesis relacionada con la inflamación neurogénica (Seegers HC et al. 2003). Además, la neoangiogénesis se ha relacionado con el incremento de expresión de los RNK1 (Singh D et al. 2000).

4. CÁNCER Y SP

Una de las implicaciones más relevantes de la SP es la capacidad mitogénica en varios tipos de células normales como en células del tejido conectivo, sinoviocitos, fibroblastos y linfocitos (Nilsson J et al. 1985; Lotz M et al. 1987; Ziche M et al. 1990 y Payan DG et al. 1983). Hennig IM et al. (1995) identificaron la presencia de RNK1, en células tumorales de astrocitomas, glioblastomas, carcinoma medular de tiroides, cáncer de mama y ganglioneuroblastomas. En muchos de estos tumores se encontraron receptores de la SP tanto intratumoral como en vasos peritumorales. El estudio de Hennig IM tiene mayor interés en el contexto de otros estudios donde la presencia de la SP es detectada en algunos tumores cerebrales primarios (Allen JM et al. 1985), de ahí que la combinación de ambos estudios sugieran fuertemente la presencia tanto de la SP como de su receptor en tumores cerebrales primarios y eleven la posibilidad de la existencia de un sistema autocrino en tumores cerebrales.

Los estudios realizados por Muñoz M et al. han demostrado la capacidad mitogénica de la SP y la presencia del RNK1 en distintas líneas celulares tumorales humanas, neuroblastoma SKN-BE (2) y glioma GAMG (Muñoz M et al. 2004a; 2005a), retinoblastoma WERI-Rb-1 e Y-79 (Muñoz et al. 2005b; Muñoz et al. 2007b), carcinoma de páncreas (Muñoz et al. 2006), cáncer de laringe HEP-2 (Muñoz M et al. 2008), adenocarcinoma gástrico y de colon (Muñoz M, Rosso ML et al. 2008), melanomas (Muñoz M et al. 2010f) en leucemia linfoblástica aguda (Muñoz et al. 2012b) y en pulmón (Muñoz et al. 2012c).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

También se ha estudiado el papel de la SP y su receptor en el tejido tumoral del cáncer de páncreas (Friess H et al. 2003), tumor queratoquístico odontogénico (González Moles MA et al. 2008) y en el carcinoma oral de células escamosas (Brener S et al. 2009).

Además de inducir el crecimiento tumoral, la SP tiene la capacidad de estimular la angiogénesis, favorece la migración celular y con ello la diseminación metastásica. Se ha visto con anterioridad, que la SP se relaciona con la inflamación, por lo que se piensa que este neuropéptido favorecería el desarrollo de tumores en órganos que están sometidos a inflamación crónica.

Los RNK1 se sobreexpresan en los tumores y las células tumorales expresan varias isoformas del RNK1. Dicha expresión se relaciona con el grado de malignidad del tumor (Muñoz M y Coveñas R, 2013b).

5. SP EN LA EMESIS DE LA POSTQUIMIOTERAPIA

Las náuseas y vómitos por la quimioterapia desempeñan un papel importante en la calidad de vida de los pacientes, por lo que controlarlos, mejoraría el estado general del enfermo oncológico. Conocemos que la SP se localiza en las regiones del troncoencéfalo asociadas a los vómitos. Navari et al. (1999), investigaron la posibilidad de bloquear SP/RNK1 con alguna molécula, debido a que ninguno de los fármacos antiemético disponibles en la actualidad son totalmente eficaces en la prevención de náuseas y vómitos. Se demostró que un antagonista de los receptores de la SP presenta efectos beneficiosos en la prevención de náuseas y vómitos en pacientes sometidos a quimioterapia (Tattersall FD et al. 1993; Bountra C et al. 1993; Gonsalves S et al. 1996; Muñoz M y Coveñas R, 2013c).

6. SP E INFECCIONES VIRALES

1. VIH

La SP es un inmunomodulador que regula las funciones inmunes de los fagocitos mononucleares, estimula a los monocitos sanguíneos periféricos humanos para producir citoquinas inflamatorias, incluyendo IL-1, IL-6, IL-12 y TNF- α (Lotz M et al. 1988; Kincy- Cain T et al. 1997). Sabemos que estas citoquinas alteran la expresión del VIH en las células T y en los monocitos (Rosenberg ZF et al. 1990,1991).

La SP se ha implicado en la patogénesis de las enfermedades mediadas inmunológicamente, incluyendo enfermedades neuroinmunológicas y el virus de la inmunodeficiencia humana VIH / SIDA (Azzari C et al. 1992).

La SP puede jugar un papel importante en la fisiopatología de los trastornos neuropsiquiátricos, como el estrés y la depresión en personas con VIH y en la inmunopatogénesis de la enfermedad del VIH (Muñoz M et al. 2011a). Recientemente se ha

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

comprobado que la SP aumenta la expresión del VIH-1 en neuroesferas de origen fetal infectadas por este virus (Schwartz L et al. 2013).

2. Miocarditis La SP estimula la producción de citoquinas proinflamatorias y contribuye a la patogénesis de varias infecciones virales, protozoarias y helmínticas en ratones y en seres humanos. Citoquinas proinflamatorias tales como IL-1 β , TNF- α e IL-6 se han implicado en la patogénesis de la miocarditis causada por la infección de encefalomiocarditis murina (EMCV). Los niveles de SP se incrementaron sesenta y una veces en ratones infectados por EMCV.

3. VRS

El nivel de ARNm RNK1, es cuatro veces mayor en pulmones infectados por VRS. La SP y los RNK1 aumentan exageradamente en el tejido pulmonar infectado por VRS (King KA et al. 2001).

4. Sarampión

El RNK1 puede ser la entrada del virus del sarampión en las neuronas en la panencefalitis esclerosante subaguda, al actuar como un receptor de acoplamiento para la proteína fijadora del virus del sarampión (Muñoz M et al. 2011a) ya que el extremo NH₂ terminal del virus del sarampión, (Phe-Ala-Gly) es homólogo al extremo carboxilo terminal del neuropéptido SP (Phe-Phe-Gly). Por otra parte, el oligopéptido ZD-Phe-L-Phe-Gly, un antagonista del RNK1, inhibe la fusión del virus del sarampión. Los antisueros anti-SP, inhiben la propagación del virus del sarampión y bloquean la fusión del virus con la célula diana (Harrowe G et al. 1990).

7. MASTOCITOSIS.

Esta enfermedad se caracteriza por el crecimiento anormal y acumulación de mastocitos en diferentes órganos. Recientemente se ha establecido una relación entre los niveles elevados de SP y otros NP con la carga de mastocitos y expresión de RNK1 en la piel de pacientes afectos de esta enfermedad, sugiriendo el papel de estos NP en su fisiopatología (Maintz L et al. 2011).

8. ASMA, HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL.

Son muchas las sustancias que inducen la liberación de neuropéptidos desde las terminaciones nerviosas sensoriales pulmonares, entre ellas los alérgenos, la histamina, las prostaglandinas y leucotrienos. Los pacientes con asma presentan un aumento en la expresión tanto de SP como RNK1 en el árbol bronquial; y es que la SP parece jugar un papel importante en el desarrollo de la hiperreactividad bronquial, inflamación de la vía aérea y tos (Advenier C et al. 1999).

Mientras que el efecto en la hiperreactividad bronquial está mediado sobre todo por RNK-2, la rotura microvascular con extravasación de plasma y formación de edema está mediado por RNK1 (Grant AD et al. 2002; Maggi CA et al. 1995). La inflamación neurogénica inducida por la

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

SP también participa en otras patologías respiratorias, como son la tos no productiva, las infecciones respiratorias por virus, la rinitis alérgicas y la sarcoidosis (O'Connor TM et al. 2004).

9. SP Y SISTEMA NERVIOSO.

9.1. Depresión y SP

Los trastornos afectivos se caracterizan por una alteración constante y generalizada del estado de ánimo que afecta a los pensamientos, emociones y comportamientos. Entre éstos se incluyen depresión, ansiedad y trastornos bipolares. Estudios de mapeo, han puesto en evidencia que la SP y su RNK1 están altamente expresados en regiones del SNC que son críticas para la regulación de la conducta afectiva y la respuesta neuroquímica al estrés. El tratamiento crónico con fármacos antidepresivos produce una disminución en las concentraciones de la SP en el cuerpo estriado, en la sustancia negra y en la amígdala. Estos hallazgos sugieren que la reducción de la SP en ciertas regiones del cerebro, podría contribuir al efecto terapéutico común de los fármacos antidepresivos (Shirayama Y et al. 1996).

También se considera involucrada en desordenes psiquiátricos referenciados por Kramer MS et al. (1998) en el que afirman que la SP es crucial para la regulación de la afectividad emocional y la respuesta neuroquímica al estrés sugiriendo así que las alteraciones en la SP ó en su receptor están involucradas en la patogenia de la depresión y otros desordenes psiquiátricos.

La infusión de SP durante el sueño ha demostrado asociar un peor estado de ánimo al despertar y una disminución en la calidad del sueño (Lieb K et al. 2002).

Posteriormente, DeVane C (2001) realizaría una revisión en la que confirmaría también que la SP además de encontrarse en la médula espinal está presente en el sistema límbico del SNC, incluyendo hipotálamo y amígdala que son áreas relacionada con el comportamiento emocional.

9.2. SP y epilepsia

La SP y en menor medida otras TK han sido implicadas como agentes causales en la generación del *status* epiléptico (Zachrisson O et al. 1998).

Se ha visto que, inyectada en el hipocampo de la rata, la SP disminuye el umbral de inicio de la actividad convulsiva y de la misma manera el Spantide II, un antagonista del receptor de la SP, es capaz de suprimir la actividad electroencefalográfica y prevenir el desarrollo de nuevas crisis en este grupo de ratas (Liu H et al. 1999). Además, se ha comprobado que los ratones carentes del gen *TAC1* presentan una mayor resistencia a la aparición de convulsiones, siendo éstas de menor intensidad y duración y además presentan una recuperación más rápida tras las mismas (Liu H et al. 1999). Estos datos demuestran el papel proconvulsivante de la SP y de sugen *TAC1*.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Recientemente se ha demostrado un aumento en la expresión tanto de SP como de RNK1 en las neuronas y células gliales del hipocampo de enfermos con esclerosis mesial temporal (Blanco B, 2012).

9.3. Esclerosis lateral amiotrófica.

La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la pérdida progresiva de función a nivel de la neurona motora, mediada por mecanismos de oxidación neuronal. Los pacientes afectados de esta enfermedad presentan un patrón de células que expresan SP diferente en comparación con sujetos controles (Gillberg BD et al. 1982). Matsuishi et al (1999) comprobaron que los niveles de SP en LCR eran mayores en aquellos pacientes con un tiempo de evolución de esclerosis lateral amiotrófica inferior a dos años y medio en comparación con los que habían presentado la enfermedad durante más tiempo. Estos autores plantearon la hipótesis de que la SP pudiera actuar como un factor neurotrófico que se eleva para compensar la degeneración que ocurre en esta enfermedad (Matsuitshi T et al. 1999).

9.4. Trastornos centrales del movimiento. Se ha sugerido el papel de la SP en la aparición de los trastornos del movimiento que presentan degeneración de la sustancia negra y cuerpo estriado. Tanto SP como NKB y el RNK1 se expresan en las neuronas dopaminérgicas del cuerpo estriado (Sivam SP y Krause JE, 1992; Sonomura T et al. 2007). En la enfermedad de Parkinson, numerosos trabajos han establecido una relación entre el debut de la enfermedad con la degeneración de diferentes tipos neuronas que contienen SP en la sustancia nigra, ganglios basales y áreas circundantes (Cui QL, Yung WH y Chen L, 2008; Gai WP et al. 1991; Mauborgne A et al. 1983). También se ha relacionado la SP en la génesis de la degeneración espinoocerebelosa o ataxia espinoocerebelar tipo III (Matsuishi T et al. 1996).

9.5. Lesión cerebral traumática.

La lesión cerebral traumática produce daño neurológico a través de dos mecanismos: primero por los procesos mecánicos del trauma, y después por las consecuencias bioquímicas y fisiológicas derivadas del mismo (ruptura de la barrera hematoencefálica, edema cerebral, liberación de aminoácidos excitatorios, estrés oxidativo y fracaso metabólico). La SP juega un papel fundamental en la degeneración funcional y fisiológica que sigue al daño cerebral agudo, tanto a nivel del SNC como periférico (Vink R et al. 2004). También se ha relacionado la inflamación neurogénica inducida por neuropéptidos como la SP y la NKA con el edema secundario al trauma cerebral (Nimmo AJ et al. 2004; Lewis KM et al, 2013)

9.6. Enfermedad de Alzheimer. Ésta es una forma de demencia cuya patogenia se relaciona con alteraciones de la proteína tau del citoesqueleto, intracelular; depósito de A β extracelular y PPA. Los pacientes con EA presentan una menor expresión de SP en diferentes regiones cerebrales (Beal MJ y Mazurek MF, 1987; Kowall NW et al. 1993). En cambio, los niveles aumentados de SP en LCR se correlacionan con un debut clínico tardío (mayores de 65 años)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

(Rosler N, Wichart I y Jellinger KA, 2001). Este apartado se desarrolla más adelante, por ser objeto de este estudio.

9.7. Enfermedad de Huntington. En este trastorno neurodegenerativo se ha descrito la pérdida de neuronas SP-positivas a nivel del cuerpo estriado y otras regiones de los ganglios basales (Richfield EK et al. 2002). Incluso se ha establecido una correlación entre la severidad de la enfermedad y un gradiente en la pérdida de inmunorreactividad de la SP en el cuerpo estriado (Ferrante RJ et al. 1986).

10. SP y RNK1 CON SISTEMA INMUNE

La SP como unión entre el SNC y el Sistema Inmune. Cada vez hay más evidencia que apoya la existencia de una comunicación activa bidireccional entre el SNC y el sistema inmune (SI) (Elenkov IJ et al. 2000; Steinman L et al. 2004). De esta forma se acepta que el SNC puede estimular o inhibir la actividad de la inmunidad tanto innata como adquirida y a su vez, el SI a través de la liberación de citoquinas puede influenciar la actividad del propio SNC.

Algunos péptidos con funciones de señalización neural o neuroendocrina han demostrado presentar una potente actividad antimicrobiana, por lo que el SNC podría utilizarlos como agentes anti-infecciosos al enviarlos de forma rápida y precisa a los lugares infectados.

El complejo SP/RNK1 se considera el principal mediador en la interacción recíproca existente entre el SI y el SNC (Hartung HP y Toyka KV, 1989; Maggi CA et al. 1997; Severini C et al. 2002). Así una secreción predominante de SP, de actividad proinflamatoria, sobre otros NP antiinflamatorios favorecerá la aparición de trastornos inflamatorios crónicos y autoinmunes tanto en el SNC como en tejidos periféricos (Reinke EK et al. 2006).

Como ya se ha comentado, la SP está presente en las terminaciones nerviosas amielínicas tipo-C de neuronas sensoriales nociceptivas de diferentes localizaciones.

Ante un estímulo nociceptivo en la piel, las terminaciones estimuladas, con capacidad para liberar SP, pondrán en marcha una serie de respuestas de defensa local mediadas por esta TK: redondeo de las células epiteliales, extravasación capilar y vasodilatación, quimiotaxis de neutrófilos y macrófagos, proliferación de queratinocitos y fibroblastos, degranulación de mastocitos y expresión de diferentes moléculas de adhesión en el endotelio local, epitelio y células inflamatorias (Scholzen T et al. 1998). Se ha propuesto como ejemplo de esta protección neurogénica ejercida por las fibras sensoriales tipo-C el hecho de que los enfermos con neuropatía sensorial diabética, en los que dichas terminaciones nerviosas están dañadas, tengan un riesgo 15 veces mayor de padecer úlceras en los pies infectadas de forma crónica. (Gibran NS et al. 2002). A este respecto, un reciente estudio ha puesto de manifiesto la capacidad de la SP, aplicada de forma tópica, para acelerar la cicatrización de heridas cutáneas. Esta mejoría se produce mediante la modulación de citoquinas (IL-10, TNF- α) y factores de crecimiento (TGF- β , factor de crecimiento vascular endotelial), que provocan en la herida una

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

más temprana infiltración leucocitaria, proliferación de fibroblastos, angiogénesis, depósito de colágeno y reepitelización. Basado en estos hallazgos los autores sugieren que la SP tópica podría ser de utilidad para tratar las úlceras de los enfermos diabéticos (Kant V et al. 2013).

Esta capacidad del SNC para interactuar con el SI y el sistema endocrino estableciendo una comunicación bidireccional con ambos basada en un lenguaje químico de neurotransmisores, hormonas y citoquinas ha llevado a hablar de la existencia de un eje neuro-inmuno-endocrino (Blalock JE et al. 2002).

La génesis y progresión de los tumores están íntimamente relacionadas con el SI, de manera que las células inmunes pueden actuar tratando de detener la tumorigénesis o facilitando la progresión de la misma a distintos niveles. Este planteamiento unido a una serie de datos experimentales ha llevado a algunos autores a formular la hipótesis de que el SNC podría ser capaz de monitorizar y modular la formación de tumores a través de interacciones del eje neuro-inmuno-endocrino en la fisiopatología de la tumorigénesis (Gidron Y et al. 2005; Mravec B et al. 2006).

11. SP y ENFERMEDAD INTESTINAL

Las taquiquininas también participan en las respuestas inflamatorias a la infección, incluyendo la formación de granulomas, los sitios de inflamación crónica que evitan la propagación de enfermedades infecciosas (Weinstock JV. 2004.). La SP y el NK1R contribuyen a las secuelas de la inflamación, incluyendo la fibrosis y cicatrización en enfermedades inflamatorias intestinales. El NK1R se expresa en los fibroblastos de ratón en el colon con inflamación crónica y en los tejidos de pacientes con enfermedad de Crohn, donde SP estimula la síntesis de colágeno (Koon HW et al, 2010) SP también protege a los colonocitos de apoptosis y promueve la expresión de cisteína del inductor angiogénico 61 en epitelio del colon, lo que contribuye a la curación (Koon HW et al. 2011).

Con estos efectos, la supresión NK1R dificulta la curación de la mucosa después de la colitis crónica (Castagliuolo I et al, 2002). De este modo SP y el NK1R tienen doble papel en la inflamación intestinal, orquestando inflamación y mediando la reparación. El potencial efecto beneficioso de los antagonistas NK1R en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) podrían, por lo tanto, ser la curación de los tejidos inflamados.

12. SP, INFLAMACIÓN NEUROGÉNICA Y DOLOR

La estimulación nociva de los tejidos periféricos conduce a la liberación o la generación de múltiples factores que se derivan de la circulación, las células inmunes, y los tejidos epiteliales. Estos pueden incluir proteasas (por ejemplo, tripsina de células cebadas), factores de crecimiento (NGF), péptidos (bradicinina), lípidos (prostaglandinas), aminas (5-hidroxitriptamina), purinas (ATP), iones (protones), presión y temperatura elevada (punto 1).

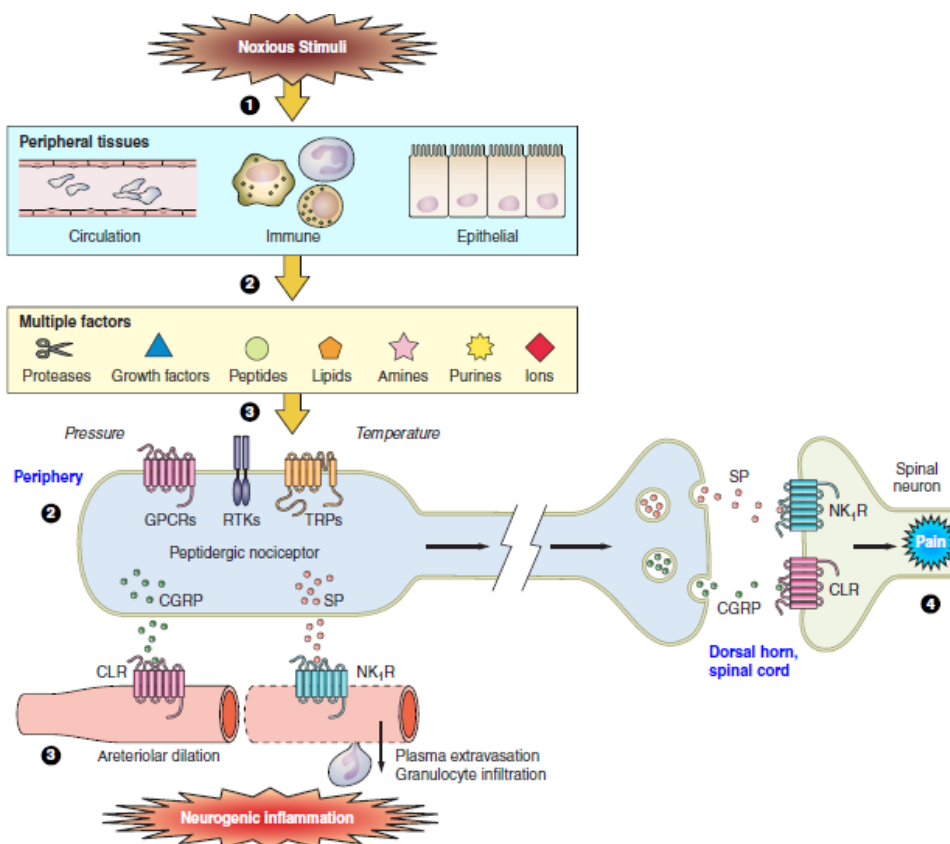
Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Estos factores pueden activar varias clases de receptores y canales expresados por los nociceptores peptidérgicos, incluyendo GPCRs, canales TRP y receptor tirosina quinasas (RTK) (punto 2).

Los nociceptores liberan neuropéptidos activados en tejidos periféricos, incluyendo SP y NKA, que estimulan NK1R en las células endoteliales de las vénulas postcapilares y extravasación de plasma y causa la infiltración de granulocitos y CGRP, que estimula el receptor similar al receptor de calcitonina (CLR) en arteriolas a causar hiperemia. En conjunto, estos cambios constituyen la inflamación neurogénica (punto 3)

Si los factores excitan nociceptores y generar potenciales de acción, SP y CGRP también se liberan de las proyecciones centrales de nociceptores en láminas superficiales del asta dorsal de la médula espinal, donde activan los receptores de neuropéptidos neuronas espinales que transmiten estímulos dolorosos centralmente (punto 4). (Li Y et al, 2014)

Figura 35. Aportes de taquiquininas y receptores de neuroquinina a la inflamación neurogénica y el dolor (Li Y et al, 2014).



1.3.9. ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES NK1

El desarrollo de los antagonistas de la SP, sensibles y selectivos, ha permitido comprender mejor las acciones biológicas de la SP y la fisiopatología del RNK1 (Muñoz M et al. 2011b). En un primer momento, surgen los antagonistas peptídicos pero con ciertas limitaciones, como son su menor afinidad al receptor, su inestabilidad metabólica, su incapacidad para atravesar la barrera hematoencefálica, su neurotoxicidad si es administrado en el SNC y una rápida inactivación por peptidasas. Estas limitaciones motivaron la ampliación de la investigación hacia moléculas no peptídicas con capacidad de unión a los receptores de las taquicininas.

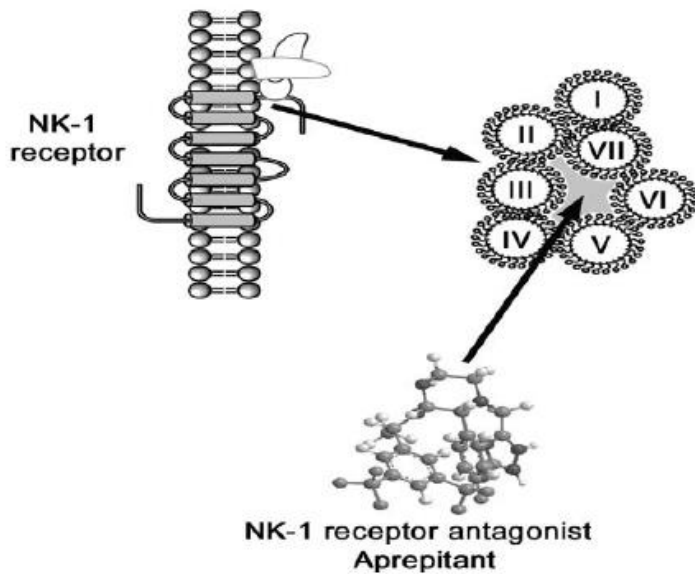
Los antagonistas no peptídicos de RNK1 son pequeñas moléculas lipofílicas que actúan en el sistema nervioso central, ya que son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica.

La estructura química de cada antagonista es diferente, pero todos se unen al RNK1, sin embargo, todos estos compuestos químicos tienen algo en común que es su estructura tridimensional o estereoquímica, que viene determinada por la afinidad al receptor. Se sabe que hay muy poca superposición entre los sitios de unión de la SP y los antagonistas del RNK1. Todos los antagonistas de los RNK1 tienen la misma acción terapéutica, la diferencia está en la concentración del antagonista ya que son dosis dependientes y la afinidad al RNK1. Con el desarrollo del primer antagonista no peptídico de los RNK1, CP-96, 345, sintetizado por Snider RM et al. (1991), pudo ser analizado el sitio de unión del antagonista competitivo no peptídico y del neuropéptido SP, demostrándose que mientras la SP se une en los giros extracelulares de las hélices transmembrana del receptor por su carácter hidrofílico, los antagonistas no peptídicos hidrófobos se unen más profundamente entre los segmentos transmembrana (Gether U et al. 1993).

Podemos hablar de más de treinta compuestos de diferente naturaleza (Giardina GAM et al. 2003). Estos antagonistas producen analgesia (Rupniak NM et al. 1996), tienen efectos antidepressivos (Kramer M et al. 1998), ansiolíticos (Quartara L y Maggi CA, 1998), antieméticos (Rupniak NM y Kramer M, 1999) y antitumorales (Lang K et al. 2004; Muñoz M et al. 2004a, 2005a, 2005b, 2007a, 2007b, 2008, 2010f, 2011c, 2012b, 2012c). Bang R et al (2003) demuestran que el L-733,060, puede ser un buen antiinflamatorio y protector hepático que reduce la inflamación, el edema, la infiltración neutrofílica, la apoptosis y la necrosis del hepatocito en un modelo de inflamación hepática en ratón.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 36. La SP y el aprepitant (bloqueante del RNK1) Tienen distintos sitios de unión al RNK1. El antagonista se une a los segmentos profundos transmembranas de RNK1 y la SP a las hélices extracelulares del RNK1 (Muñoz M, 2011b, página 2).



1.3.9.1. ANTAGONISTAS PEPTÍDICOS

La serie de antagonistas peptídicos se basan en el intercambio de un L aminoácido por un D aminoácido de la secuencia de la SP, con lo cual se comporta desde el punto de vista funcional como un antagonista de los RNK1 o de la SP. Se han utilizado de manera muy extensa y nombramos aquellos de mayor potencia, los más utilizados desde el punto de vista clínico.

- [D-Arg1, D-Trp5,7,9, Leu11] SP
- [D-Arg1, D-Pro2, D-Trp 7,9, Leu11] SP
- [D-Arg1, D-Phe5, D-Trp7,9, Leu11] SP
- [Arg6, D-Trp7, 9, MePhe8] SP (6-11)
- [D-Pro2- Trp7, 9] SP
- [D-Arg1, D-Trp 7, 9, Leu11] SP (Spantide I)
- H-D-Lys(Nicotinoyl)-Pro-[3-(3-pyridyl)-Ala]-pro-D-Phe83,4-Cl2)-Asn-D-Trp-Phe-D-Trp-Leu-Nle-NH2 (Spantide II)
- [D-Pro4, D-Trp 7,9,10, Phe11] SP (4-11)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

- Antagonistas peptídicos de cadena corta: NY 3238, NY 3460, NY 3521

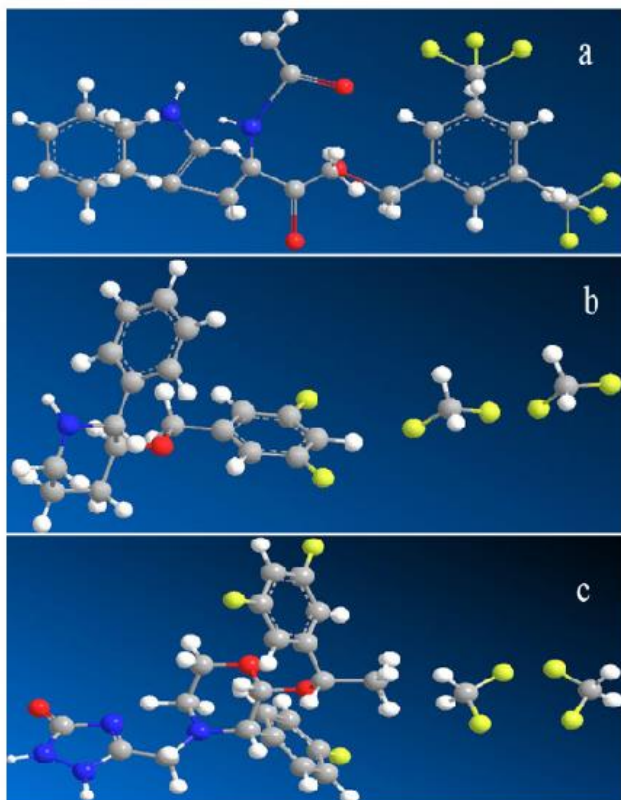
1.3.9.2. ANTAGONISTAS NO PEPTÍDICOS

Los antagonistas no peptídico pueden ser amonios cuaternarios derivados de la quinuclidina, análogos de la piperazina y los compuestos piperidínicos y derivados del triptófano entre otras estructuras químicas. Desde que están disponibles los antagonistas no peptídicos de los RNK1 (Maggi CA et al. 1993; Regoli D et al. 1994), ha habido un incremento de artículos describiendo nuevos antagonistas (Quartara L y Maggi CA, 1997) y esteroides como WIN-51,708, tipo perhidroisoindolonas (RP-67,580, RP-73,467, RPR-100,893), benzilamino y benziléter, quinuclidina (CP-96,345, L-709,210), benzilamino piperidinas (CP-99,994, GR-203,040, GR-205, 171 (Vofopitant), CP122,721, benziléter piperidinas (L-733, 060, L-741, 671, L-742, 694...) y derivados del triptófano (L-732,138, L-737,488) (Muñoz M et al. 2011b).

- SR-1, 400.333
- MEN-11,467
- MEN-11,149
- Ezlopitant (CJ-11, 974)
- CJ-12,458 (Metabolito activo del Ezlopitant)
- CJ-12,764 (Metabolito activo del Ezlopitant)
- MK-869 (L-754,030, aprepitant, Emend)
- Fosaprepitant (Ivemend, MK-0517, L-758, 298) sal del aprepitant de uso intravenoso.
- L-758,298
- Maropitant L-759,274
- Casopitant (GW-679,769)
- Vestipitant
- Rolapitant y serlopitant

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Figura 37. Representación tridimensional de la estructura química de L-732,138 (a), L-733,060 (b) y aprepitant (c). Los átomos de carbono están representados en gris, hidrógeno en blanco, nitrógeno en azul, oxígeno en rojo y flúor en amarillo (Modificado de Rosso ML, Muñoz M y Berger, 2012, p. 10).



Desde el punto de vista clínico, debemos destacar el papel que desempeñan los antagonistas selectivos de la SP y por tanto de los RNK1, tales como: CP-96,345, CP-99,994 , RP-67,580, L-733,060, SR-1400333, GR-203040, MEN-11,467, MEN-11,149, Vofopitant (GR-205,171), CP-122,721, Ezlopitant (CJ-11,974), CJ-12,458 y CJ-12,764 (metabolitos activos de Ezlopitant), MK-869 (L-754,030, aprepitant), L-758,298, L-742,694 y L-759,274 (Steinhoff MS et al. 2014).

Entre los antagonistas de RNK1 más destacados se hallan:

El **L-733,060** es un compuesto que fue desarrollado a partir de CP-99,994 que muestra una alta afinidad por RNK1 in vitro en humanos (Muñoz M et al. 2011b). Este antagonista produce analgesia, efectos antidepresivos y es utilizado para los trastornos del estado de ánimo, posee efectos antitumorales y protectores de la inflamación hepática (Rupniak NM et al. 1996; Kramer MS et al. 1998; Muñoz M et al. 2004; Rosso M et al. 2008).

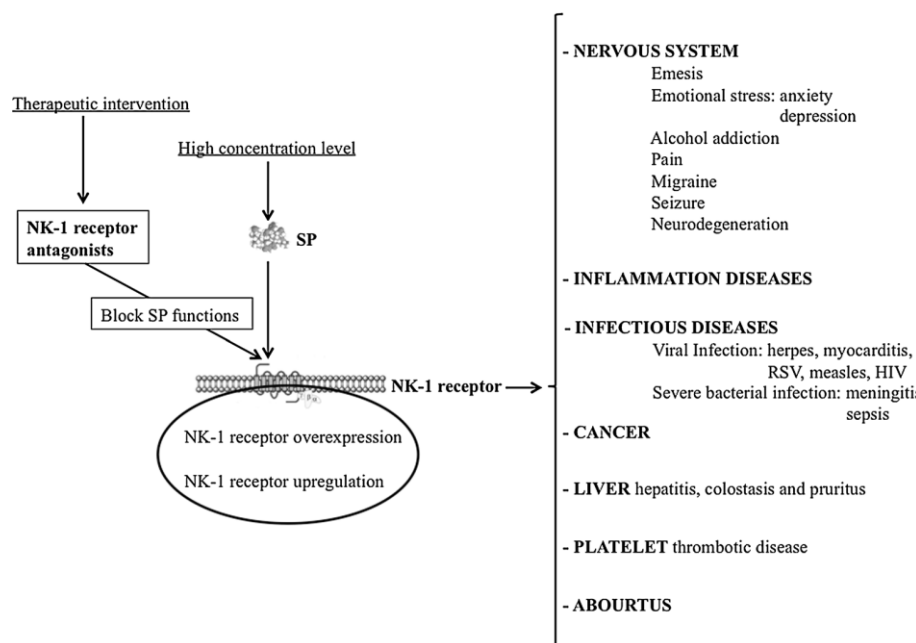
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El **L-732,138**, es aproximadamente 1.000 veces más potente para el RNK1 que para el RNK-2 y RNK-3 en humanos y 200 veces más potentes en RNK1 humanos que en ratas (MacLeod, 1994). La L-732,138 es capaz de antagonizar la permeabilidad vascular de la piel, produce una atenuación de hiperalgesia (Cahill CM et al. 2002) y ejerce una acción antitumoral contra varias líneas celulares tumorales humanas (Muñoz M et al. 2007a, 2007b, 2008, 2010f, 2011c, 2012b, 2012c).

Se sabe que el **MK-869 (aprepitant)** muestra una alta afinidad por el RNK1 y es aproximadamente 3.000 veces más selectivos para el RNK1 que para el RNK3 y es 45.000 veces más selectivo para el RNK1 que para el RNK2. El MK-869 es utilizado para el tratamiento del dolor, la migraña, la emesis y los trastornos psiquiátricos (Kramer MS et al. 1998). Se ha demostrado que el aprepitant es un fármaco antitumoral de amplio espectro (Muñoz M et al. 2010d).

1.3.9.3. USOS TERAPÉUTICOS DE LOS ANTAGONISTAS RNK1

Figura 38. Los antagonistas de los RNK1 podrían bloquear la fisiopatológico acciones mediadas por la SP (Muñoz y Coveñas, 2014)



Los antagonistas no peptídicos presentan un amplio rango de usos terapéuticos (Maggi CA et al. 1993; Harrison S et al. 1994; Regoli D et al. 1994; Quartara L y Maggi CA, 1997; Rupniak NM et al. 2000; Giardina GAM et al. 2003) de entre ellas se destacan las más relevantes:

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

1. ANALGÉSICO

La primera generación de antagonistas no peptídico son potentes inhibidores de la excitación del asta dorsal de la médula (Radhakrishnan V y Henry JL, 1991).

La molécula L-733,060, antagonista no peptídico, tiene buena penetrancia en el SNC y es de larga duración de acción (Rupniak NM et al. 1996; Cirillo R et al. 1998).

Varios estudios preclínicos han sido elaborados para confirmar la capacidad de L-733,060 de antagonizar los efectos de la SP vía específica del RNK1, como demuestran los primeros estudios de Rupniak NM et al. (1996), en el que tras administrar el L-733,060 intravenoso a gerbos, lograba controlar la fase de pataleo inducida farmacológicamente por la administración de análogos de la SP, consiguiendo controlar así el dolor, bloqueando específicamente los receptores para la SP.

Se ha demostrado que durante la migraña, el tratamiento con el antagonista del RNK1, L 733, 060, inhibe las fugas de proteínas plasmáticas al espacio extracelular inducido por la SP (Bolay H et al. 2002).

2. ANTIEMÉTICO

El RNK1 se encuentra localizado en las neuronas troncoencefálicas que constituyen el centro del vómito en el SNC (área postrema). Una de las áreas en las que se han utilizado más los antagonistas de los RNK1, ha sido para prevenir el vómito postquirúrgico y postquimioterápico; así cabe destacar los trabajos de Tattersall FD et al. (1993), Bountra C et al. (1993) y de Gonsalves S et al. 1996), en hurones en el que concluye que el bloqueo del vómito por el antagonista no peptídico lo realiza por una acción específica contra los RNK1.

La CP-99,994 puede abolir la émesis precoz y tardía tras la administración de cisplatino (Rudd JA et al. 1996).

El aprepitant es el único fármaco antagonista del RNK1 aprobado por la Food and Drug American (FDA) y la Agencia Europea del Medicamento (Curran MP. 2009) y realiza también un efecto preventivo antiemético postquimioterapia a través del bloqueo del RNK1 (Muñoz M et al. 2011a).

3. ANSIOLÍTICO Y ANTIDEPRESIVO

Los estudios realizados en esta área, se basaron en la presencia de RNK1 en las regiones cerebrales relacionadas con el comportamiento emocional, de ahí que se plantearan ensayos preclínicos en gerbos y cobayas por tener RNK1 de las mismas propiedades que los existentes en humanos. Destacan los ensayos realizados por Kramer MS et al. (1998), Rupniak NM et al. (2000) en que demuestran la capacidad ansiolítica de estos compuestos. De los estudios realizados en humanos cabe destacar a Kramer MS et al. (1998), que realizó un ensayo clínico a

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

doble ciego comparando el MK-869 (aprepitant) con la paroxetina y el placebo observando igual eficacia como antidepresivo que la paroxetina y con efectos secundarios similares al placebo.

Este estudio se contradice con el realizado por Keller M, en que muestra la eficacia de laparoxetina y la ineficacia del aprepitant (Keller M et al. 2006). No obstante, las dosis de aprepitant de este estudio fueron de 160 mg/día y en el estudio de Kramer MS se administró 300 mg/día.

La activación del RNK1 por la SP se ha relacionado con la modulación de la respuesta al estrés (Ebner K et al. 2004, 2007, 2008a, 2008b) y la supresión genética del RNK1 es ansiolítica y antidepresiva (Kramer MS et al. 1998; Texeira RM et al. 1996; Rupniak NM et al. 2001).

4. ANTIEPILÉPTICO

La adición de un bloqueante del RNK1 al tratamiento actual con los bloqueadores de los canales de sodio como la lamotrigina, puede ser beneficioso en pacientes que sufren epilepsia refractaria (Kalinichev M et al. 2010; Muñoz M y Coveñas R, 2013c).

5. ANTITUMORAL

El sistema SP/RNK1 juega un papel importante en el cáncer. SP promueve la proliferación de las células tumorales, la angiogénesis y la migración de las células tumorales (Muñoz M et al. 2015).

A partir del año 2000 son muchas publicaciones las que avalan la posibilidad de la implicación de la SP y RNK1 en la oncogénesis en distintos órganos (Luo W et al. 1996; Muñoz M et al. 2004a, 2004b, 2005a, 2005b; Friess H et al. 2003; Palma C et al. 1999; Palma C et al. 2000; Singh D et al. 2000; Muñoz M et al. 2006, 2007a, 2007b, 2008, 2010f, 2011c, 2012b, 2012c; Lang K et al. 2004) .

En el año 2004 fue utilizado el L-733,060 para inhibir la migración de las células del carcinoma de mama (Lang K et al. 2004).

Por último, ha sido descrito que el L-733,060 actúa como un agente antitumoral en líneas celulares tumorales humanas de melanomas (Muñoz M et al. 2004b), gliomas, neuroblastomas (Muñoz M et al. 2004a, 2005a) y retinoblastomas (Muñoz M et al. 2005b, 2007b) así como en carcinoma de páncreas (Muñoz et al. 2006), carcinoma de laringe (Muñoz et al. 2008) carcinoma gastrointestinal (Rosso et al. 2008) y en leucemias linfoblásticas (Muñoz et al. 2012b).

Muñoz M, demuestra la expresión de RNK1, ARNm RNK1, sobreexpresión del gen del *TAC1* en las líneas celulares COR-L23 en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) y en líneas celulares H69 en el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) y cómo antagonistas del

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

RNK1 (aprepitant Emend, L-733,060, L-732,138) inhiben el crecimiento y producen la muerte de las células tumorales en el cáncer de pulmón de ambas líneas celulares y esta se produce a través del RNK1. También demuestran la presencia de RNK1 y SP en todas las células tumorales de las muestras estudiadas SCLC y NSCLC (Muñoz M et al. 2012c).

Además de producir inhibición de 73 líneas celulares tumorales de distintos tipos de cánceres, concentración dependiente, producen muerte celular vía apoptosis. Son líneas celulares tumorales que expresan los RNK1. La SP induce la mitogénesis en líneas celulares tumorales humanas (Muñoz M et al. 2011b). Todos estos datos indican un mecanismo común para la proliferación celular mediada por el sistema receptor SP/RNK1.

Se ha demostrado que la L-733,060, en combinación con vinblastina, es sinérgico para la inhibición del crecimiento de líneas celulares de cáncer que expresan el RNK1 pero no para las células normales de fibroblastos. Esto indica que los efectos aditivos beneficiosos de ambas moléculas puede ser de utilidad clínica (Muñoz M et al. 2010e).

La angiogénesis, característica del tumor en desarrollo, se asocia con un aumento de la inervación del tejido y de la expresión del RNK1, que se encuentra en vasos sanguíneos tanto intra como peritumorales y la SP estimula la proliferación de células endoteliales (Singh D et al. 2000), dicha angiogénesis es inhibida por los antagonistas de los RNK1 (Guha S et al. 2005).

La migración celular tumoral, es un prerrequisito para la invasión y metástasis y es dependiente de las sustancias de señal de los sistemas inmune, sistemas nervioso y endocrino que a su vez es regulado por neurotransmisores (Entschladen et al. 2002).

Sabemos que el antagonista RNK1, L-733,060, inhibe completamente las metástasis mediada por SP/RNK1 (Lang K et al. 2004), que la SP induce cambios en la forma celular previos a la migración celular (Fackler OT et al. 2008; Meshki J et al. 2009) y que los antagonistas de los RNK1 como el aprepitant bloquean dichos cambios (Meshki J et al. 2009).

En los últimos años Exadaktylos y Muñoz, han informado que el sistema SP/RNK1 podría estar involucrado en las recidivas y en las metástasis del cáncer de mama (Exadaktylos et al. 2006; Muñoz M et al. 2010g).

En resumen, parece que el sistema SP/RNK1 podría regular el crecimiento de la masa tumoral, la angiogénesis y la metástasis, puesto que se sobreexpresa en células tumorales y en tejidos peritumorales (Muñoz M et al. 2011b).

Todos estos datos también indican que antagonistas de RNK1 ejercen tres acciones; antiproliferativas por inhibición del crecimiento y por apoptosis de las células tumorales, antiangiogénica y antimetastásica. Por lo tanto, los antagonistas podrían ser buenos candidatos como fármacos antineoplásicos de muy amplio espectro.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

El uso de antagonistas de los receptores NK1 tales como aprepitant (utilizado en la práctica clínica) como agentes antitumorales podría ser una innovación prometedora. Antagonistas de los RNK1 podrían actuar como fármacos específicos contra las células tumorales y estos antagonistas podrían ser candidatos prometedores en el tratamiento contra el cáncer. (Muñoz M et al. 2015)

6. DESHABITUACIÓN ALCOHÓLICA

La delección genética del RNK1, suprime la necesidad de ingestión de alcohol y el antagonista del RNK1, L-703, 606, ejerce el mismo efecto al bloquear dicho receptor.

Además, se ha informado que el antagonista del RNK1, LY-686, 017, suprime la ansiedad por el consumo de alcohol y tiene un efecto beneficioso sobre el bienestar del paciente.

Por lo tanto, los antagonistas del RNK1, han surgido como candidatos atractivos para el tratamiento del alcoholismo (Muñoz M et al. 2011a).

7. ANTIINFLAMATORIO

La prevención de los efectos proinflamatorios de la SP, utilizando antagonistas de los RNK1, pueden tener potencial efecto terapéutico en enfermedades inflamatorias tales como asma, sarcoidosis, bronquitis crónica, enfermedad inflamatoria intestinal, cistitis, artritis reumatoide, y de hecho en todas las enfermedades inflamatorias (Joos GF et al. 2000; O'Connor TM et al. 2004).

La inhibición por antagonista del RNK1 disminuye la formación de trombos, aumenta el tiempo de sangrado en ratones y disminuye el tromboembolismo inducido experimentalmente (Jones S et al. 2008).

8. PROTECTOR HEPÁTICO

El tratamiento previo con antagonistas de los RNK1 (CP-96,345, L-733,060), protege contra la lesión hepática de forma dosis-dependiente. El bloqueo del RNK1 reduce la inflamación y el daño hepático, inhibe la producción de TNF- α y IFN γ e incrementa la síntesis de las interleuquinas hepatoprotectoras, IL-6 e IL-10 en hígado de ratón. Por lo que podrían ser potentes fármacos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del hígado, la mayoría probablemente a través de la inhibición de los efectos de la SP (George DT et al. 2008, BangR et al. 2003, 2004).

9. ANTIPRURIGINOSO Y ANTICOLESTÁSICO.

Las concentraciones séricas de SP están más aumentadas en pacientes con prurito secundario a colestasis que en los debidos a otras enfermedades. En este sentido, el uso de antagonistas RNK1 podría mejorar tanto el prurito como la colestasis. El aprepitant pudo exhibir efectos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

antipruriginosos en enfermedades dermatológicas como diátesis atópica y prurigo nodular (Ständer S et al. 2010).

10. NEUROPROTECTOR

Los RNK1 se encuentran en las áreas del sistema nervioso central implicados en las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson, el Alzheimer, la esclerosis múltiple, la esclerosis lateral amiotrófica y la Corea de Huntington.

La administración de SP/NKA en la sustancia negra y sistema nigroestriado, aumenta la dopamina estriatal y la liberación de glutamato, en cambio, esta liberación puede ser bloqueada por antagonistas del RNK1 (Reid MS et al. 1990a, 1990b).

La SP vía de los RNK1 es uno de los mediadores de los efectos psicoestimulantes de la cocaína y las anfetaminas (Loonam TM et al. 2003) y es responsable en parte de la degeneración de las terminaciones dopaminérgicas nigroestriatales, vía apoptosis, secundaria al consumo de estas drogas, debido al aumento de los niveles de SP en el sistema estriatal que actúa a través del RNK1.

L-733,060 ha sido una de las moléculas empleadas en el estudio experimental en ratones que confirmó el papel de la SP y su RNK1 en la lesión degenerativa en el área nigroestriada inducida por metanfetamina, la cual aumenta los niveles de SP en el estriado. En esta región, la administración de antagonistas de RNK1 (WIN-51,708 o L-733,060) previene la pérdida de los transportadores de la dopamina, la pérdida de tejido dopaminérgico y pérdida de la tirosina hidroxilasa.

El uso de los antagonistas de los RNK1 podría compensar la adicción a drogas y mejorar el pronóstico de las enfermedades neurodegenerativas, ya que previene la degeneración y la apoptosis neuronal e interviene en la muerte neuronal programada (Yu J et al. 2002). Las dosis de los antagonistas del RNK1 requerida para la neuroprotección son más bajas que las necesarias para los efectos antidepressivos y los efectos secundarios de tales dosis son similares al placebo. Los antagonistas del RNK1, el L-732,138 y el L-733,060, inhiben completamente la muerte celular en las células del cuerpo estriado, inducida por la SP, confirmando que la neurotoxicidad inducida por SP está mediada por RNK1 (Castro-Obregón S et al. 2002).

La SP también juega un papel importante en los estados patológicos en los se produce la muerte celular neuronal, como en la epilepsia y la isquemia. Yu Z et al. (1997) en un modelo de isquemia focal cerebral, comprobó que la administración de un antagonista del RNK1 redujo el volumen del infarto y mejoró la función neurológica (Yu Z et al. 1997).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

11. INCONTINENCIA URINARIA.

Estos antagonistas se han utilizado para el tratamiento de ciertas formas de incontinencia urinaria debida a hiperreflexia del detrusor (Muñoz M et al. 2011a).

12. ANTIVIRALES

12.1. VIH

La SP juega un papel crítico en la gp120 inducida del VIH, que provoca aumentos de la permeabilidad del endotelio cerebral y por lo tanto en la barrera hematoencefálica. Este efecto es inhibido por la Spantide, antagonista de RNK1 y por un anticuerpo policlonal anti-SP.

El aprepitant es el antagonista antirretroviral para VIH-1 más potente y esta actividad anti VIH es sinérgica con otros antirretrovirales por lo que hacen de él un excelente agente terapéutico. La asociación entre la depresión, la ansiedad y el estrés con la progresión de la enfermedad del VIH sugiere que factores neurobiológicos y neurofisiológicos jugarían un papel importante en la modulación del VIH a través de las vías neuro-endocrina-inmunológicas. Así, el uso de antagonistas del RNK1 (aprepitant, por ejemplo) podría mejorar tanto el estrés emocional como la infección.

12.2. VRS

La expresión pulmonar de RNK1 es cuatro veces mayor cuando el pulmón está infectado por VRS. La inhibición selectiva del RNK1 suprime la inflamación neurogénica en las vías respiratorias intrapulmonares infectadas por VRS.

12.3. Miocarditis

La SP es esencial para la patogénesis de la miocarditis y EMCV (Virus de la encefalomiocarditis murina). Los antagonistas de los RNK1 podrían mejorar la cardiomegalia, la inflamación cardíaca, la apoptosis y la necrosis de los cardiomiocitos.

12.4. Virus del sarampión

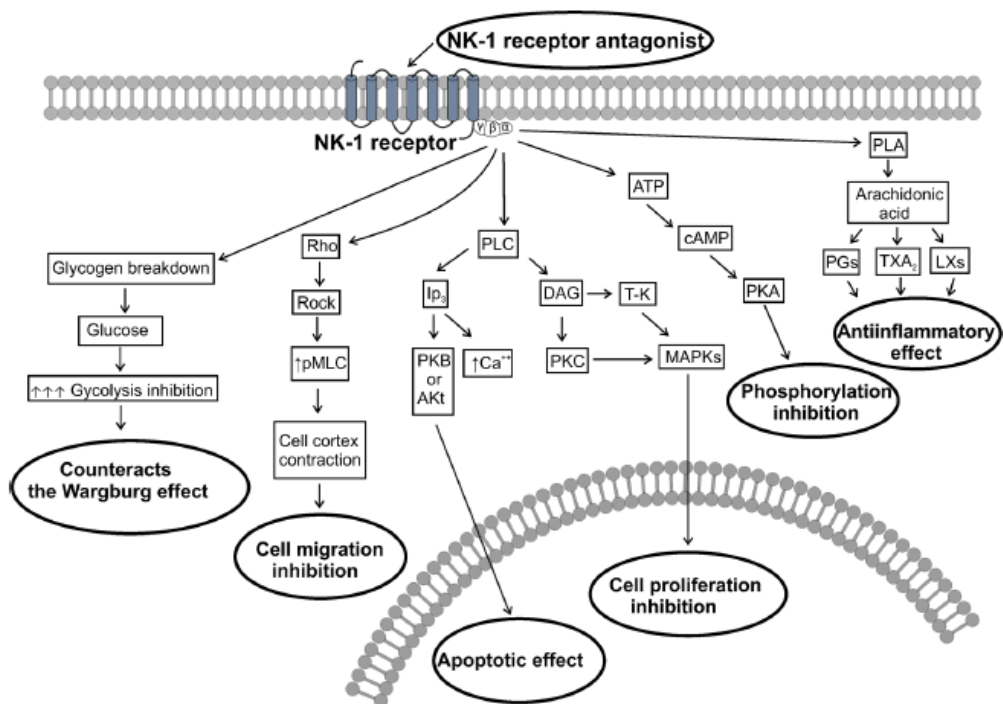
El virus del sarampión podría utilizar el RNK1 para entrar en las células durante la infección viral (Harrowe G et al. 1990).

La supresión genética o la inhibición farmacológica del RNK1 reduce la infección por el virus del sarampión (Makhortova NR et al. 2007). Por lo que el uso de antagonistas de los RNK1 podrían mejorar el tratamiento contra la infección por el virus del sarampión y la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE).

12.5. Otros

El tratamiento con el antagonista de RNK1, CP-96,345, inhibe la liberación de TNF- α mediada por toxina A desde los macrófagos en infecciones por Clostridium difficile. (Castagliuolo I et al. 1997).

Figura 39. Acciones antagonistas RNK1 (Muñoz y Coveñas, 2015).



2. Hipótesis y objetivos del trabajo

HIPÓTESIS

Es conocido que la SP es un neuropéptido activador que determina neuroinflamación y neurodegeneración en neuronas del hipocampo que tienen un papel importante en el deterioro degenerativo, debido a su papel excitador glutamatérgico.

La degeneración de la amígdala y el hipocampo y corteza entorrinal es el principal substrato neuropatológico en los pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA). Debería existir una diferencia en la concentración y distribución de SP y su RNK1 en la enfermedad de Alzheimer con respecto al hipocampo sano.

OBJETIVO

Demostrar que en el fenómeno neurodegenerativo previo a la EA, en las zonas anatómicas afectas (hipocampo y corteza entorrinal), existen modificaciones en la localización y distribución de la SP y de su receptor Neuroquinina 1 (RNK1).

- Investigar la presencia y distribución de SP y su RNK1 mediante la técnica de inmunohistoquímica en áreas del SNC relacionadas con la EA.
- Investigar la presencia y distribución de SP y su RNK1 mediante la técnica de inmunohistoquímica en estructuras anteriormente mencionadas del SNC sano.
- Comparar ambos resultados.

3. Material y método

3.1. Metodología y plan de trabajo

Se han recogido una serie de 12 biopsias de cerebro de pacientes afectos de EA procedentes de los bancos de tejidos del Sistema Sanitario Público de Andalucía (Biobanco del SSPA) y 6 biopsias de controles sanos, con la colaboración del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario del Sureste de Arganda del Rey (Madrid) y del Hospital Virgen del Rocío (Sevilla). De estos pacientes se obtendrán datos clínicos. Utilizaremos un caso de control positivo con una muestra de neuroblastoma (Muñoz et al 2007).

Se realizará en ambos tejidos un estudio inmunohistoquímico para la SP y su RNK1, valorando la localización y distribución de ambos, y posteriormente se compararan los resultados del grupo control (no afecto de patología cerebral) con el grupo problema(EA).

3.2. Datos clínicos de los pacientes

Se ha recogido una serie de 12 pacientes afectos de EA, en los que la anatomía patológica postmortem confirmó la sospecha clínica de que eran pacientes afectos de una EA.

Los parámetros recogidos han sido:

1. Edad: se registró la edad del paciente en el momento del exitus así como su fecha de nacimiento.
2. Sexo: se registró el sexo del paciente.
3. Diagnóstico de EA

No se han podido valorar más datos clínicos por no estar recogidos en el Banco de datos del Biobanco de tejidos del SSPA, no teniendo acceso a su historia clínica.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NEUROPATOLÓGICO

Métodos semicuantitativos: CERAD (The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease) (Morris C et al 1989, Mirra SS et al 1991).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Métodos topográficos como el de Braak & Braak (Braak Heiko and Braak Eva, 1993), para determinar el estadio de severidad de la enfermedad.

Criterios CERAD: El CERAD ha realizado esfuerzos para estandarizar aún más las estrategias diagnósticas y de evaluación indicadas en el informe de la NINCDS-ADRDS.

El CERAD mide las manifestaciones cognitivas primarias de la EA, tales como el lenguaje, la memoria y la praxia a lo largo de un espectro de la gravedad del trastorno. Se diferencia bien entre los sujetos normales y los pacientes con demencia leve o moderada. Los criterios establecidos por el CERAD y los de Khachaturian para el diagnóstico histopatológico

se basan en un número específico de placas seniles relacionados con la edad y en un grado limitado de ONF en la neocorteza.

Muestra de tejido: Giro frontal medio (área 9); Giro temporal superior y medio (áreas 21 y 22); Lóbulo parietal inferior (áreas 39/40-partes 7 y 19); Giro cingular anterior (área 24); Hipocampo; Amígdala y corteza entorrinal; Parte media del cerebro, incluyendo la sustancia negra.

Técnicas histológicas: Se recomienda Bielschowsky, pero también se aceptan otras alternativas.

Criterios de diagnóstico:

- 1) Evaluación de placas neuríticas.
- 2) Evaluación semi-cuantitativa de la implicación máxima.
- 3) Corteza frontal, temporal o parietal.
- 4) Recuento de placas relacionadas con la edad.

Rangos: EA posible, probable o definida.

Ningún protocolo de diagnóstico individualmente es completamente satisfactorio, pero CERAD tiene los méritos de ser: Relativamente simple. Aplicado exitosamente en un gran número de centros distintos. Reconocido ampliamente a nivel internacional y actualizado regularmente. Es un protocolo de diagnóstico apropiado para la mayoría de los casos de demencia.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Criterios BRAAK y BRAAK

Muestra de tejido: Hipocampo anterior. Hipocampo posterior. Occipital.

Técnicas histológicas: Secciones de 100 µm con Gallyas.

Criterios de separación en etapas: Semi-cuantitativo (+/+++ de ONF y HN).

Los estadios definidos por este sistema abarca las fases preclínicas y sintomáticas, la acumulación progresiva de placas y ONF a lo largo del tiempo, y su diseminación extensa y progresiva a través del cerebro. (Guimerà A et al 2002).

Braak y Braak describieron 6 estadios en la neuropatología de la EA (43). Las células de proyección específica de la región transentorrinal perialocortical, que se localizan en las profundidades del surco rinal, son las primeras neuronas corticales que manifiestan los cambios (estadio I clínicamente silencioso).

Los casos de estadio II muestran numerosos ONF y hilos del neurópilo en la región transentorrinal, y algunos adicionales en la región entorrinal. La destrucción cortical en el estadio II apenas impide la transmisión de la información neocortical (a través de la región entorrinal) a la formación hipocampal, pero sin exceder del umbral sobre el cual aparecen los síntomas clínicos iniciales. Algunos individuos desarrollan ONF/HN iniciales a una edad sorprendentemente joven. Obviamente, la edad avanzada no es un prerrequisito para el desarrollo de la patología intraneuronal. Esta observación pone en duda teorías que intentan explicar los cambios como consecuencia de influencias nocivas que se espera que tengan efecto generalmente en la edad avanzada (estrés peroxidativo, disfunción mitocondrial, desequilibrio del metabolismo de la glucosa). Esto no excluye la posibilidad de que el estrés peroxidativo pueda contribuir a los cambios en los estadios avanzados de la enfermedad o influencie en el proceso patológico. Posiblemente no parece ser un factor primario en la patogénesis de las lesiones iniciales en la EA.

En los casos de estadios límbicos III o IV, la destrucción cortical es ya severa, pero limitada a unas pocas regiones allocorticales y áreas adyacentes. La característica clave de estos estadios

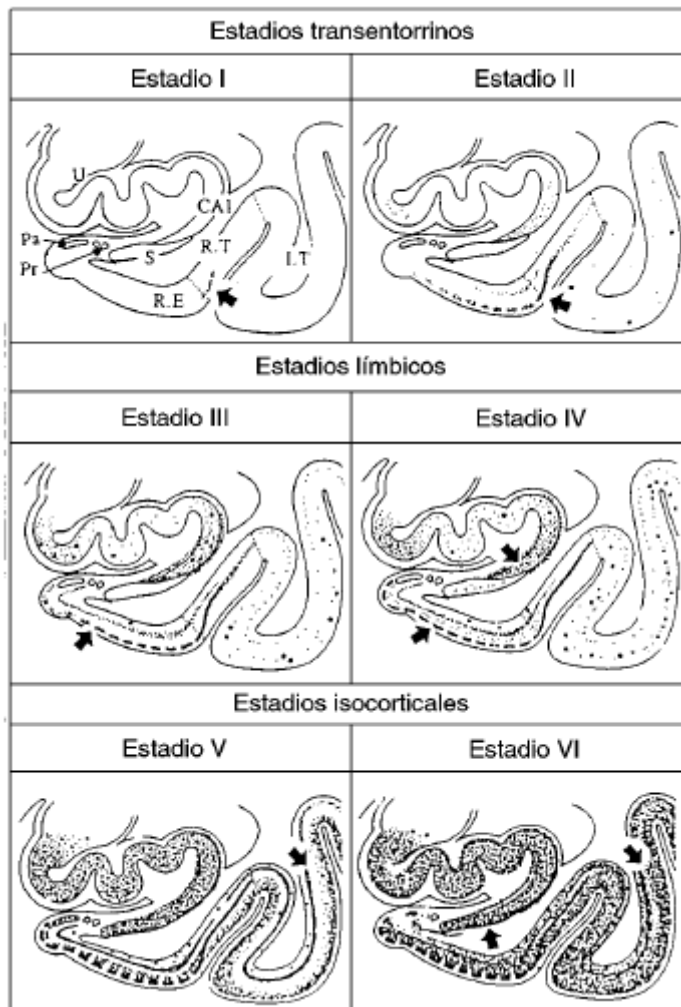
es la notable destrucción de las capas entorrinales responsables de la transmisión de datos desde la neocorteza hasta el hipocampo y viceversa. Inicialmente, la formación hipocampal se ve afectada sólo ligeramente. En el estadio IV el proceso de destrucción se difunde desde la región entorrinal hacia la amígdala, el hipocampo y especialmente hacia las áreas de asociación de la neocorteza temporal basal. Los protocolos clínicos de muchos individuos en el estadio III o IV registran un deterioro de las funciones cognitivas y presencia de cambios sutiles de la personalidad. En otros individuos, la aparición de síntomas está todavía camuflada por capacidades de reserva del individuo, las cuales compensan la destrucción local. A causa de la

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

expresión ocasional de los síntomas iniciales y las lesiones cerebrales características, los casos de estadios III y IV, se considera que representan la EA incipiente.

Los estadios neocorticales finales muestran una gran cantidad de ONF y HN en cada subdivisión de la corteza cerebral. Una característica propia del estadio V es la destrucción extremadamente severa de las áreas asociativas neocorticales, dejando solamente poco o nada afectados a los campos motores primarios, las áreas sensoriales primarias y sus regiones circundantes.

Figura 40. Figura: Desarrollo de los cambios neurofibrilares desde el estadio I hasta el estadio VI en la formación hipocampal, regiones entorrinal y transentorrinal y la neocorteza temporal. U: Uncus; Pa: Parasubiculum; Pr: Presubiculum; S: Subiculum; RE: Región Entorrinal; RT: Región Transentorrinal; IT: Isocorteza Temporal; CA1: Primer Sector de la Callosidad del Cuerpo Ammon. (Modificado de Braak y cols., 1995).



Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

En el estadio VI, el proceso patológico se extiende a las áreas primarias. Los individuos caracterizados en los estadios V y VI de destrucción cerebral son todos dementes. Estos estadios corresponden a la EA completamente desarrollada. La secuencia y el patrón de destrucción son muy similares al progreso de mielinización cortical en el desarrollo inicial, pero en orden contrario.

3.3. Metodología del estudio inmunohistoquímico de la SP y el RNK1

Se recogieron una serie de biopsias de pacientes afectos de enfermedad de Alzheimer del banco de tejidos del Hospital Universitario Virgen del Rocío y Nodo Biobanco del Hospital Reina Sofía (Córdoba), solicitud gestionada por el Nodo Coordinador de Biobancos del Sistema Sanitario Público de Andalucía sito en Granda, con la colaboración del servicio de Anatomía Patológica (Hospital Universitario del Sureste. Arganda del Rey, Madrid). Solicitando a su vez autorización preceptiva del Comité de Bioética.

De estos pacientes se obtendrán datos clínicos y estadísticos de su enfermedad, y como controles se recogerán muestras de hipocampos, amígdala y corteza entorrinal de pacientes fallecidos por una causa distinta a patología cerebral.

Se realizará en ambos tejidos un estudio inmunohistoquímico para la SP y su RNK1, valorando la localización y distribución de ambos, y posteriormente se compararan los resultados del grupo control (no afecto de patología cerebral) con el grupo problema.

Se incluyen dos controles negativos, uno para Ac SP y otro para Ac RNK1 (2 muestras)

Casos:Procedentes del Nodo de Biobanco Sevilla: 7 casos (corteza entorrinal e hipocampo, van en mismo corte). Por protocolo de dicho Biobanco no se ha incluido la amígdala. Se determina la SP y el RNK1: 14 muestras.

Procedentes del Nodo de Biobanco Córdoba: 4 casos (cortes diferenciados de hipocampo anterior; hipocampo posterior juntos; y amígdala). Dado el elevado número de muestras, por dificultades técnicas hemos decidido eliminar las muestras de amígdala. Quedando 4 casos, de cada uno hay dos cortes. A cada corte se le mide SP y RNK1: total 16 muestras.

Controles: (procedentes del Biobanco Córdoba): de los 6 controles por las dificultades técnicas del laboratorio, analizamos solo 3. Al proceder del Nodo de Biobanco de Córdoba, es similar a los casos descritos previamente. Desechamos la muestra de amígdala, ya que no la teníamos en los casos procedentes del Biobanco de Sevilla. Analizando 3 casos, con dos cortes (hipocampo anterior y corteza entorrinal + hipocampo posterior), a los que hay que estudiar la SP y el RNK1. En total usamos 12 muestras.

En resumen, hemos analizado un total de (14+12+16+2 (control negativo)) 44 muestras.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Metodología de la inmunohistoquímica (IHQ):

Las muestras serán procesadas en un analizador automático de inmunohistoquímica *Autostainer de DAKO*.

- Para dicho estudio IHQ, Se emplearon los siguientes **anticuerpos**:
- Anticuerpo policlonal de conejo anti NK1 (Sigma-Aldrich, España: Referencia 58305 y Lote 083M4759 de 2014 de; 2 ml) Dilucion 1:1000
- Anticuerpo policlonal de conejo anti Sustancia P (Sigma-Aldrich, España: Referencia 51542 y Lote 030M4767 de 2014; 2 ml). Dilucion 1:2000

1.- Realización de cortes y preparación de muestras.

Las muestras fueron fijadas en formaldehído al 4% e incluidas en bloques de parafina según el protocolo habitual del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen del Rocío y Hospital Reina Sofía, respectivamente.

Se realizaron cortes de los tejidos entre 3-5 μ m con un microtomo y se montaron en portaobjetos destinados específicamente para inmunohistoquímica con el ancho adecuado para los instrumentos Autostainer, identificándolas mediante serie numerada.

EL procesamiento y tinción del tejido se realizó de forma automatizada y estandarizada DakoAutostainer Link analizador (Dako, España)

Y mediante Kit de inmunohistoquímica (Dako, España): EnVision™ FLEX, High pH, (link), comercializado.

Estas muestras de tejido parafinado se incubaron durante 24 horas en la estufa a 37°C y 30 minutos antes de la realización de la inmunohistoquímica a 60° C.

2.-Recuperación antigénica inducida por calor.

Se realiza con el sistema PT-link específico para la recuperación inducida por calor. Con esta técnica, se llevan a cabo la desparafinación y la rehidratación en el mismo paso de la recuperación antigénica.

Se realiza a pH ácido citrato low (6.5) diluída en agua destilada (1:10), durante 20 minutos a 96°C.

3.-Inhibición de la peroxidasa endógena

Tras este proceso, se introduce la gradilla con los portaobjetos en un tanque con una solución buffer de lavado (Tris) diluída (1:20) y a temperatura ambiente, durante 5 minutos. Con este procedimiento se evita la reacción de las peroxidasas endógenas con la diaminobencidina.

4.-Preparación de los reactivos.

Se preparan los reactivos en los botes para rellenar con reactivos que se introducirán posteriormente en el dispositivo RACK del sistema Autostainer Link. De todas las soluciones necesarias para la realización de la inmunohistoquímica, unas se pueden incorporar directamente al RACK pues ya vienen preparadas en el kit de inmunohistoquímica (peroxidasa, hematoxilina, EnVision™ FLEX / HRP y Linker de conejo).

Sin embargo, será necesario preparar en los botes, las siguientes soluciones:

- Sustrato buffer y cromógeno DAB+ (diaminobenzidina) en una proporción de 1 gota de cromógeno por cada 20 ml de sustrato.
- Anticuerpos policlonales primarios de conejo y diluyente: se prepararán tres botellas para las distintas soluciones: una solución de diluyente comercial Dako, una solución de anticuerpo anti SP y diluyente en proporción 1:1000, y una solución de anti-NK1R y diluyente en proporción 1:1000.

La preparación de la cantidad de solución a introducir en los botes para rellenar, ha de ser calculada según protocolo del sistema Autostainer Link.

5.-Procedimiento automatizado de tinción inmunohistoquímica en instrumento Autostainer Link.

Se producirán de forma automática los procesos de incubación de los cortes en antisuero primario específico para cada anticuerpo (25 minutos), la incubación en anticuerpo secundario (15 minutos) marcado con peroxidasa y la incubación con diaminobencidina (10 minutos).

Los pasos de tinción y los tiempos de incubación óptimos recomendados son preprogramados en el software del sistema.

En el caso del número de portaobjetos de nuestro estudio, se requirió un tiempo de tres horas de procesamiento.

6.-Deshidratación del tejido

Una vez completado el procedimiento de tinción, se han de montar las muestras.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Se llevan las muestras a agua destilada, se realizará la deshidratación de las muestras mediante el paso de los portaobjetos por la batería de alcoholes en el siguiente orden: 60 % (30 segundos), 70 % (30 segundos), 80 % (30 segundos), 90 % (5 minutos), 96 % (5 minutos), 100 % (5 minutos).

Finalmente se pasan las tres muestras por las tres cubetas de xiloles, para eliminar el alcohol: de forma rápida en las dos primeras (hasta que los cristales dejen de “lagrimear”) y en la tercera, el tiempo necesario hasta el montaje con el pegamento.

7. Montaje.

A cada cristal recién sacado y escurrido del xilol se le añade un cubre con unas gotas de pegamento Pertex. La reacción del xilol y el pegamento hace que se unan ambos materiales. Se eliminan las burbujas que se forman durante el montaje. Una vez secado, las muestras están preparadas para la visualización del resultado con el microscopio óptico.

8. Control de calidad

En las muestras de control negativo de cada caso incluidas, se siguió el mismo procedimiento que en los demás casos, excepto la exposición al primer anticuerpo, lo cual fue obviado. Se utilizó un caso de control positivo con una muestra de neuroblastoma (Muñoz et al 2007).

4. RESULTADOS

Hemos analizado 11 muestras de cerebro de pacientes fallecidos con EA y 2 controles sanos. Las muestras han sido cedidas por el Biobanco del Sistema Público de Andalucía, las hemos dividido según su procedencia: Nodo Biobanco de Sevilla y del Nodo de Córdoba. Se les ha realizado inmunohistoquímica con Anticuerpos de SP y de RNK1, para identificar su localización en hipocampo y corteza entorrinal.

Datos clínicos de los pacientes y controles de los que se ha podido tener acceso a través del Biobanco: Edad, sexo y el Estadio de EA según clasificación Cerad o Braak and Braak.

Casos procedentes del Biobanco de Sevilla:

Caso 1: varón 68 años, EA definitiva (CERAD); estadio IV-V Braak

Caso 2: varón de 75 años, EA Definitiva (CERAD); estadio IV-V Braak

Caso 3: varón 93 años, EA definitiva, C3 (CERAD); estadio VI Braak

Caso 4: mujer 65 años, EA definitiva (CERAD); estadio VI Braak

Caso 5: varón 83 años, EA definitiva (CERAD); estadio IV-V Braak

Caso: Desestimado por no cumplir criterios EA

Caso: mujer 69 años, EA definitiva (CERAD); estadio III- IV Braak. Desestimada por problemas técnicos en la inmunohistoquímica.

Caso: mujer 79 años, EA posible (CERAD); estadio I-II Braak. . Desestimada por problemas técnicos en la inmunohistoquímica.

Casos procedentes del Biobanco de Córdoba:

Caso 6: varón 74 años, estadio V Braak

Caso 7: varón 77 años, estadio IV-V Braak

Caso 8: varón 77 años, estadio III Braak

Caso 9: mujer 85 años, estadio VI Braak

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Control 1: varón 66 años

Control 2: varón 54 años

Control 3: varón 85 años

Control 4: varón 64 años

Control 5: varón de 15 días, desestimado por edad

Control 6: varón con angiopatía, patología cerebral, desestimado por ello.

La edad media de los casos 77.44 años. Siendo 7 varones y 2 mujeres.

La edad media de los controles fue de 67,25 años, siendo todos varones.

Los estadios de Braak and Braak que presentaban eran uno en estadio III; 4 en estadio IV-V; 3 en estadio V; y 1 en estadio VI.

RESULTADOS DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA.

Previamente a describir los resultados, revisamos nociones básicas sobre el hipocampo, para su más fácil comprensión.

Anexo: Hipocampo

El Hipocampo es la zona más representativa de la parte filogenéticamente más antigua del Telencéfalo: el Archicórtex. Hoy en día está ampliamente aceptado que el Hipocampo juega un papel importante en la memoria y en la orientación espacial.

Anatómicamente el Hipocampo se divide en dos grandes zonas:

- el Asta de Ammón (Cornu Ammonis) y
- el Giro dentado (Fascia dentata).

En primates (incluidos los humanos) ambas zonas tienen forma de "C" y ambas zonas se imbrican (una dentro de la otra) lo que le da una forma que recuerda un caballo de mar, de ahí su nombre. En otros mamíferos (como la rata) ambas zonas mantienen la forma imbricada aunque no presentan un perfil de "C".

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

A su vez el Asta de Ammón se divide en cuatro subregiones que se conocen como CA I, CA II, CA III y CA IV (CA= Cornu Ammonis) siendo la CA IV la que se imbrica con la Fascia dentada y la CA I la más lejana a esta.

Figura 41. Anatomía del Hipocampo

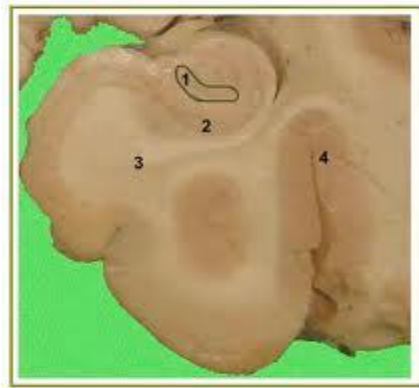
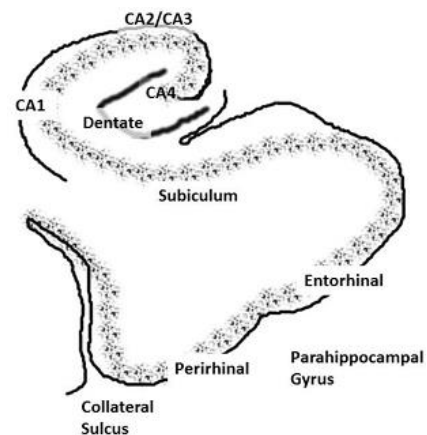


IMAGEN DEL HIPOCAMPO DONDE SE DESTACA: 1 GIRO DENTADO, 2. SUBICULUM, 3. CORTEZA ENTORRINAL, 4. SURCO COLATERAL.



Tanto el Asta de Ammón como la Fascia dentada presentan una estructura en tres capas:

- Capa molecular (Stratum oriens)
- Capa de somas neuronales (Capa piramidal en el Asta de Ammón y Capa granular en la Fascia dentada).
- Capa polimórfica

En el Asta de Ammón habría que incluir una cuarta capa, el Alveus, que se correspondería con la sustancia blanca. Con la técnica de Golgi se aprecia que hay dos tipos neuronales mayoritarios en el Hipocampo:

- **Neuronas piramidales en el Asta de Ammón.** Neuronas con un soma piramidal del que parten una dendrita apical que se puede ramificar profusamente en la capa molecular y varias dendritas que emergen del polo basal. El axón parte del polo basal y se dirige al Alveus al que se incorpora para salir del Hipocampo.
- **Neuronas granulares en la Fascia dentada.** Estas neuronas también se conocen como células en cesto ya que todas sus dendritas parten del polo apical dando un aspecto de canasta a su árbol dendrítico que se encuentra en la capa molecular. El axón parte

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

del polo apical y se dirige hacia el Asta de Ammón donde establece contactos sinápticos con las dendritas de las células piramidales

Resultados

Describimos los resultados de los 8 casos procedentes del Biobanco de Sevilla, ya que se han perdido 3 casos, uno por no cumplir criterios de EA; y los otros dos por alteraciones tras la tinción inmunohistoquímica. Así mismo de los 6 controles procedentes del Biobanco de Córdoba se han desestimado dos, uno por pertenecer a un recién nacido de 15 días y el otro por tener patología cerebral avanzada (angiopatía).

Resultados Casos

Abreviaturas: CD: cirunvolución o giro dentado; SB: Sububiculum; CE corteza entorrinal; E: Epéndimo; Ast astrocitos; SE: astrocitos subependimarios; AS: astrocitos subependimarias; End: endotelio; CM capa muscular; SB subículum; Int intensidad (1. Leve; 2. Moderada; 3 marcada o elevada).

Procedencia de las Biopsias del Biobanco de Sevilla (1-5); Biobanco de Córdoba (6-9); Controles todos de Córdoba.

Biopsia.1.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: en CD 80% con Intensidad leve; CA3 50% con Int leve; astrocitos 10% con Int leve; CA2 y 4: 4% con Int leve; SB 10% con int leve y depósitos granulares extracelulares; CE 10% con int leve; AS 50% con int moderada; End 20% con intensidad moderada; capa muscular 20 % con int moderada.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo

- SP: Marcaje a nivel Citoplasma: abundante y de int marcada identificándose 100% en todas las ubicaciones estudiadas (CD, CA4, CA2, SB, CE, E), salvo en vasos, en los que se objetivan en CM 50 y en End 70%.

Marcaje a nivel Núcleo: Depósito granular, identificándose 50% de intensidad moderada y otros 50% de int marcada, en todas las localizaciones estudiadas, salvo en vasos, al igual que en citoplasma, objetivándose en CM 40% y en End 20%.

Biopsia 2.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil, se identifican 5 en CA4, CA3,CA1; 2% en SB, CEy E; 10% en astr SE y en vasos (end y CM) también 10%.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

en CD 80% c con Intensidad leve; CA3 50% con Int leve; astrocitos 10% con Int leve; CA2 4% con Int leve; SB 10% con int leve y depósitos granulares extracelulares; CE 10% con int leve; AS 50% con int moderada; End 20% con intensidad moderada; capa muscular 20% con int moderada.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

- SP: Similar al previo

Biopsia 3.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: En CD se objetiva 10 con tinción de int débil y 25 moderada; en CA4 40 int débil y 25 mod; en CA3 20 int débil y 50 int moderada, con depósitos granulares; CA2 20 int débil y 50 de int moderada; CA1 30 moderadas y 40 intensos o muy marcada, objetivándose también astrocitos a este nivel unos 30 con intensidad moderada; En CE 30 débil y 10 moderada, junto con astrocitos 10 débiles y 40 moderada; y E 80 con int moderada

Marcaje en Núcleo: existe marcaje a del Núcleo del Epéndimo unos 30% con intensidad moderada. Resto marcaje débil 20%.

- SP: Similar al previo

Biopsia 4.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad moderada , se identifican 10 en CD; CA4 y CA3 60 de int débil ambos, CA1 30 débil y 10 moderada, con astrocitos con tinción intensa en 70; en SB 10 débil con astocitos en los que se identifica 70 con int marcada, CE 20 débil y astrocitos 60 con int marcada; E 10 débil y 20 moderada; en vasos (end 30 moderada y CM 40 moderada.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo

- SP: Similar al previo

Biopsia 5.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil, se identifican 10% en CD; 40% débil en CA4; CA3 40% débil y CA2 20% débil; CA1 60% débil y atrocitos unos 30% con intensidad moderada; en SB 60% con int débil y astrocitos 30% moderada; CE 60% débil y 10% moderada, y AS 10% débil; y en vasos end 30% moderada y CM 10% de intensidad moderada. Se objetivan Plexos coroideos: End 60% moderada y CM 50% moderada.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

- SP: Similar al previo CA4, CA3 y CA1: depósito débil granular en membrana nuclear

Córdoba:

Biopsia 6.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad moderada y débil en el citoplasma. Se identifican 10% en CD; CA4 30%; CA3 60% de int débil ambos, CA1 40% débil y 10% moderada; en SB 40% débil; CE 40% débil y 10% moderada.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

- SP: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad muy marcada identificándose 100 en todas las estructuras estudiadas, salvo en vasos: en end 60% moderada y CM 50% moderada.

Marcaje en Núcleo: se identifican el 50% con marcaje a del Núcleo intenso y otro 50% con intensidad moderada en todas las estructuras estudiadas, salvo en vasos, objetivándose 40% moderada en endotelio y 20% moderada en capa muscular.

Biopsia 7.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil en todas las estructuras estudiadas. Se identifican 5% en CD; CA4 y CA3 50% en ambos; en CA2 y CA1 40% en ambos; y en CE 30% también de intensidad leve.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

- SP: Similar al previo

Biopsia 8.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil, se identifican todas las que se detallan a continuación. No se identifican células teñidas en CD, niCA3, ni CA2

Objetivándose tinción citoplasmática débil en CA4 (20), CA1 (10); 20 en SB y 30 en CE.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

- SP: Similar al previo

Biopsia 9.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil, se identifican 5% en CD; CA4, y CA3: 60% débil; CA2 50% débil y 10% moderada; CA1 20% débil y 10% moderado; en SB 20%

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

débil y astrocitos 30% débil, junto con depósitos extracelulares, CE 30% débil y E no se identifican células.

Marcaje en Núcleo: marcaje débil 20% en el Núcleo.

- SP: Similar al previo

Resultados Controles

Control 1.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil del citoplasma, no se identifican células en CD, ni CA3, ni CA2; en CA1 10%; en CA4 10% de int débil; en SB y CE 5% respectivamente; ninguno en E.

Marcaje en Núcleo: no existe marcaje a del Núcleo

- SP: El citoplasma se tiñe el 100% en las diferentes estructuras estudiadas con int. Marcada. En núcleo es menor, en CD nada, CA3 y 4 60% débil y 20% moderada; CA2 60% débil y 10% moderada. En SB y CE 40% débil y otro 40% de intensidad moderada; E 30% débil y 50% moderada.

Control 2.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil del citoplasma. Se identifican células en CD 5% débil, CA4 10%, CA3 5% débil, CA2 y CA1 20% en ambas de forma débil; en CE 30%, E no se observan células, si astrocitos SE 30% de tinción moderada; Plexos coroideos: 30% débil y 40% moderada; Vasos E 20% débil y CM 40% moderada.

Marcaje en Núcleo: no existe marcaje a del Núcleo

- SP: similar al previo, ligeramente menor.

Control 3.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil-moderada del citoplasma. Se identifican 5% células en CD, CA4 2% débiles; no hay CA3; en CA1 30% débil; en SB 10% débil, con astrocitos SE 30% moderados; y CE 10% débil; ninguno en E; se identifican 20% astrocitos SE de intensidad moderada. Existe granulaciones extracelulares a nivel del subículo.

Marcaje en Núcleo: no existe marcaje a del Núcleo

- SP: similar al previo, ligeramente menor.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Control 4.:

- RNK1: Marcaje en Citoplasma: Tinción de intensidad débil del citoplasma. Se identifican 5 células en CD; CA4, CA3 y CA2 ninguna; en SB 20% débil, y astrocitos 30% de intensidad moderada; CE 30%; ninguno en E; Astrocitos SE 20% de intensidad moderada.

Marcaje en Núcleo: no existe marcaje a del Núcleo

- SP: similar al previo, ligeramente menor.

Microglía medido a parte la presencia de glía en nuestras muestras , con los siguientes resultados:

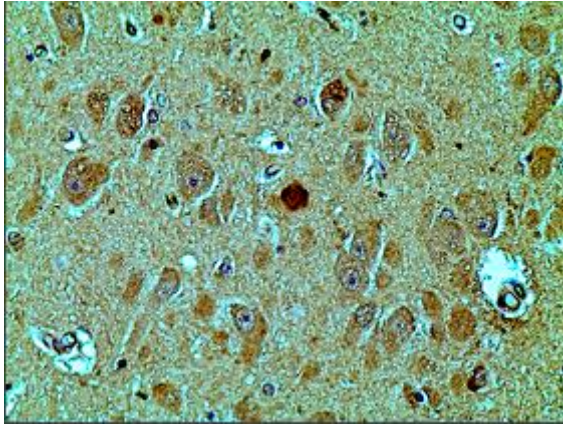
Casos: En sustancia blanca, los núcleos están marcados un 70% con intensidad elevada; en Neuropilo está marcado el 100% con intensidad elevada; en Hipocampo: CA4, CA1,CA2, CA3: núcleos con depósito granular grande que tiñe el 50% con intensidad moderada; SB 70% con intensidad modera-elevada.

Controles: En sustancia blanca, los núcleos están marcados un 20% con intensidad leve-moderada. En hipocampo: CA4, CA3, CA2, CA1 el núcleo está marcado en 10% con intensidad leve, y 10% moderada; SB y E 20% intensidad moderada.

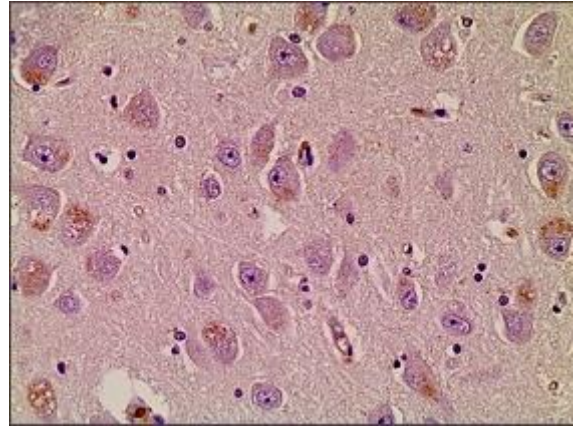
Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Resultados Inmunohistoquímicos en imágenes

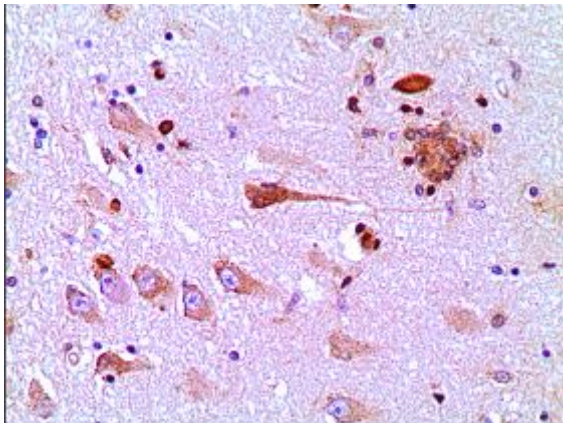
CASOS



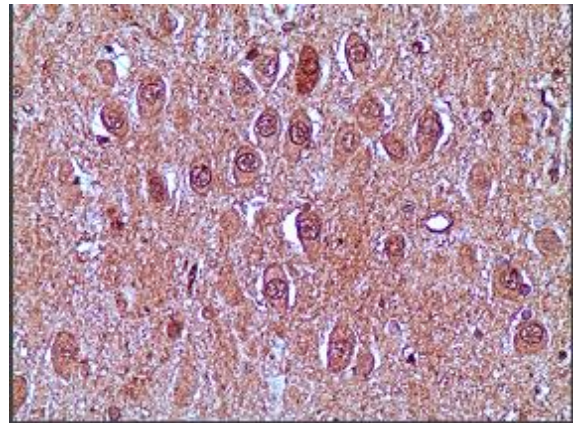
SP Hipoc CA1 x200(int 3, 100% Citoplasma y depósito granular en Núcleo) y núcleo e glía



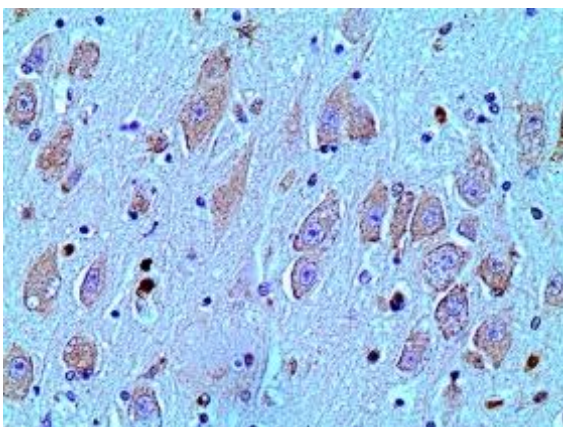
RNK1 Hip CA4 x200 (int 1)



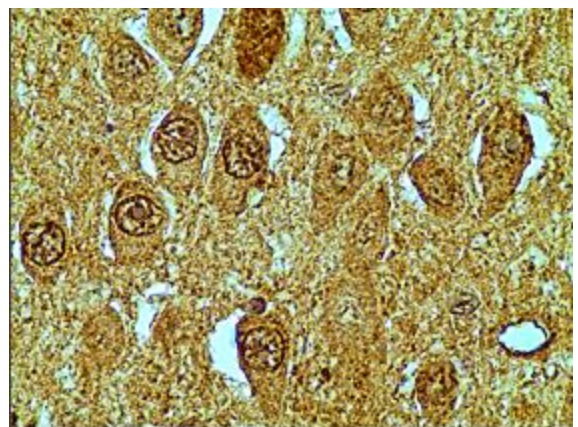
RNK1CA4 x200 (int 1)



SP HipocCA2 x200 (int 3,100%Cit, Dép granular)

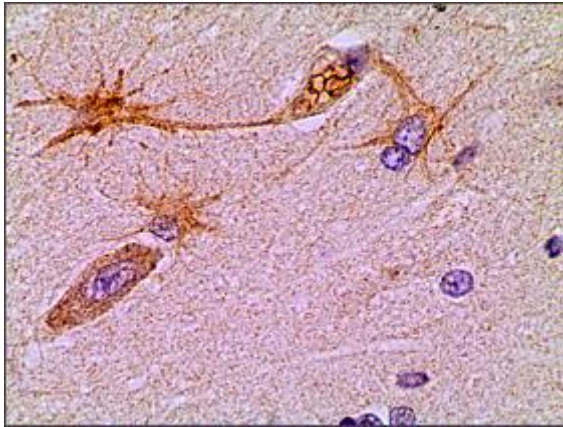


RNK1 CA1x20 int 2 nuclear Neurona, glía en Núcleo) (3)

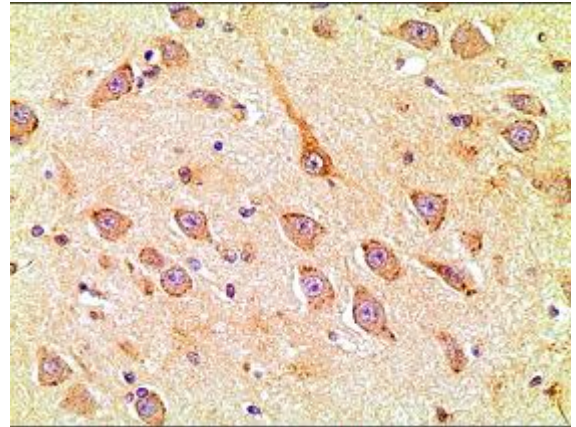


SP HipocCA2 x400 (int 3,100%Cit, Dép granular en Núcleo) (4)

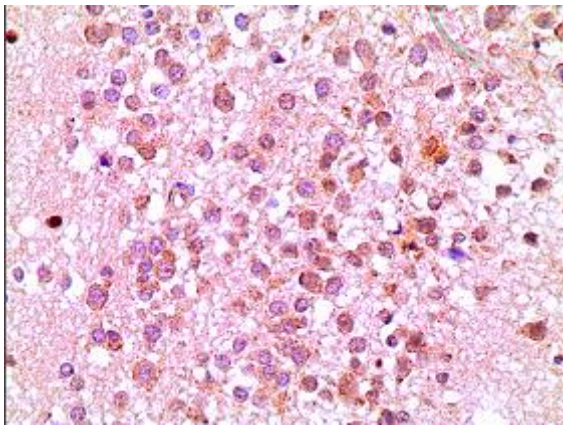
Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin



6. *RNK1 CA1x400 (int 2-3) (12S)*



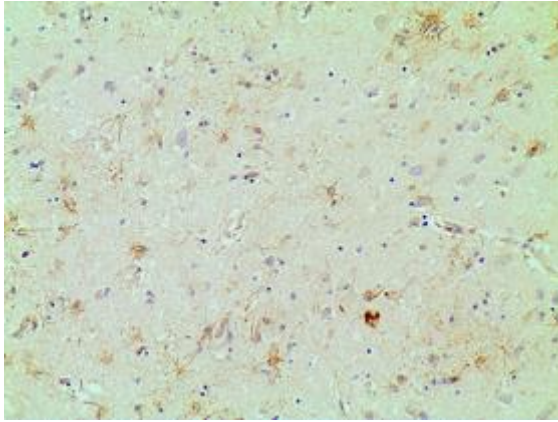
7 *RNK1 CA3 x200 (13S) int 2, granular en membrana, nuclear y citoplasmático neuronal, nuclear glial*



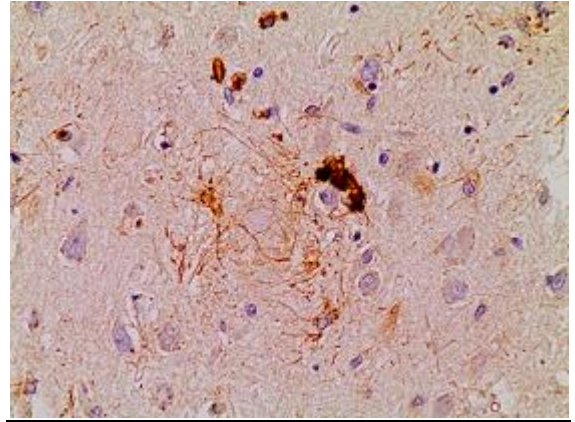
8. *RNK1 CDentada capa granular x200 int 2 (18S)*

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

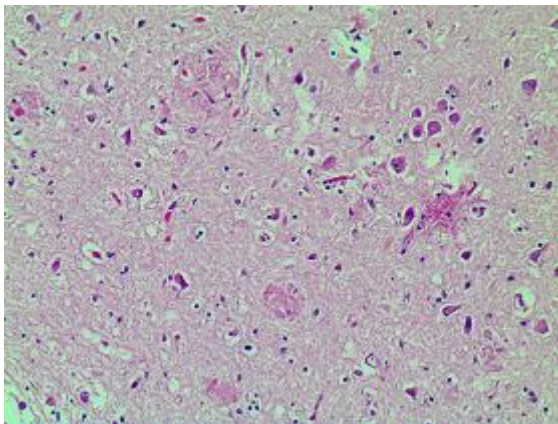
Caso avanzado con hiperreactividad glial y elevación de SP y RNK1 alrededor de la placa senil



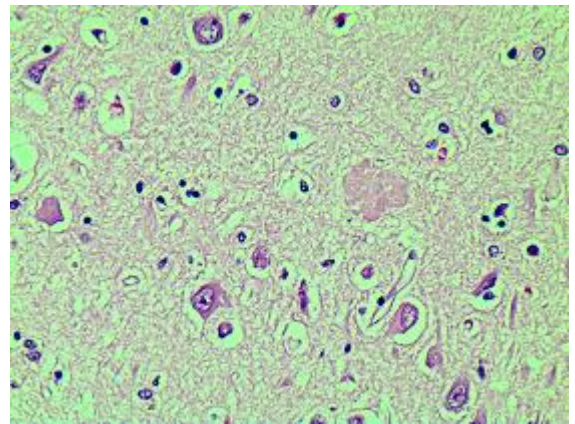
RNK1 CA1x100 int 160%. Astrocitos reactivos en torno a una placa senil, con neuritas rotas (33) Caso avanzado Braak VI



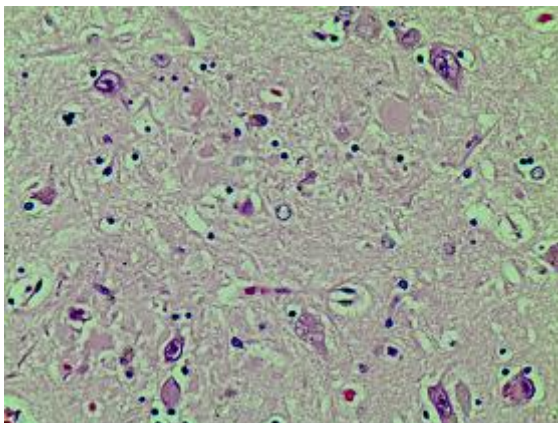
10. RNK1 CA1 x200 maraña de neurita rota en torno a una placa senil (34) Caso avanzado Braak VI



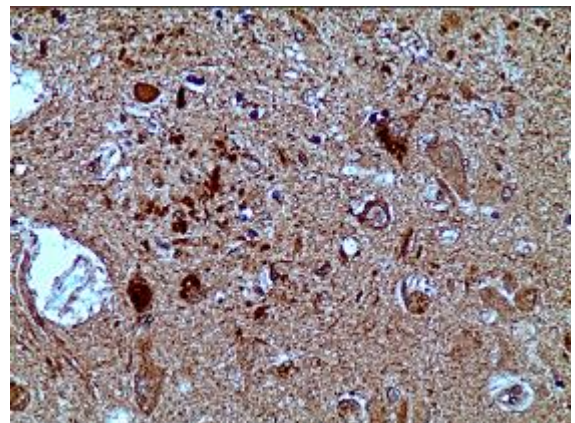
RNK1 CA1x100.H-E Placas seniles (27)



RNK1 CA1x200.H-E Placas seniles (28)

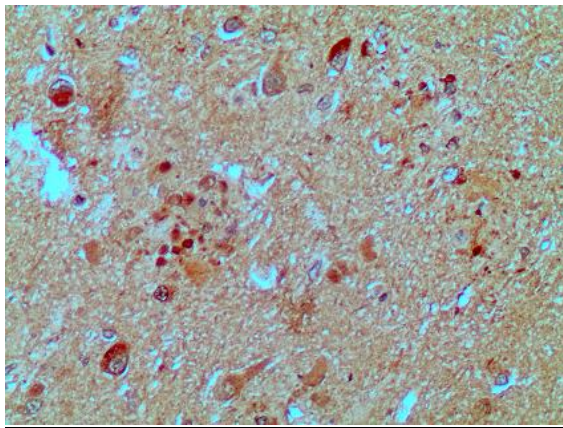


SP CA1 x200 Hematoxilina-eosina Placas seniles (11)



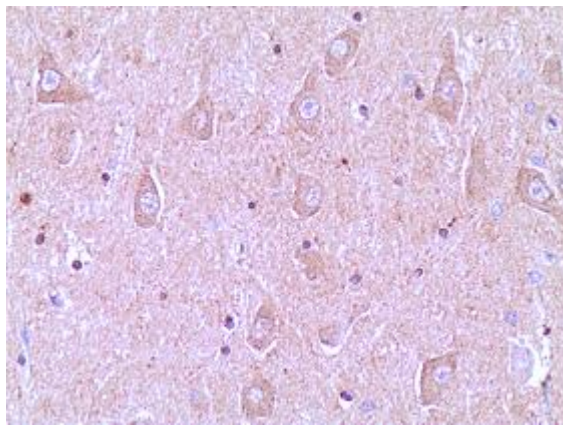
SP CA1x200 IHQ, placas seniles con glía y SP alrededor (12) y Neurona gránulovacuolar

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

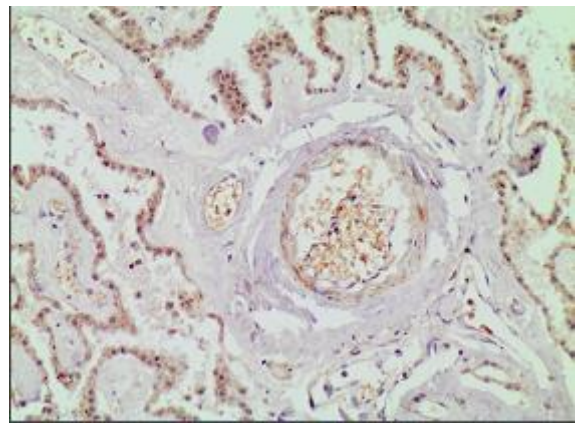


SP en Placas seniles x200 (H-E)

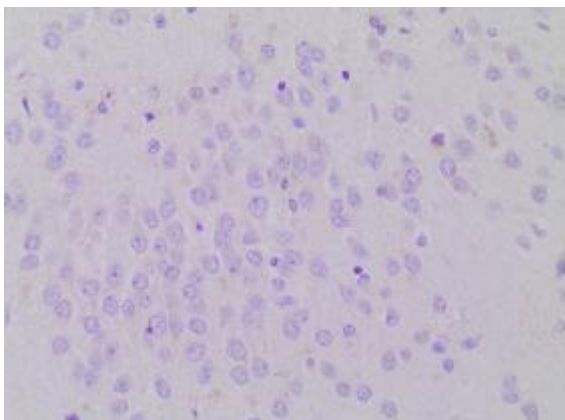
CONTROLES



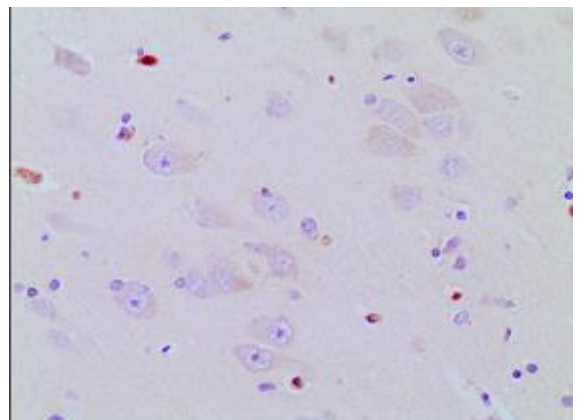
SP Control CA4 x200(Cit 100% int 3, no en Núcleo)(8)



RNK1 control Plexo coroideo x100, int 3 Citoplasma (9)

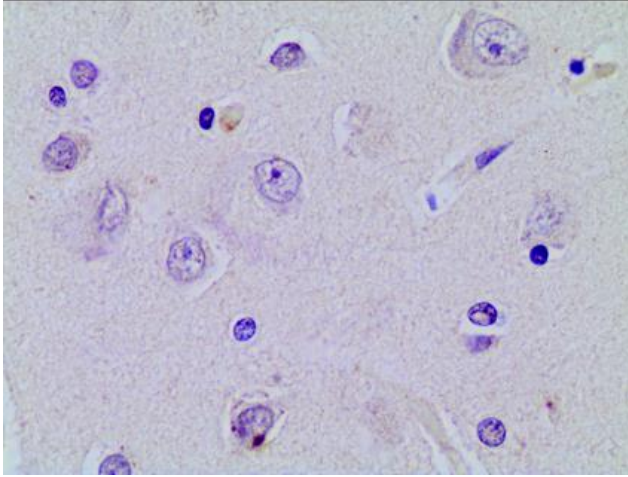


RNK1 control x 100 Circunvolución dentada, con int 0



RNK1 control x 200 Circunvolución dentada, con int 0

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin



RNK1 control x 400 Circunvolución dentada, con int 0

Resumen de resultados inmunohistoquímicos

Nos ha resultado llamativa la inmunotinción muy intensa de SP y muy débil para RNK1 en general, que consideramos que puede estar debido a la proporción de las diluciones que hemos utilizado, siendo SP 1/2000, y para RNK1 1/1000.

Hemos identificado la Inmunolocalización de la SP y su receptor RNK1 en nuestros casos de EA y en los controles.

Descripción de casos: La SP en los casos de EA: se ha objetivado la presencia de SP con intensidad elevada tanto en el citoplasma como en el núcleo.

Su receptor RNK1: se identifica en citoplasma y débilmente en el núcleo de las neuronas.

Descripción de los controles: SP se identifica en 100% de los citoplasmas con intensidad elevada, pero menor en el núcleo, con una media del 38.75% de intensidad leve-moderada.

RNK1 se identifica en citoplasma en 22.72% con intensidad leve (control 2); no se objetiva en el núcleo, en ninguno de los controles.

Esto sugiere la implicación del sistema SP/RNK1 en la EA.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

En la microglía: En sustancia blanca, los núcleos están marcados un 70% con intensidad elevada; en Neuropilo está marcado el 100% con intensidad elevada; en núcleo de células de hipocampo 54% con intensidad moderada-elevada

La microglía en los Controles: En sustancia blanca, los núcleos están marcados un 20% con intensidad leve-moderada. En hipocampo: el núcleo está marcado en 12,8% de media con intensidad leve. Esto sugiere la implicación de la microglía en la EA.

5. DISCUSIÓN

1. **Neuropatología y EA**
2. **La Neuroinflamación en la patogénesis de la EA**
 - a. Microglía y EA
 - b. Implicación de la SP /RNK1 en Neuroinflamación ¿¿??
3. **Implicación de la SP/RNK1 en la Neurodegeneración de la EA**
 - a. Neurodegeneración
 - b. SP aumenta niveles de glutamato en el hipocampo
 - c. Efectos de la expresión de SP en la EA asociada a muerte neuronal
 - d. SP regula la expresión del gen promotor de muerte neuronal (mediada por Kainato)
4. **Resultados Inmunohistoquímicos de SP/RNK1 en la EA**
 - a. SP/RNK1 en Neoangiogénesis
 - b. SP/RNK1 en Estrés y alteraciones de la conducta afectiva en EA
5. **Relación entre el complejo SP/RNK1 y posibles implicaciones terapéuticas para la EA**

La EA es un problema importante de salud debido a que a pesar de los avances en medicina continúa presentando alta prevalencia y morbi-mortalidad. Es un proceso neurodegenerativo, lento y progresivo, clínicamente caracterizado por un paulatino deterioro de las funciones cognitivas e intelectuales (Cummings J, 2000). A lo que se asocian alteraciones psiquiátricas como alucinaciones, cuadros depresivos, psicóticos, denominados síntomas conductuales y psicológicos asociados a la demencia (SPCD), que determinan el declinar del paciente y la sobrecarga en los cuidadores y la sociedad. La EA es, por ser la más común, el paradigma de los procesos neurodegenerativos que se relacionan con el envejecimiento.

1. Neuropatología y EA

La EA es una demencia que primero se manifiesta en el lóbulo temporal, en la zona del giro dentado del hipocampo, lo que se ha relacionado con problemas de memoria a corto plazo; posteriormente afecta al lóbulo parietal afectando a procesos de visualización espacial o a pérdida del conocimiento de hábitos y usos; y finalmente al lóbulo frontal, que puede dar lugar

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

a problemas de comportamiento (Wilhelmsen, 1999). Entre otras consecuencias, se produce muerte neuronal en estas zonas del cerebro.

En la EA se observa una pérdida selectiva de neuronas en el hipocampo y la corteza. Los cerebros de los pacientes con EA muestran dos lesiones características: las placas seniles (PS), o de A β , PS con o sin signos inflamatorios, que son extracelulares, y los ovillos neurofibrilares (ONF), formados por proteína Tau hiperfosforilada, intracelulares.

Se postulan múltiples mecanismos fisiopatológicos para explicar el deterioro cognitivo: la toxicidad del A β , disfunción colinérgica, alteraciones de Tau, daño oxidativo, disfunción sináptica e inflamación secundaria a las placas. Otro planteamiento es que la inflamación y el estrés celular asociados al envejecimiento participan en el desarrollo de la EA, cuyo evento patogénico central involucraría una disfunción glial. (Von Bernhardi, 2005)

La pregunta clave es si las PS y los ONF efectivamente causan la EA o corresponden al resultado de eventos patológicos más tempranos. De hecho, en los individuos con EA, la correlación entre la densidad de PS de A β y la severidad de la enfermedad es pobre. Por otro lado, si bien la aparición de los ONF muestra una correlación buena con el deterioro cognitivo, parece ser un evento más tardío. (Von Bernhardi. 2005).

Sin embargo, aunque una sobreproducción A β tiene un efecto negativo sobre las células nerviosas, bajas concentraciones pueden potenciar a largo plazo el hipocampo y mejorar la memoria (Sun X et al, 2012). Los niveles de A β elevado induce a depósitos; los niveles de A β bajo, protege (Reynaldo G et al, 2008).

El hipocampo está involucrado en muchos procesos funcionales que incluyen la regulación de las emociones y aprendizaje y la memoria (Eichenbaum H, 2000; Engin E, 2000). Además, después de daños en el hipocampo, en estudios con ratas se ha observado que se pueden producir alteraciones fisicoquímicas, propias de fases iniciales de demencia (Krugel U et al, 2001) y los defectos en el aprendizaje y la memoria objetivados en dichos animales (Alberini CM, 1999; Devan DB et al, 1999).

Las neuronas colinérgicas que expresan receptores de la SP (RNK1) (Liang-Wei Ch et al, 2001).

La mayoría de la SP presente en el hipocampo es de origen extrahipocampal, y se deriva del núcleo supramamilar. A través de las proyecciones supramamilares-hipocampales se libera la SP en la capa granular del giro dentado y en la capa de células piramidales de las regiones CA2 y CA3 del hipocampo (Kinga Toth et al 2007).

La SP excita las neuronas GABAérgicas en la amígdala central de ratón a través de la activación del receptor de neuroquinina 1 (Sosulina L et al, 2015)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Los RNK1 se encuentran en las áreas del sistema nervioso central implicados en las enfermedades neurodegenerativas, como la EA, EP, la esclerosis múltiple, la esclerosis lateral amiotrófica y la Corea de Huntington. La administración de SP/NKA en la sustancia negra y sistema nigroestriado, aumenta la dopamina estriatal y la liberación de glutamato, en cambio, esta liberación puede ser bloqueada por antagonistas del RNK1 (Reid MS et al. 1990a, 1990b).

Los diagnósticos neuropatológicos están limitados porque se han encontrado placas (PS) y ovillos (ONF) en personas sin demencia, no hay una correlación directa entre la gravedad de las lesiones y la gravedad clínica presentada por los pacientes, y es difícil valorar la influencia de la patología vascular y establecer el momento de aparición del deterioro clínico y las lesiones en el tejido cerebral. Se estima que el 30% de las personas cognitivamente normales tienen patología tipo Alzheimer y una parte de ellos llegan a cumplir criterios neuropatológicos de EA sin haber mostrado síntomas de ésta. La presencia de neuropatología tipo Alzheimer en el cerebro de sujetos sin enfermedad llevó a la demostración de la brecha existente entre la aparición de las primeras lesiones en el tejido cerebral y el inicio sintomático, es decir, que existe patología tipo Alzheimer en ausencia de demencia durante una serie de años, un periodo que puede definirse como un estadio preclínico.

Numerosas evidencias científicas muestran que existe un periodo de latencia comprendido entre el inicio tras un insulto/agresión cerebral y la cronificación. (Blanco B, 2012). La actuación precoz en dicho periodo proporciona la oportunidad de aplicar terapias efectivas que puedan modificar la historia natural de la enfermedad. El concepto de neuroprotección abarca mecanismos de reparación y autoprotección que prevengan tanto el desarrollo de eventos críticos como déficits cognitivos posteriores.

El diagnóstico de la EA en estadio preclínico es posible mediante el empleo de biomarcadores. Los biomarcadores se detectan en momentos diferentes del proceso fisiopatológico de la enfermedad y señalan hitos sucesivos en su progresión. En un primer momento pueden encontrarse sólo biomarcadores de acúmulo de amiloide en el cerebro, y sucesivamente aparecer biomarcadores de disfunción sináptica (daño funcional) y luego biomarcadores de pérdida neuronal (daño estructural).(López-Álvarez et al, 2015).

2. La Neuroinflamación en la patogénesis de la EA

a. Microglía y EA

Las células microgliales, que desarrollan funciones inmunes en el cerebro, también pueden sufrir un proceso de activación tras lesión o enfermedad (Davis EJ et al, 1994; Graeber B et al, 1990). Aunque esta activación está orientada inicialmente a contrarrestar el daño tisular, las células de microglía activa pueden excederse en sus funciones y acabar induciendo un proceso patológico (Colton CA et al, 1996; Streir WJ et al, 1999). Así, las microglías activadas no sólo cambian su morfología, sino que, además, comienzan a secretar factores de crecimiento y

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

citocinas; aunque estas sustancias están programadas inicialmente para restaurar la homeostasis del tejido y desencadenar la respuesta inmune más adecuada, pueden llegar a activar cascadas metabólicas de muerte celular mediante distintos mecanismos, entre los que se encuentra la producción de radicales libres (Zielasek J et al, 1996; Tamatani M et al, 1998). Los estudios realizados por nuestro grupo sobre esta población glial, que cuantificamos en corteza junto a oligodendrocitos, indicaron que, a diferencia de los astrocitos, estas células no presentan hiperplasia durante el envejecimiento fisiológico, aunque sí detectamos un aumento de las mismas en individuos con lesiones traumáticas (Peinado MA et al, 1998b). El papel dual como agentes neuroprotectores y neurotóxicos de las células gliales permite entender la presencia de células de microglía y astrocitos junto a los depósitos de Ab en las placas seniles de los enfermos de Alzheimer (Unger JW et al, 1998). Los pericitos del cerebro, células de localización perivascular, Estudios ultraestructurales demuestran que las láminas basales de los capilares se hacen más gruesas y, entre éstas y el endotelio, donde se localizan los pericitos, se observan abundantes zonas de degeneración microvacuolar no presentes en individuos jóvenes (Peinado MA et al, 1998b). Los pericitos forman parte de la barrera hematoencefálica y junto a astrocitos y microglía perivascular son responsables del mantenimiento de la homeostasis local (Mato M et al, 1996).

La EA y la enfermedad de Parkinson (EP) son también las enfermedades inflamatorias del cerebro, que se caracterizan por el desequilibrio "estado redox" y la inflamación crónica, una causa principal de daño y muerte celular. Varios estudios han demostrado que las células cerebrales como microglía y astrocitos inducen y liberan diversos mediadores inflamatorios en la respuesta al estrés oxidativo (Chiurchiu V and MacCarrone M, 2011; S. Fuller et al 2010). Un aumento del número de células microgliales activadas pueden tener un nocivo efecto sobre las neuronas dopaminérgicas en la EP (H. L. Hsieh and C. M. Yang, 2013). La placa senil y neurítica de la EA se acompaña por respuestas inflamatorias en las células gliales activadas. La microglia activada produce varios mediadores inflamatorios incluyendo la COX-2 / prostaglandinas (PGs), iNOS / óxido nítrico (NO), o citoquinas, así como sustancias neurotóxicas, que se cree que son responsables de las lesiones cerebrales y enfermedades incluyendo EA y la muerte neuronal debido a la exposición de LPS, interferón- γ o A β (H. L. Hsieh and C. M. Yang, 2013). Por lo tanto, microglia y astrocitos desempeñan un papel importante en EA y EP.

En la patogénesis de la EA, tiene gran importancia la hipótesis de la disfunción glial. Varios eventos fisiopatológicos contribuyen a la neurodegeneración en la EA. La inflamación, ya sea secundaria al envejecimiento, a diversos estímulos o lesión, pueden ser responsables de la activación glial anormal, que se acompaña de un aumento de la producción de A β y disfunción neuronal. En las etapas finales de la vida, está también directa o indirectamente implicada en la inducción de la neurodegeneración. De la activación glial resulta la liberación de varias citoquinas y la generación de especies reactivas, que contribuyen al proceso inflamatorio. El aumento de la expresión de los resultados de A β en más neuroinflamación, perpetuando la activación glial, la disfunción sináptica y el daño celular. Los mediadores inflamatorios, procesos neurodegenerativos y el efecto trófico propuesto de la APP y A β también podría

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

afectar la función y regulación neuronal, lo que resulta en la alteración cognitiva y perjudica su capacidad de modulación de la activación glial (Von Bernhardi, 2007).

Sin embargo, los déficits cognitivos y la alteración de la función sináptica, son consecuencia del aumento de la concentración de citoquinas inflamatorias, tales como IL-1 β (Murray y Lynch, 1998).

La hipótesis inflamatoria en la EA hace hincapié en que la microglía hiperactiva es la causa primaria de la neurotoxicidad asociada a la EA. Por el contrario, Von Bernhardi R, propone que la EA no es causada por una microglía hiperactiva sino más bien disfuncional. Las células microgliales activas son necesarias para eliminar las células en el SNC. Sin embargo, al no responder a los mecanismos normales de retroalimentación de regulación y / o tiene un impedimento en su capacidad para limpiar A β (Paresce et al., 1997), las células microgliales pierden su capacidad de manejar los compuestos potencialmente tóxicos y se convierten en citotóxico debido a la activación inflamatoria persistente. Otros cambios relevantes en la EA también podrían depender del envejecimiento. El estrés oxidativo y la generación de radicales libres promueven procesamiento amiloidogénico de APP. La hipoxia transitoria puede llevar a una disfunción mitocondrial, lo que resulta en el estrés oxidativo, el deterioro de integridad de la membrana y acción amiloidogénica (Chen et al., 2003). Con el tiempo, la activación crónica o múltiple de la microglía y los astrocitos se convertirían neurotóxicos por la liberación de citoquinas inflamatorias, enzimas proteolíticas, factores del complemento e intermediarios reactivos. Existe abundante evidencia el que apoya la hipótesis de la desregulación glial, que conduce a citotoxicidad y al característico proceso neurodegenerativo de la EA. Las citoquinas tales como IL-1 β y TGF- β y la ciclooxigenasa (COX-2) están elevadas en el cerebro de pacientes con EA (Luterman et al., 2000; Ho et al., 2001). Sin embargo, esas observaciones no establecen si esos cambios originan la enfermedad o son una reacción compensatoria al proceso degenerativo. Además, es obligatorio tener en cuenta que los mediadores inflamatorios son multifuncionales y tienen efectos tanto pro-y anti-inflamatorio, pudiendo ser concentración dependientes. Su mera presencia no indica si son beneficiosos o perjudiciales. Por el contrario, la evidencia de múltiples casos y controles y los estudios basados en la población apoyaron una reducción de aproximadamente el 50% en el riesgo de EA después de largo plazo de uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos-inflamatorios (AINE) (Stewart et al., 1997; Broe et al., 2000; Etminan et al., 2003). Sin embargo, sólo pequeños ensayos con indometacina y diclofenaco mostraron efectos positivos para los pacientes con EA. La falta de éxito puede tener varias explicaciones; el momento y la dosificación de tratamiento, y el AINE específico utilizado son algunos de las posibilidades.

Sigue siendo una incógnita si la inflamación es causa o consecuencia del proceso neurodegenerativo. La inflamación favorece el procesamiento defectuoso del A β y de la proteína precursora del amiloide, (APP), favoreciendo la agregación del A β , pero también modificando la reactividad al A β . Se ha observado que la reactividad microglial al APP y A β es baja, pero se potencia en condiciones pro-inflamatorias,

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

indicando que la citotoxicidad dependería de la capacitación inflamatoria de la glía. Por lo que se ha propuesto que la acumulación del A β , el estrés oxidativo, la disfunción sináptica y la neurodegeneración dependen del estatus inflamatorio del sistema nervioso, que determina la desregulación de la activación glial (Von Bernhardi, 2005).

En general, la inflamación es una respuesta protectora a diversas lesiones de células y tejidos. Si esta respuesta no es controlada, el efecto inicia daños celulares y tisulares excesivos que resultan en destrucción de tejido normal y la inflamación crónica (Anmu Xie et al, 2014). La inflamación puede ser neuroprotectora en estadios tempranos (Wyss-Coray, T et al, 2002) pero la incapacidad de resolver el estímulo activante puede resultar en respuesta inflamatoria crónica, (Hanisch UK, 2002) con sobreactivación microglial induciendo liberación de citoquinas (FNT α , IL-1 β , MCP-1, RANTES y eicosanoides (Hu J et al, 1999). Estas sustancias potencian la neurodegeneración al aumentar la sensibilidad neuronal a los radicales libres (Combs, C.K. et al, 2001). El óxido nítrico aumenta en la neuroinflamación y está elevado en la EA Wallace MN et al, 1997; Luth H et al, 2002). Además de su citotoxicidad, dichas citoquinas también estimulan la síntesis (Goldgaber D et al, 1989; Rogers JT et al, 1999) y procesamiento amiloidogénico del APP (Blasko I et al, 1999).

No sería la acumulación del A β , sino la respuesta inflamatoria al A β , la responsable del daño neuronal (Von Bernhardi, 2005).

La activación de astrocitos y microglia ha demostrado que produce liberación de factores inflamatorios que modifican la excitabilidad neuronal o contribuyen a la pérdida neuronal. Además existen otros mecanismos inflamatorios que puede contribuir como la disrupción de la barrera hematoencefálica (Lerner-Natoli 2001.) El resultado final dependerá del perfil de secreción de citoquinas y otros factores del microambiente, así IL-1 β es un proinflamatorio que induce producción de óxido nítrico (Talley A et al, 1995) y el TNF α tiene efectos pleiotrópicos en las neuronas, incluyendo tóxicos y neuroprotectores y modulación de la neurotransmisión (Barger S et al, 1995)

La disminución de la actividad colinérgica afecta la transmisión sináptica e inicia un proceso inflamatorio. (Wollen KA, 2010).

El péptido A β también está implicado en una serie de eventos secundarios en la progresión de la EA, como la neuroinflamación. Actuando en la activación de microglia, la principal de las células inmunes en el cerebro, se considera como un evento central en la neuroinflamación inducida por A β (Cameron et al, 2010).

En realidad, varias líneas de evidencia sugieren que la función de la microglía durante la progresión de EA es un "arma de doble filo". Por un lado, a largo plazo los resultados de la estimulación del A β en la disfunción de la microglia en el cerebro, que está caracterizado por la sobreproducción de proinflamatoria citoquinas, posteriormente conduce a la muerte neuronal

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

y el daño sináptica. Por otro lado, microglia activada participa en la fagocitosis de A β y por lo tanto evita la depósito de A β y la formación de PS (Cameron et al, 2010). En otro estudio se resumen las acciones de la microglía durante la progresión de la EA (Li Y. et al. 2003). Mientras tanto, también se han introducido los recientes avances clínicos sobre cómo prevenir y tratar esta enfermedad a través de la modulación precisa de funciones de la microglía. Sus contribuciones han sido de gran ayuda para tener una mejor comprensión sobre el papel de la microglía y neuroinflamación en los mecanismos y terapéutica de la EA. (Teng Jiang et al, 2015)

La mayoría de los estudios tienen demostrado que las células microgliales juegan un papel importante en la neuroinflamación y la neurodegeneración, demostrando los cambios característicos de los astrocitos en enfermedades neurodegenerativas tales como demencia (Fuller S et al, 2011; Farfara et al, 2008).

Ahmed MM et al, se plantean que la activación de la glía desempeña un papel crítico en la progresión de la EA. Sin embargo, el mecanismo exacto de la activación de la glía no está aún claramente entendido. Se ha demostrado en un modelo animal de la EA, que tras la infusión en el núcleo basal magnocelular rata de ácido iboténico (IBO), (el ácido iboténico es un neurotóxico), un cambio en los niveles de neuropéptidos y peptidasas. Los niveles de la SP y la somatostatina se redujeron en el cuerpo estriado y la corteza frontal 1 semana después de la infusión de IBO, y se recuperaron hasta el nivel de control tras el tratamiento con memantina, lo que indica la implicación de los neuropéptidos en la patología EA. Además, los estudios inmunohistoquímicos y enzimáticos de GFAP y CD 11b, y de iminasa peptidylarginine, marcadores de la glía, en el cuerpo estriado y la corteza frontal mostraron el aumento de la tratada-IBO cerebro de rata en comparación con los controles, mientras que la co-administración de memantina y no IBO. Se observó aumento de astrocitos y microglia activación. Los presentes resultados bioquímicos e inmunohistoquímicos sugieren que la activación de la glía podría desempeñar un papel importante a la patología de la EA, y correlacionar con los cambios de los niveles de neuropéptidos en el cerebro EA que se recupera mediante tratamiento con memantina (Ahmed MM et al, 2004).

Las sustancias reactivas al oxígeno (ROS) actúan como moléculas de señalización crítica para desencadenar respuestas inflamatorias en el sistema nervioso central (SNC) a través de la activación de la transcripción sensible a factores redox, incluyendo el factor nuclear-kB (NF-kB) y activador proteína-1 (AP-1). La producción excesiva de ERO por mitocondrias y NADPH oxidasa (Nox) se cree por lo general para ser responsable de la lesión tisular asociada con una gama de la lesión cerebral, inflamación y enfermedades degenerativas tales como EA (von Bernhardt et al, 2012)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

b. SP/RNK1 e inflamación:

La familia de péptidos taquicininas, incluye péptidos tales como SP, neuroquinina A, neuroquinina B, ranakinin, kassinin, gamma neuropéptido y eledoisina. SP se deriva de la preprotaquinina, un gen y actúa como un neurotransmisor o neuromodulador en el sistema nervioso. SP está omnipresente en todo el cuerpo y los fluidos orgánicos (por ejemplo, sangre, líquido cefalorraquídeo, SNC, leche materna) (Muñoz y Coveñas, 2014).

SP muestra la mayor afinidad por la RNK1, siendo el ligando natural de este receptor de la taquiquinina. Después de la unión al RNK1, SP actúa de una manera dependiente de la concentración que regulan muchas funciones biológicas (por ejemplo, el estrés emocional, inflamación neurogénica, la adicción al alcohol, la mitogénesis, la angiogénesis, emesis, dolor, quimiotaxis de leucocitos, prúrito) (Muñoz M y Coveñas R, 2013, 2014; Coveñas R y Muñoz M. 2014).

El RNK1 es un receptor acoplado a proteína G (GPCR) que transmite la señal de la SP. Tras la estimulación por SP, RNK1 interactúa con múltiples proteínas G (Goldsmith, L.E, 2012), la unión al receptor puede generar los segundos mensajeros que activan numerosos mecanismos efectores involucrados en la excitabilidad celular y en la regulación de la función celular. Esto puede incluir al ácido araquidónico, la movilización de ácidos a través de la fosfolipasa A2; la acumulación de AMPc a través de la estimulación de la adenilato ciclasa; estimulación, a través de la fosfolipasa C, de la facturación fosfatidil inositol, que conduce a la movilización de calcio (Muñoz M y Coveñas R, 2013).

También se sabe que la SP produce la degradación del glucógeno y la glucosa que se utiliza por las células para aumentar su metabolismo (glucólisis), (Medrano S et al, 1994). Después de SP se une al RNK1, ambos se internalizan en endosomas. SP induce una internalización clatrina dependiente del receptor; a continuación, se degrada y SP el receptor se recicla a la superficie celular (Muñoz M y Coveñas R, 2013). En los seres humanos, dos subtipos del receptor NK-1 se han descrito: el de larga duración y el truncado. El primero aumenta el crecimiento de las células cancerosas y estimula la producción de citoquinas, que hasta de regular la forma truncada, mientras que la segunda media en un lento crecimiento de las células del cáncer (Patel HJ et al, 2005).

Las citoquinas activan el factor de transcripción llamado NF-kappa B, que a su vez hasta regula el subtipo truncada pero aumenta ligeramente el subtipo de larga duración (Goldsmith, L.E, 2012; Moharita, A et al, 2004; Peng SL, 2004).

La activación de las fibras nerviosas periféricas también induce la síntesis y la liberación de SP (Pezzilli, R et al, 2009; Wick, E.C. et al, 2006). A través del RNK1, SP estimula las células inflamatorias para producir citocinas (IL-1, IL-6, IL-12, TNF α) Y aumenta el número de células poli-morfonucleares, macrófagos y fibroblastos. La expresión de RNK1 en los vasos sanguíneos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

y en las células inflamatorias también sugieren una posible interacción de células inflamatorias, vasos sanguíneos y nervios SP inmunorreactivas, más el apoyo de la existencia de una interacción neuroimmune que probablemente influye en el síndrome de dolor y cambios inflamatorios crónicos en características (Muñoz M y Coveñas, 2015b)

En este sentido, también se sabe que el sistema del RNK1 (receptor de SP) actúa como regulador durante los procesos de inflamación y que, en ratas, los antagonistas de los RNK1 ejercen una acción anti-inflamatoria (Muñoz y Coveñas, 2014). SP es un mediador clave en la inflamación neurogénica (Harrison S et al, 2001), siendo las neuronas aferentes primarias sensibles a la capsaicina, responsable de la inflamación en órganos periféricos (Holzer P et al, 1988). El sistema SP /RNK1 tiene un papel importante a través de la mediación de la inflamación neurogénica (Goldsmith, L.E. et al, 2012). Las características de la inflamación neurogénica son un aumento de la permeabilidad vascular, la extravasación de plasma, la formación de edema, y la infiltración de leucocitos (Harrison S et al 2001; Holzer P et al, 1988)]. Además, en los procesos inflamatorios, SP contribuye a la transmisión del dolor (Holzer P et al, 1988). El RNK1 está presente en el sistema inmunológico (Goldsmith, L.E. et al, 2012). La SP es también un inmunomodulador que, en particular, regula la función inmune de los fagocitos mononucleares. La SP activa el NFκB (Lieb K et al, 1997), un factor de transcripción implicado en el control de la expresión de inflamatoria citoquinas, y el péptido también estimula monocitos de sangre periférica humana para producir citoquinas inflamatorias, incluyendo IL-1, IL-6, IL-12 y TNFα (Lotz M et al, 1988). Por otra parte, se sabe que los antagonistas RNK1 disminuyen las señales pro-inflamatorias (Goldsmith, L.E. et al, 2012).

La secreción de la IL-1 y el TNFα amplifica la acción de los lipopolisacáridos (LPS) inducidos por macrófagos con la secreción de SP, que juega un papel importante en la generación de sinergia de las citoquinas actuando sobre la RNK1 (Xu J et al, 2011). Se sabe que NFκB regula RNK1 truncado, que esta activación es esencial para la génesis de esta sinergia citoquinas, y que tanto el RNK1 y la fosfatidil-3-quinasa (PI3K), son responsables de la respuesta de NFκB (Xu, J et al, 2011). Esto podría explicar el fenómeno por el cual los LPS inducen una mayor secreción de IL-1 y TNFα (Xu, J et al, 2011). Se ha demostrado también que después del bloqueo de los RNK1, las respuestas de IL-1, TNFα y NFκB, la activación se reduce, y que inhibidores de NFκB disminuyen la respuesta de las citocinas (Xu, J et al, 2011). Por lo tanto, por medio de estas estrategias la formación y desarrollo de un entorno pro-inflamatoria podría ser contrarrestada (Muñoz M y Coveñas R, 2015b)

Nuestros hallazgos (la SP se sobreexpresa en las células gliales), así como las placas de Aβ presentan inmunorreactividad a SP como en los astrocitos, significa que existe una relación entre la inflamación neurogénica mediada por la SP en el SNC, llevado a cabo por las células de la glía. Esta SP está regulando el fenómeno inflamatorio mediado por la glía y que pudiera estar interrelacionando con la EA. Además que los astrocitos en la EA expresen SP y RNK1 determinan que el fenómeno de la gliosis estaría regulada por el sistema SP/RNK1.

3. Implicación de la SP/RNK1 En la Neurodegeneración de la EA

En la EA, la pérdida neuronal y la patología neurofibrilar afectan principalmente a las grandes células piramidales del neocórtex y de la formación hipocámpica, que reciben y emiten impulsos glutamatérgicos (Gazulla J. et al, 2006).

La expresión de SP/RNK1 tanto en el núcleo como en el citoplasma de la microglía y de las neuronas en procesos inflamatorios como la EMT (Blanco B, 2012), nos hace pensar en la implicación de este neuropéptido tanto en la activación de la microglía como en el proceso de lesión cerebral en la EA.

a. Neurodegeneración

La SP está considerada como uno de los neurotransmisores excitadores más potentes que actúan en el SNC además de ejercer otras actividades en el resto del organismo. A nivel cortical, la SP, aumenta la actividad neuronal de forma intensa y duradera confirmando el papel de la SP como modulador de la actividad neuronal (Hökfelt T et al. 1982; Beartschi AJ et al. 1981). La liberación de SP da lugar a la activación del tracto hipotálamo-hipofisario, con un aumento de las hormonas hipofisarias (Hökfelt T et al. 1982; Beartschi AJ et al. 1981).

La detección de neuropéptidos mediante radioinmunoensayo, de concentraciones de péptidos en el tejido nervioso humano post-mortem y en el líquido cefalorraquídeo humano, han documentado anomalías de concentraciones de péptidos en las enfermedades degenerativas del cerebro. La concentración de somatostatina se reduce en el hipocampo y neocórtex de los pacientes que mueren con demencia de tipo Alzheimer. En la enfermedad de Huntington, no se reducen las concentraciones de la SP, metencefalina y la colecistoquinina en los ganglios basales; en contraste se aumentan las concentraciones de somatostatina y TRH. Estudios de lesiones inmunocitoquímicas intentan localizar las células que contienen péptidos afectados por estos trastornos; y el papel potencial de las alteraciones en la función neuropéptido en la patogenia, manifestaciones clínicas y la terapia de estas enfermedades es de gran interés. (Sagar et al. 1984).

Los datos de la distribución y localización de la SP en el SNC y periférico han sido obtenidos mediante técnicas de HPLC (Cromatografía líquida de alto rendimiento, "High performance liquid chromatography") en combinación con estudios radioinmunológicos e inmunohistoquímicos (Hökfel F et al. 1975, 1977; Pernow B, 1983; Maggio JE et al. 1985).

La SP, se encuentra en el SNC como periférico de todos los mamíferos, con una distribución desigual, hallándose en grandes concentraciones en algunas áreas mientras que en otras se encuentra ausente. La SP, se localiza en grandes concentraciones en mesencéfalo, hipotálamo y área preóptica, mientras que en el córtex es casi indetectable. Se ha localizado en el hipocampo en la esclerosis mesial temporal (EMT) tanto en neuronas como en la glía (Blanco B, 2012).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

En 1987 Beal MF et al detectan un gran número de neuropéptidos localizados en las placas seniles (Beal MF 1987) Struble RG et al. estudian los Sistemas neuropeptidérgico en las placas de la EA, con anticuerpos policlonales dirigidos contra la SP, somatostatina, neurotensina, colecistoquinina (CCK), encefalina leucina, y el polipéptido intestinalvasoactivo (VIP) se emplearon para determinar las inmunorreactividades de neuritas de las (PS) en la EA. Las especificidades del transmisor de neuritas inmunorreactivas tendían a reflejar la distribución de las fibras del transmisor asociado en el tejido normal. Esta investigación también documentó la presencia de axones anormales (a diferencia de neuritas en placas) en el neuropilo en los cerebros de los individuos con EA y en algunos controles de edad. Estos hallazgos sugieren que una variedad de sistemas de transmisión están involucrados en la formación de anomalías neuropilo de SP. También indican que un mayor número de sistemas neuronales se ven afectados de EA que han sido documentados por estudios neuroquímicos. (Struble RG, 1987)

Diversos estudios han demostrado la liberación de dopamina en la Sustancia Negra por la SP (Jessell TM et al. 1978). La complejidad de las acciones de la SP en esta localización se debe probablemente a su interacción con otros neurotransmisores, como por ejemplo el GABA. La interacción de los tres sistemas GABA, SP y dopamina en el área nigro-estriatal contribuye al control del tono neuronal de la vía extrapiramidal (Somogyi P et al. 1982).

La presencia de SP y de su RNK1 en ciertas áreas como la amígdala, sugiere su participación en la respuesta neuroquímica al estrés y en el comportamiento emocional (Mantyh PW et al. 1984; De Felipe C et al. 1998). La SP en esta área tiene un papel crucial en la apoptosis y muerte neuronal programada ejercida a través de los RNK1 (Muñoz M et al. 2011a).

Además de la pérdida de neuronas colinérgicas en EA, hay una pérdida significativa de las neuronas noradrenérgicas en el Locus Ceruleus (LC) (P. J. McMillan et al 2011.; P. Szot et al, 2006). El LC inerva muchas regiones del cerebro anterior, incluyendo la corteza y el hipocampo, dos regiones que eran gravemente afectados en la EA. Algunos estudios indican que la pérdida de las neuronas noradrenérgicas pueden ocurrir temprano en la progresión de EA (H. Braak et al 2011 a; H. Braak et al 2011b) antes de la aparición de deterioro cognitivo. Modelos animales de EA familiar también demostraron la importancia de la LC en las primeras etapas de EA (L. Li, T. et al 2011.)

La proteína A β , asociada a las PS, ejerce efectos desiguales sobre células neuronales in vitro. Añadida en disolución a cultivos de neuronas jóvenes, induce ramificación neurítica sin toxicidad neuronal; por el contrario, la proteína en forma agregada puede ocasionar muerte celular en cultivos de neuronas maduras. La adición de glutamato a cultivos de neuronas maduras preincubadas con proteína A β provocó una despoblación celular casi completa, mientras que los cultivos control, sin esa proteína, experimentaron una pérdida celular mucho menor. Idénticos resultados se obtuvieron al agregar los agentes NMDA y KA (Kainato), en lugar de glutamato (Pike CJ et al, 1991). Este aumento de toxicidad podría deberse a

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

interferencia con el metabolismo energético, el aporte de glucosa o la eliminación de radicales libres en la célula (Geddes JW et al, 1999).

Por su parte, existe disfunción en la neurotransmisión glutamatérgica descrita en la EA, que explicaría el efecto sintomático de la Memantina, y su posible papel como modificador del curso de la enfermedad (Gazulla J et al, 2006).

Además se producen cambios maladaptativos en la expresión de otros neuropéptidos, produciéndose una depleción de péptidos inhibidores como dinorfina, galanina, somatostatina y neuropéptido Y, y un incremento de taquicinas, SP y neurokinina B.

En nuestros resultados observamos que existe una sobreexpresión de SP en las células nerviosas. Esto podría estar en relación con la muerte neuronal, debido al sobreestímulo que la SP produciría estimulándose la mitogénesis de las células nerviosas. Pero como es conocido las células nerviosas adultas tiene abortada la capacidad de mitogénesis, con lo cual la activación de la SP en la célula nerviosa produciría efecto contrario, muerte neuronal. Nuestros resultados estarían de acuerdo con los resultados obtenidos en hipocampo de la Epilepsia Mesial Temporal (Blanco B, 2012)

b. SP aumenta niveles de glutamato en el hipocampo.

El aminoácido glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central (SNC), y su interacción con receptores específicos en las membranas neuronales es responsable de múltiples funciones, como el movimiento, la cognición, la memoria. Los receptores de glutamato pueden estar acoplados a canales iónicos (ionotrópicos) o a proteínas G (metabotrópicos), compartida con la SP (Neira F et al, 2003 y 2004). Los receptores ionotrópicos se designan según sus agonistas selectivos: ácido N-metil-D-aspartico (NMDA), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA), y ácido kaínico o Kainato (KA). (Vickers JC 1995; Geddes JW et al, 1999a).

Intervienen en el inicio y mantenimiento de la sensibilización central, asociada a daño inflamación de los tejidos periféricos (Wei F et al, 1999). La liberación de glutamato y SP actúan sobre receptores NMDA y neurokinina1(NK1). La vía final común de la activación del RNK1 y NMDA es el incremento de calcio intracelular libre ionizado, que puede explicar la hiperexcitabilidad neuronal persistente. La activación de estos receptores puede activar la proteína-quinasa C por la vía de la cascada de inosítoles. La activación de estos receptores produce la síntesis de prostaglandinas y de óxido nítrico. La facilitación lenta y conservada, depende de la correlación de neurokininas, especialmente la SP y aminoácidos excitadores(AE), que actúan sobre los receptores NMDA. La facilitación es bloqueada por antagonistas de los NMDA y antagonistas específicos del receptor de NK1, que se postula es el principal lugar de unión de la SP (Sorkin LS.1997; Sukiennik AW, 1995)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Las grandes células piramidales, que son las neuronas más vulnerables en la EA, utilizan glutamato como neurotransmisor y reciben aferencias glutamatérgicas. La pérdida de estas neuronas ocasiona una reducción del contenido de glutamato, y pérdida de receptores y transportadores en el sistema nervioso. Este hecho podría resultar fundamental en la fisiopatología de la EA, por la importancia de la molécula de glutamato en el proceso neuronal de facilitación prolongada que subyace en el proceso del aprendizaje. Además, la estimulación excesiva de los receptores glutamatérgicos puede causar muerte neuronal por mecanismos excitotóxicos, así como alteración citoesquelética que semeja la degeneración neurofibrilar característica de la EA (Olney JW et al, 1997).

El exceso de glutamato es capaz de originar alteraciones citoesqueléticas que asemejan ciertos aspectos de la patología neurofibrilar de EA (ONF) (Gazulla J. et al, 2006).

Liu H. et al. 1999, observaron que la SP y otras taquininas modulan la actividad excitadora del glutamato a través de AMPA, NMDA, y receptores kainatos. Ellos demuestran que la inyección intrahipocampal de concentraciones picomolares de SP pueden producir daños hipocampales. Estos datos, junto con la evidencia que antagonistas de receptores de glutamato reducen la actividad inducida por kainato y el daño isquémico en el cerebro de las ratas, sugieren que las taquininas son esenciales en la vulnerabilidad de las neuronas del hipocampo. Para probar esta hipótesis se usan ratones modificados deficientes en gen preprotachynina A (precursor de SP), (PPT-A), mostrando una reducción de la muerte neuronal. (Liu H et al 1999)

Wasterlain et al observan como al administrar concentraciones de 1 micromol/L de SP durante 30min a nivel hipocampal, aumenta las concentraciones de glutamato hasta 5 veces, lo que demuestra que la SP induce la liberación de glutamato, por lo que debe jugar un papel importante en la muerte celular (Wasterlain et al en el 2000).

c. Efectos de la expresión de la SP en la EA asociada a muerte neuronal

La característica más sobresaliente de la apoptosis o muerte programada, es que se trata de un mecanismo fisiológico de muerte celular que es necesario para mantener la plasticidad del organismo y eliminar las células inservibles o que se tornan peligrosas. La apoptosis no causa daño secundario ni inflamación. De hecho, la célula apoptótica se separa de las células vecinas y acaba fragmentándose en una serie de cuerpos apoptóticos que son eliminados por fagocitos del entorno (Duke RC et al, 1992; Song Z et al, 1999). La necrosis, por el contrario, es un mecanismo patológico consecuencia de un daño celular extremo, que afecta a las células colindantes y provoca inflamación (Snider BJ et al, 1999). La apoptosis es fundamental para mantener la integridad de los organismos pluricelulares y su ejecución evita enfermedades como el cáncer, o la autoinmunidad (Cohen GM. et al, 1997; Campisi J et al, 2000). Evidentemente, el contrapunto lo ponen ciertas situaciones patológicas en las que se ha demostrado que la apoptosis supone una pérdida irreparable de células. En concreto, hoy se sabe que muchas de las neuronas que desaparecen en los enfermos de Alzheimer (Nagy ZS et

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

al, 1997), lo hacen por apoptosis. No obstante, existen mecanismos de protección para evitar estas situaciones, de forma que las células que no se dividen como las neuronas, y las células musculares cardíacas son más resistentes a padecer apoptosis. Esta resistencia a la apoptosis está modulada por proteínas implicadas en sistemas de transducción de señales como Bcl2 (Peinado MA et al, 2000) y otras como Bax y Bad (Tamatani M et al, 1998; Liu X et al, 1999).

Castro-Obregon et al en 2002 observan que en neuronas del núcleo estriado, corticales hipocampales, la SP a concentraciones micromolares produce muerte celular en 48 horas y que a concentraciones nanomolares se produce en 7 días. Además dicha muerte celular se produce vía RNK1, ya que al administrar antagonistas de dicho receptor se bloquea este proceso. Se interpreta que dicha muerte celular no se va a producir por apoptosis sino por vacuolización (muerte celular programada no apoptótica) tipo 2 ó 3 (lisosómica o mitocondrial). En algunas enfermedades neurodegenerativas como Huntington y esclerosis lateral amiotrófica se observa este tipo de muerte celular no apoptótica. Wasterlain et al. (2002) sin embargo si considera la muerte neuronal producida a través de SP apoptótica, debido a que la apoptosis neuronal es vía Bax y Caspasa 3.

Las neuronas se mueren concentración y tiempo dependiente, a más concentración de SP se produce neurolysis y la muerte celular neuronal, probablemente de tipo apoptótica.

Se ha demostrado, que la SP produce muerte neuronal concentración dependiente (Castro-Obregón S et al. 2002) durante el fenómeno de la inflamación. Probablemente, con la inflamación, se produce aumento de SP y se produce la muerte neuronal por acción directa de la SP sobre la neurona o a través de las interleuquinas activadas por dicho neuropéptido. Esto, nos lleva a una mejor comprensión de la producción de las lesiones neurológicas en EA. La SP en el sistema nervioso, actúa sobre la neurona, la cual por su especialización ha abortado su facultad para la duplicación, produciendo neurolysis, muerte neuronal, por otra parte, debido a la capacidad mitogénica de la SP se produce aumento de la duplicación de las células gliales que a su vez produce gliosis (Blanco B, 2012).

d. La SP regula la expresión del gen promotor de muerte neuronal.

Diversas causas inductoras, que pueden activar o inhibir grupos de genes, entre las que se cuentan, deficiencias de factores neurotróficos, hipoxia e hipoglucemia, excitotoxicidad, producción de radicales libres de oxígeno y de nitrógeno, desencadenan procesos de muerte neuronal responsables del envejecimiento y de las enfermedades neurodegenerativas asociadas (Peinado MA et al, 2000)

Se ha propuesto la hipótesis de que la inducción de determinados genes implicados en los procesos de muerte celular, como el gen *bax*, sería uno de los posibles mecanismos disparadores de la apertura del poro mitocondrial. Por el contrario, proteínas como

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Bcl2 que han sido localizadas en la membrana plasmática, en la del retículo endoplasmático y también en las de las mitocondrias, podrían actuar como sensores, que en este último caso impedirían la apertura del poro mitocondrial (Green DR et al, 1998).

Se baraja la idea de que los mecanismos que disparan la apoptosis o la necrosis sean activados por estímulos similares que sólo difieren en el grado de intensidad. Experiencias con neuronas cultivadas en presencia de diferentes concentraciones de glutamato así lo avalan (Ankarcona M., 1998). De esta forma, la exposición de los cultivos a cantidades moderadas de glutamato provoca apoptosis, mientras que la exposición de las neuronas a concentraciones elevadas de este AAE provoca hinchazón neuronal y necrosis. Si la causa inductora y, por consiguiente, la apertura del poro es transitoria, los cambios sufridos por la mitocondria ponen en marcha un sistema más retardado de muerte celular que acaba conduciendo a apoptosis. Se piensa que estos cambios, que aparentemente no dañan en primera instancia la integridad mitocondrial, permiten la salida de determinadas proteínas inductoras, como el citocromo c, que induce la activación de Apaf 1; esta última activa a su vez las correspondientes caspasas, obteniéndose como resultado final apoptosis. Si, por el contrario, la causa inductora es sostenida también lo es la apertura del poro, y la mitocondria sufre un daño osmótico que conduce a la típica hinchazón mitocondrial, con ruptura de membrana interna y salida del contenido de la matriz mitocondrial (Peinado MA et al, 2000)

Además, la caída del potencial que tiene lugar desacopla la síntesis de ATP y provoca la aparición de nuevas especies reactivas de oxígeno, con resultado final de muerte por necrosis.

Por otro lado, no hay que descartar en esta segunda hipótesis la liberación simultánea de factores inductores de apoptosis y proteínas mitocondriales (citocromo c), que a su vez inducen la cascada de eventos que llevan a la destrucción celular (Halestrap AP et al, 2000).

Olney acuñó el término 'excitotoxicidad' para expresar la capacidad de los aminoácidos excitadores, entre ellos glutamato, de provocar lesión o muerte neuronal mediante sobreexcitación en el curso de la isquemia cerebral o de algunas enfermedades neurodegenerativas (Geddes JW et al, 1999).

La gran diferencia en la vulnerabilidad del hipocampo de los ratones indica que el gen

PPTA es un importante medidor de muerte mediado por kainato. Por microscopía electrónica se observan que varias neuronas muertas por kainato son por apoptosis. La expresión de los genes promotores de muerte neuronal bax y caspasa 3 por kainato son distintas en los ratones salvajes que en los KO, aumentando la expresión de bax en los salvajes a los 3 días de la inyección de kainato, no encontrando incremento significativo en los KO ratones. Lo mismo ocurre con el incremento de caspasa 3 a los 3 días de inyección de kainato, encuentran un incremento muy significativo en las regiones CA3 y CA1 hipocampal de los ratones salvajes y no en los KO. Por lo que se demuestra una reducción de la muerte neuronal y de la expresión

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

de los genes reguladores de muerte neuronal en ratones KO tras la inyección de kainato y de pentileno tetrazol (Wasterlain et al en el 2000).

La SP media la activación de bax que es el encargado de activar la citocromo C y otras proteínas mitocondriales y puede activar la caspasa 3 citosólica. La inducción de caspasa 3 va a activar la fragmentación del DNA mitocondrial, promoviendo la muerte neuronal.

Estos resultados sugieren que el resultado de la activación de circuitos del sistema límbico va a depender de la continuidad de la activación de los receptores NMDA, que liberan SP y glutamato (Nagy I et al, 1996).

La SP y el glutamato actúan sobre receptores NMDA y neuroquinina1 (RNK1). La vía final común de la activación del RNK1 y NMDA es el incremento de calcio intracelular libre ionizado, que puede explicar la hiperexcitabilidad neuronal persistente. La activación de estos receptores puede activar la proteína-quinasa C por la vía de la cascada de inosítoles. La activación de estos receptores produce la síntesis de prostaglandinas y de óxido nítrico. La facilitación lenta y conservada, depende de la correlación de neurocininas, especialmente la SP y aminoácidos excitadores, que actúan sobre los receptores NMDA. La facilitación es bloqueada por antagonistas de los NMDA y antagonistas específicos del receptor de NK1, que se postula es el principal lugar de unión de la SP (Sorkin LS et al., 1997).

4. Resultados Inmunohistoquímicos de SP/RNK1 en la EA

En nuestros resultados se encontró una marcada diferencia entre los resultados obtenidos mediante inmunohistoquímica para los RNK1 y SP entre los controles y las muestras obtenidas de hipocampo con EA, al igual que el estudio realizado por Blanco B (Blanco B, 2012) en epilepsia mesial temporal lo que apoya que existe una participación de la SP/RNK1 en la fisiopatología de la EMT y en la EA.

Del mismo modo que Boer et al en 2006 identifican SP en el núcleo de neuronas que inervan el riñón del ratón, hemos identificado la SP a nivel nuclear neuronal hipocámpal. Este hallazgo es de gran importancia ya que al encontrar una correlación entre aumento de expresión de la SP y los RNK1 a nivel nuclear se puede deducir que mediante la administración de antagonistas para RNK1 podremos interferir en la modulación génica y por tanto en la neuroinflamación previa a la neurodegeneración de la EA, y no solamente en el tratamiento de los síntomas y en frenar el deterioro, como habitualmente hacen los IAChEs (fármacos anticolinesterásicos).

En 2007, Willis et al estudian la localización y la expresión de la SP en ratones transgénicos (que sobreexpresan APP751 humana con el London (V717I) y el sueco mutado (K670M / N671L)). Existiendo aumento de la expresión de la SP en los astrocitos se encuentra principalmente en la formación del hipocampo y los núcleos talámicos con una asociación preferencial con placas de A β , mientras que en las regiones corticales sólo se observaron

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

astrocitos-P inmunorreactivos débilmente. Este estudio indica que la SP se somete a cambios complejos en este modelo animal de la EA. (Willis M et al, 2007)

Yew DT et al utilizaron técnicas de inmunohistoquímica para comparar la proporción de neuronas que expresan varios neurotransmisores (tirosina hidroxilasa, colina acetiltransferasa y ácido gamma-aminobutírico), neuropéptidos (Leu-encefalina y la SP) y moléculas de adhesión celular neural (NCAM) en el hipocampo, frontal (área 10) y occipital (área 17) cortezas de los humanos ancianos neurológicamente normales a la de la EA de la misma edad de los pacientes. No hubo diferencias en la proporción de células colinérgicas y GABAérgicas entre los grupos normales y EA en las tres regiones cerebrales estudiadas. Sin embargo, las células catecolaminérgicas en la corteza frontal de los pacientes con EA revelaron una disminución significativa. Las células catecolaminérgicas presentes en la corteza eran ambas neuronas y astrocitos, según lo revelado por una doble inmunotinción de tirosina hidroxilasa y la proteína ácida glial fibrilar (GFAP). Además, la diferencia en la proporción de células que expresan la SP y Leu-encefalina fue mínima entre los dos grupos estudiados. Aunque hubo poca diferencia en los niveles de NCAM en la corteza occipital y el hipocampo de los dos grupos, hubo significativamente menos neuronas positivas NCAM en la corteza frontal de EA que los individuos envejecimiento normal. (Yew DT et al 1999)

Todo lo expuesto anteriormente junto con nuestros hallazgos, hacen resaltar de forma significativa la importancia del complejo SP/RNK1 en la neuroinflamación (proceso mediante el cual un determinado grupo o circuito neuronal se altera y puede producir muerte neuronal) y en la fisiopatología de la EA.

a. Implicaciones SP/RNK1 en neoangiogénesis

En la microglía, y en zonas como el hipocampo y la amígdala de los pacientes con EA existe una sobreexpresión del RNK1.

La SP/RNK1 también se incrementa en los procesos inflamatorios, en la depresión y en tumores, regulando la migración de las células tumorales, la angiogénesis y el efecto Warburg (efecto por el que la mayor parte de las células cancerosas producen energía principalmente en el citosol, por un proceso de glicólisis anaeróbica; en vez de producir energía por la vía de oxidación aeróbica del piruvato en las mitocondrias como es lo habitual en la mayor parte de las células normales. Esto es necesario ya que las células malignas tienen, típicamente, unas tasas de consumo de glucosa unas 200 veces mayores que las de las células normales que les dieron origen). La SP podría inducir angiogénesis, neuroinflamación y la progresión de la neurodegeneración a través de los siguientes mecanismos: paracrino (SP es secretada por las células inflamatorias; SP estimula la mitogénesis en las células endoteliales que favorecen la neoangiogénesis); SP se libera de las terminaciones nerviosas; endocrino (SP se libera a los vasos sanguíneos); SP llega a todo el cuerpo a través del torrente sanguíneo (esto está regulado por el sistema límbico) (Muñoz M y Coveñas R, 2015b).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Se ha descrito la Inmunolocalización RNK1 en la placenta humana, aportando pruebas de que SP está expresada en el núcleo. SP puede tener un papel en la regulación de flujo sanguíneo local (Brownbill P et al, 2003; Gallichio M et al, 2006) y también tiene efectos en la placenta y en la placentación normal debido a su capacidad para inducir la proliferación de células (Nilsson J et al, 1985) y neoangiogénesis (Zicke M et al, 1990). Estas observaciones sugieren que SP / RNK1 tienen un papel en la fisiología de la placenta (Muñoz M et al.2010 c)

La neovascularización o neoangiogénesis, es un proceso secuencial, con principios de la proliferación endotelial seguido de una nueva formación de vasos y aumento del flujo sanguíneo, acompañado por la maduración de los sistemas de regulación neurovasculares endógenos, que ocurre tarde en este proceso en los tejidos inflamados (Muñoz et al., 2011a). El crecimiento de nuevos vasos a partir de un vasculatura preexistente es una característica común de las enfermedades inflamatorias crónicas (la neoangiogénesis temprana es un paso clave en la transición de inflamación aguda a persistente o crónica) (Muñoz y Coveñas, 2015a).

Por otra parte, la neoangiogénesis, se ha asociado con un aumento de la inervación del tejido y la expresión de RNK1. La SP y sus RNK1, se encuentran en los tumores y en los vasos peritumorales (Hennig et al. 1995). La SP, es un importante mediador de la inflamación neurogénica a través la liberación del péptido desde las terminales nerviosas periféricas, estando involucrados en el crecimiento de los vasos capilares in vivo y en la proliferación de células endoteliales cultivadas in vitro (Muñoz et al. 2,011a). Además, se ha demostrado en un modelo de ratón desnudo de xenoinjerto de carcinoma de páncreas que los antagonistas RNK1 ejercen una acción antitumoral y antiangiogénicos (Guha et al., 2005), mientras que la angiogénesis puede ser mejorado con la administración de SP. Por otra parte, en un estudio con hepatoblastoma (xenoinjerto en modelo de ratón), se ha informado recientemente que el aprepitant fármaco inhibe la angiogénesis (Berger et al.2014).

La proliferación de las células endoteliales por antagonistas RNK1 aumenta de una manera dependiente de la concentración. Los antagonistas del R NK1 bloquean la acción proliferativa de SP, mientras que la acción de selectiva en RNK2 y RNK3 no tiene efectos significativos en la proliferación de células endoteliales (Muñoz et al. 2011a). Estos hallazgos indican que agonistas de los RNK1, tales como SP, pueden directamente, estimular el proceso de neovascularización, probablemente a través de la inducción de la proliferación de células endoteliales (Ziche et al. 1990) y que los resultados de la angiogénesis por SP se realizan a partir de una acción directa sobre RNK1 microvasculares. Por lo tanto, por medio de tales receptores, presentes en altas densidades en vasos sanguíneos, SP pueden influir fuertemente en la estructura vascular y funcionar dentro y alrededor de los tumores y de la glía, mediante el aumento de flujo sanguíneo y fomentando el desarrollo de la inflamación (Hennig et. al 1995).

También se ha informado de que en el cáncer de páncreas, los antagonistas de SP ejercen acción antiproliferativa y efectos antitumorales, aunque en la actualidad estos mecanismos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

(que podría ser de valor terapéutico significativo) no se entienden plenamente (Guha et al. 2005). A fin de aclararlos, los datos siguientes son importantes: en el cáncer de páncreas y otras enfermedades inflamatorias crónicas, los RNK1 están altamente expresados en los vasos sanguíneos (no sólo dentro de la masa tumoral, sino también en el tejido peritumoral) (Friess et al 2003).; Concentraciones nanomolares de SP estimulan tanto la proliferación de células tumorales pancreáticas (Muñoz et al. 2006), como estimulan el crecimiento de los vasos por proliferación de células endoteliales (Ziche et al. 1990). Además, la proliferación de células tumorales y neoangiogénesis podría estar inhibida por antagonistas deRNK1, las cuales bloquean las acciones biológicas de SP (Muñoz et al 2011a; Berger et al. 2014). Estos datos sugieren que el RNK1 está implicado en acciones antiproliferativas y acciones antiangiogénicas. (Muñoz y Coveñas, 2015a).

Se ha observado que la angiogénesis va a estar asociada a una disrupción de la barrera hematoencefálica (Rigau et al 2007). La liberación de SP juega un papel importante en la inflamación neurogénica, se ha implicado en la patogénesis de muchas enfermedades neurológicas, debido a sus efectos sobre la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE). El undecapéptido ha demostrado recientemente que aumenta la permeabilidad de la BHE tras daños en el sistema nervioso central, por lo que es un posible mediador de extravasaciones de células tumorales en el cerebro para formar metástasis cerebrales (Lewis et al. 2013b; Muñoz M y Coveñas R, 2015b).

Existen varios estudios en los que se ha relacionado la SP con la neoangiogénesis tanto in vivo como in Vitro. Ziche M et al. (1990, 1994) describieron como la SP estimula la neovascularización in vivo. Fan TP et al. (1993) confirmaron la acción proangiogénica de la SP y mostraron también su inhibición por antagonistas del receptor de la SP, RNK1 en rata.

Por tanto, podemos suponer que a través de esta angiogénesis la SP está contribuyendo también al proceso de la neuroinflamación. Ha sido descrito que el tratamiento con antagonistas de los RNK1 inhibe la proliferación de células tumorales y de la neoangiogénesis (Guha 2005). Por este motivo es probable que el uso de los antagonistas de los RNK1 inhiban la angiogénesis secundaria a la inflamación neurogénica mediada por SP.

Antagonistas de los canales de calcio Tipo L y la SP induce la angiogénesis de los vasos corticales asociados con A β placas en un modelo de ratón de la EA (Daschil N et al, 2015).

En un estudio reciente se identifican los efectos angiogénicos de bloqueadores canales de calcio tipo L (LTCC) y de la SP en los vasos de placa asociada a A β o placa senil (PS) en corteza e hipocampo en cortes de cerebro con EA (estudio con ratones transgénicos). Se basan en que está bien establecido que los canales de calcio de tipo L (LTCC) se expresan en astrocito. Puede ser que una alteración de la regulación del calcio desempeña un papel importante en la fisiopatología de la EA (Thibault et al., 2007). Se ha sugerido que mayor actividad de los canales de calcio de tipo L (LTCC) impulsa muchos de los marcadores de la patología en el

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

envejecimiento y EA. Demuestran que la subunidad $\alpha 1$ del canal Cav1.2 se expresa fuertemente en los astrocitos reactivos alrededor de las PS en ratones transgénicos ratones de 11 meses de edad, la EA con la proteína precursora de amiloide. Se comparó el patrón de expresión con el de la preprotakinina-A (PPT-A) mRNA (el precursor de la SP), ya que este péptido ha demostrado estar localizados en astrocitos activados alrededor de las PS (Daschil N et al, 2015).

Los vasos del cerebro asociadas con placas de $A\beta$ expresan la SP y un LTCC pudiendo desempeñar un papel en la angiogénesis. Las células del núcleo de la placa presentan ARMm para subunidades de canales calcio, más marcado en hipocampo, siendo más llamativa la presencia de la SP en el núcleo de la placa de $A\beta$, que en la periferia de la misma. Se ha demostrado que los bloqueadores LTCC inducen angiogénesis de los vasos en las proximidades de las placas de $A\beta$ corticales cortes de cerebro con EA, este efecto se potenció mediante la adición de la SP (Daschil N et al, 2015).

En conclusión, existe una creciente necesidad de más investigación con respecto a la inhibición del $A\beta$ y la proteína tau la acumulación, la actividad de sistema antioxidante, el estrés, las mutaciones específicas en genes específicos, las alteraciones en trastornos mitocondriales, y así sucesivamente. (Anmu Xie, 2014)

Todo lo expuesto anteriormente junto con nuestros hallazgos, hacen resaltar de formasignificativa la importancia del complejo SP/RNK1 en la EA, y en la fisiopatología de la EA. La sobreexpresión de la SP y RNK1 en la EA al igual que en la EMT (Blanco B, 2012) sirve comomarcador fisiopatológico y el uso de los antagonistas RNK1 como tratamiento en estetipo de proceso, pues bloquearía todos los efectos mediados por SP.

b. Implicaciones de la SP/RNK1 en la respuesta al estrés y las alteraciones de la conducta afectiva su relación con la EA

Datos clínicos y experimentales sugieren que el estrés contribuye a la patología y puede tener un papel en elproceso de la neurodegeneración.

La SP y RNK1 desempeñan un importante papel en la respuesta al estrés.La activación de los RNK1 por la SP se ha visto que incrementa el comportamiento relacionado con la ansiedad en una variedad de áreas cerebrales incluida la amígdala. El bloqueo farmacológico o deleciones genéticas de los RNK1 reducen los cambios de comportamiento producidos por el estrés (Singewald et al. 2008; Muñoz M y Coveñas R, 2014, 2015b).

Existenestudios que demuestran que la administración central de dicha sustancia producecomportamientos similares a los causados ante situaciones de estrés (Singewald et al.2008).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Basándose en el conocimiento que la SP parece estar implicada en la etiología de los desordenes afectivos y apoyados en los hallazgos que los antagonistas de los RNK1 tienen efectos antidepresivos y que la SP puede empeorar los desórdenes del ánimo (Quartara and Maggi 1998; Lieb K. et al. 2002; Herpfer I. et Lieb K., 2003; Rupniak et al., 2002), evalúan los efectos de los estabilizantes del humor como el valproico, la carbamacepina y el litio en la expresión génica de la SP.

Como modelo usan células astrocíticas de ratas y humanos que expresan RNK1, y tras la estimulación con SP sintetizan interleukinas-6 (IL-6), citoquina proinflamatoria, que se ha visto se eleva en los estados depresivos agudos (Muñoz M y Coveñas R, 2015b). Ellos encuentran que el valproico-dosis dependiente inhibe la SP inductora de IL-6, mientras que con la carbamacepina y el litio no encuentran cambios. El efecto inhibitorio del valproico está mediado por la inhibición de la activación de la proteína quinasa C épsilon (proteína-quinasa reguladora del estrés). Además comprueban en tiempo real mediante PCR la disminución de la expresión génica del receptor SP (RNK1) mediado por el valproico.

Esta regulación se puede observar una hora después del tratamiento y es significativa 4 horas después. El efecto inhibitorio del valproico sobre la SP también se ha observado en seres humanos sanos. Se ha demostrado que la SP administrada intravenosamente incrementa la secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y cortisol de manera dosis-dependiente, y que esta inducción es inhibida por el valproico (Coiro et al. 1992).

Los datos sugieren que en la depresión el sistema RNK1/SP podría estar activado y por lo tanto la enfermedad podría facilitar la proliferación de la activación de la microglía ya que estas células sobreexpresan el RNK1. Así, después de la unión a RNK1 localizados en las neuronas del sistema límbico SP induce la depresión (Kramer MS et al, 1998), y un efecto antiapoptótico. Esto significa que existe un vínculo neuroendocrino y SNC, ya que en la depresión se sobreexpresa SP y es liberada en la sangre y por lo tanto aumentan los niveles plasmáticos SP. En suma, muchos datos sugieren que el comportamiento emocional (por ejemplo, depresión, ansiedad) (Fehder, W.P. 1999, De Vane, C.L., 2001) y la progresión de las enfermedades inflamatorias crónicas como cáncer podrían estar relacionados (Muñoz M y Coveñas R 2014, 2015a).

Por tanto los antagonistas de los RNK1 se postulan como una posible terapia en desórdenes psiquiátricos de ansiedad y depresión (Muñoz M y Coveñas R, 2014), pudiendo tener utilidad en los síntomas psiquiátricos y conductuales asociados a la demencia (SPCD) de tan difícil manejo en la actualidad y tan determinantes de deterioro de calidad de vida del paciente con EA.

La SP está implicada en la regulación del estrés y la conducta afectiva y relacionada con la ansiedad. Particularmente se ha encontrado alta expresión en la región de salida principal del complejo amígdala, la amígdala central (CE). Sosulina L et al han investigado los mecanismos

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

celulares de la SP en CE in vitro, aprovechando la proteína glutámicodecarboxilasa (GAD67-GFP) en ratones knockin que producen un etiquetado fiable de las neuronas GABAérgicas, que comprenden 95% de la población neuronal en el lateral sección del CE (CEL). En las neuronas positivas para GFP dentro de CEL SP causó una despolarización de la membrana y aumento de la resistencia de entrada, asociado con un aumento en la frecuencia de disparo del potencial de acción. En condiciones de fijación de voltaje, la corriente de membrana-SP específica invierte en $-101,5 \pm 2,8$ mV y se muestran dentro rectificar propiedades indicativas de una membrana K + conductancia. Por otra parte, las respuestas SP fueron bloqueados por el antagonista del RNK1 L-822429 e imitados por el agonista RNK1 [Sar9, Met (O2) 11] -SP. La tinción de inmunofluorescencia confirmó la localización de NK1R en las neuronas positivas para GFP. Estos datos indican que existe un aumento de NK1R mediada de la excitabilidad y la actividad en las neuronas GABAérgicas. Esta influencia puede suponer aumentar las interacciones y la contribución a la acción de provocar ansiedad como de SP en la amígdala(Sosulina L et al, 2015).

En un estudio realizado por Van der Hart et al confirman que el estrés psicosocial produce en animales de experimentación una significativa disminución de la concentración in vivo de los principales metabolitos cerebrales, del volumen hipocampal y de la velocidad de proliferación de precursores celulares en el giro dentado. Ellos demuestran que los antagonistas de RNK1, L-760,735 y la clomipramina previenen los efectos producidos por el estrés (Van der Hart et al. 2001).

Un factor que potencialmente suprime la neurogénesis en el adulto es la exposición al estrés. En este sentido la velocidad de proliferación celular disminuye en animales tras someterlos al estrés y se recupera tras la administración de antidepresivos (Van der Hart et al. 2001).

La regulación de la neurogénesis es un proceso complejo en los que existen hipótesis que la serotonina está implicado en la regulación de dicho proceso en el giro dentado del adulto. La SP y RNK1 están íntimamente asociados con la elevación cerebral de serotonina y noradrenalina en el hipocampo. En ratas tratadas con antagonistas de NK1 se ha demostrado que no se produce dicho aumento de serotonina en el hipocampo.

El giro dentado está débilmente innervado por fibras que contengan SP pero existe descrita una fuerte inmunorreactividad para los RNK1 para esta parte de la formación hipocampal. Si el bloqueo de dichos receptores por L-760,735 interacciona con el sistema serotoninérgico u otros neurotransmisores en la neurogénesis precisa más investigaciones.

Recientes estudios de imágenes en humanos sugieren que enfermedades mentales como depresiones recurrentes o estrés postraumático produce reducción del volumen hipocampal en humanos igual que ocurre en la EA. Además de la reducción de la neurogénesis la formación hipocampal presenta otros cambios morfológicos en respuesta al estrés como la retracción dendrítica apical de las células piramidales en CA3. Por lo que la disminución de

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

volumen hipocampal observada esta explicada por ambos procesos (reducción de la proliferación y la retracción dendrítica apical de las células piramidales en CA3). Los resultados obtenidos en este trabajo pueden extenderse a la evidencia experimental que los tratamientos farmacológicos de las enfermedades psiquiátricas del ánimo pueden modificar la viabilidad y remodelación neuronal. Esto puede resultar de nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento de dichas enfermedades (Van der Hart et al. 2001).

El tratamiento crónico con drogas antidepresivas produce un descenso en la concentración de SP en el núcleo estriado, la sustancia nigra y la amígdala. Estos hallazgos sugieren que la reducción de la SP en ciertas áreas cerebrales pueden contribuir a un efecto terapéutico de las drogas antidepresivas en los desórdenes afectivos (Muñoz et al. 2011).

5. Relación entre el complejo SP/RNK1 con posibles implicaciones terapéuticas

Hasta el día de hoy, las estrategias terapéuticas para tratar la EA, a pesar de la naturaleza multifactorial de la EA, las estrategias que se han diseñado con fármacos para el tratamiento de la EA se han dirigido básicamente hacia dos objetivos: el péptido A β y la neurotransmisión colinérgica.

El neuropéptido SP muestra una amplia distribución tanto en el SNC como en el periférico y tras unirse a su RNK1 regula múltiples funciones biológicas tales como el comportamiento emocional, el estrés, depresión, ansiedad, émesis, migraña, adicción al alcohol y neurodegeneración. LA SP está también implicada en el dolor, inflamación, hepatotoxicidad y proliferación viral y juega un importante papel en el cáncer (proliferación células tumorales, angiogénesis y la migración de células tumorales por invasión y metástasis). Es sabido que al unirse al receptor el antagonista del mismo es capaz de inhibir las funciones biológicas mencionadas. Por lo que estos antagonistas ejercerían una acción ansiolítica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, neuroprotectora, analgesia, y antiproliferación viral, así como ejercen los antagonistas de estos receptores NK1 una acción antitumoral.

En general las drogas habituales poseen un único efecto terapéutico, y menos comúnmente pueden tener varios. Sin embargo los antagonistas RNK1 son drogas prometedoras con múltiples efectos terapéuticos, siendo la acción dosis-dependiente, dependiendo de la concentración tiene efectos más positivos y sumatorios (Muñoz et al. 2011).

La acción de antagonistas de los RNK1 dependen de la concentración, para bloquear las acciones fisiopatológicas de SP después la unión al receptor RNK1. Hay dos tipos de antagonistas RNK1: peptídicos y no peptídicos. Los peptídicos son modificaciones químicas de la molécula de SP, en el que un L-aminoácido se sustituye por un D-aminoácido. Estos compuestos son degradados por peptidasas y no cruzan la barrera hematoencefálica (BHE), algunos de ellos son tóxicos. Sin embargo, los antagonistas no peptídicos RNK1 son compuestos solubles en lípidos, que no se degradan por peptidasas y pueden cruzar la BHE.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Hasta la fecha, se han descrito más de 300 antagonistas de receptor NK-1 no peptídicos (Muñoz y Coveñas 2013b).

Esto significa que hay más de 300 potenciales tratamientos contra el cáncer, EA y otras enfermedades inflamatorias crónicas.

El desarrollo de nuevos antagonistas de los RNK1 representa una importante oportunidad de manejar nuevos agentes terapéuticos. A nivel del sistema nervioso central, los antagonistas del RNK2 podrían ser utilizados para producir efectos analgésicos, antidepresivos, ansiolíticos y efectos antieméticos, y para el tratamiento de ciertas formas de incontinencia urinaria.

En el sistema nervioso periférico, los antagonistas RNK1 podrían utilizarse en varias enfermedades inflamatorias, incluyendo la artritis, enfermedades inflamatorias del intestino y la cistitis (Quartara y Maggi 1998).

Aprepitant, de ha utilizado para el tratamiento de la emesis, parece ser eficaz para el tratamiento del dolor y la depresión y su seguridad es adecuada; a una dosis de 300 mg /día es bien tolerado, con diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de eventos adversos en comparación con tratamiento con placebo (Muñoz et al. 2011). También ha sido notificado que es seguro con respecto a las células de fibroblastos humanos, con la IC50 para las células de fibroblastos ser aproximadamente tres veces mayor que el de las células tumorales (Muñoz y Rosso 2010a). Estos hallazgos son importantes, ya que aprepitant podría ser utilizado en el tratamiento de cáncer, como agente antitumoral de amplio espectro agente antitumoral (Muñoz y Rosso 2010a; Muñoz et al. 2010c, 2011; Berger et al. 2014).

Se ha informado de que tanto aprepitant y L-733060 tienen actividad antitumoral contra muchos y diferentes líneas celulares de cáncer humano (Muñoz M y Rosso M, 2010b; Rosso M et al, 2008).

Los antagonistas de los RNK1 ejercen antitumoral y acciones antidepresivas y por esta razón debe ser muy importante para el tratamiento de la depresión con estos antagonistas de los RNK1 es porque mejoran los síntomas de la depresión y podrían prevenir y/o mejorar la evolución del cáncer (Muñoz y Coveñas, 2015b), la neurodegeneración y la angiogénesis.

El uso de aprepitant como fármaco antidepresivo está discutido, con resultados contradictorios en diferentes estudios [Kramer MS , 1998; Keller M et al, 2006). Sin embargo, hay un punto importante a destacar; las dosis de aprepitant se usa en ambos estudios: 300 mg / día (Kramer MS , 1998) y 160 mg / día (Keller M et al, 2006). Parece que la diferente dosis utilizadas podrían ser responsables de los resultados contradictorios. A pesar de los hallazgos iniciales en apoyo de la actividad antidepresiva de NK-1 antagonistas de los receptores en los seres humanos, la eficacia clínica de estas indicaciones no ha sido revisado adecuadamente. Otros estudios deben llevarse a cabo con el fin de comprobar la posible acción antidepresiva de aprepitant (Muñoz M y Coveñas, 2015b).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

A pesar de que como se ha comentado con anterioridad la SP tiene un efecto inflamatorio en la neuroglia y que la administración de antagonistas de RNK1 han demostrado utilidad antiinflamatoria, existen pocos estudios sobre los fármacos anti –demencia y su acción a través de este mecanismo.

Los antagonistas RNK1 peptídicos (D-Arg, D-Phe, D-Trp, Leu) y los no peptídicos (por ejemplo, aprepitant) se unen a diferentes sitios del RNK1. Así los peptídicos se unen a los bucles extracelulares del receptor, mientras que los no peptídicos se unen más profundamente, entre los segmentos de transmembrana (Muñoz y Coveñas, 2015a).

La SP está considerada actualmente como el principal mediador de la inflamación neurogénica estimulando las células del endotelio vascular produciendo vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, extravasación de plasma e infiltración granulocítica. Los glucocorticoides van a disminuir la inflamación neurogénica disminuyendo la expresión de los receptores NK1 en células epiteliales e inflamatorias e incrementando la producción de la endopeptidasa que degrada la SP (Alfieri, AB et al., 2004). El gen del receptor de NK1 posee elementos que responden a los corticoides que indican que estos pueden modular su transcripción disminuyendo su expresión (Ihara and Nakanishi 1990).

Se ha visto que prevenir los efectos antiinflamatorios usando antagonistas de los receptores NK1 puede tener un potencial terapéutico en enfermedades inflamatorias como el asma, bronquitis crónica, sarcoidosis, pero además también podría tener efectos beneficiosos en el tratamiento de la EA al prevenir los efectos inflamatorios que parecen tener un papel en la microglía y en la neurodegeneración.

Lieb K, Treffurth et al (2003), con el conocimiento que la SP parece estar implicada en la etiología de los desórdenes afectivos, apoyado en los hallazgos que los antagonistas de los RNK1 tienen efectos antidepresivos y que la SP puede empeorar los desórdenes del ánimo (Quartara and Maggi 1998; Rupniak and Kramer 1999; Stout et al. 2001; Lieb et al. 2002a; Rupniak 2002), evalúan los efectos de los estabilizantes del humor como el valproico, la carbamacepina (también usados como antiepilépticos) y el litio en la expresión génica de la SP.

El ácido valproico es un FAE considerado de primera generación. Aunque su mecanismo de acción exacto no es conocido, se sabe que es un fármaco de amplio espectro, por presentar distintos mecanismos de acción, tiene un efecto potenciador gabaérgico y es un bloqueador de canales de sodio voltaje dependientes (Armijo, Herranz 2007). El efecto inhibitorio del valproico sobre la SP podría ser otro de los mecanismos de acción de este fármaco que explicarían su acción antiepiléptica.

El tratamiento con memantina, un antagonista no competitivo del receptor NMDA atenuó significativamente A β (25-35) inducida por cambios de neuropéptidos, sus enzimas que metabolizan proteínas marcadoras, gliales, y la activación de iNOS. Tomados en conjunto, los datos implican que la memantina ejerce sus efectos protectores por la modulación del sistema

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

neuropéptido, como consecuencia de la supresión de las células gliales y el estrés oxidativo en las regiones de cerebro de rata modelo EA. (Arif M, 2009).

El neuropéptido SP y RNK1 han sido propuestos como nuevos objetivos para la terapia antidepressiva. Desde un punto de vista clínico, la eficacia del fármaco memantina apoyaría la importancia de la disfunción glutamatérgica en el curso de la EA (Gazulla J. et al, 2006)

Las enfermedades neurodegenerativas como el EP, EA, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica y corea Huntington... no tienen una terapia definitiva en la actualidad.

La liberación de SP juega un papel importante en la inflamación neurogénica, se ha implicado en la patogénesis de muchas enfermedades neurológicas, debido a sus efectos aumentando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE); así como sus antagonistas disminuyen dicha permeabilidad. El undecapéptido ha demostrado recientemente que aumenta la permeabilidad de la BHE tras daños en el sistema nervioso central, por lo que es un posible mediador de extravasaciones de células tumorales en el cerebro para formar metástasis cerebrales (Lewis et al. 2013b; Muñoz M y Coveñas R, 2015b).

Por lo tanto, los antagonistas del RNK1 se han investigado para el tratamiento de enfermedades crónicas como la de Parkinson Thornton E et al, 2012, la depresión (Kramer MS et al, 2004], tumores cerebrales (Lewis KM et al, 2012 a y b; Palma C. et al, 2000), y la migraña (Goldstein D.J., 2001), con éxito variable. Por lo tanto, el tratamiento antagonista del receptor de NK1 es una atractiva alternativa a los fármacos anti-inflamatorios clásicos, el uso de que a menudo están limitados por los efectos secundarios perjudiciales para el tratamiento de enfermedades agudas y crónicas del sistema nervioso central (Lewis KM et al, 2013)

Los pacientes con EA presentan una menor expresión de SP en diferentes regiones cerebrales (Beal MJ y Mazurek MF, 1987; Kowall NW et al. 1993). En cambio, los niveles aumentados de SP en LCR se correlacionan con un debut clínico tardío de EA (mayores de 65 años) (Rosler N, Wichart I y Jellinger KA, 2001).

La SP vía de los RNK1 es uno de los mediadores de los efectos psicoestimulantes de la cocaína y las anfetaminas (Loonam TM et al. 2003) y es responsable en parte de la degeneración de las terminaciones dopaminérgicas nigroestriales, vía apoptosis, secundaria al consumo de estas drogas, debido al aumento de los niveles de SP en el sistema estriatal que actúa a través del RNK1.

Resultados de estudios indican que el L-733060 bloquea la estimulación del mitógeno SP, ya que la inhibición inducida del crecimiento por el L-733060, fue parcialmente revertida por la administración de una dosis nanomolar de SP exógeno (Muñoz et al, 2005).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

L-733,060 ha sido una de las moléculas empleadas en el estudio experimental en ratones que confirmó el papel de la SP y su RNK1 en la lesión degenerativa en el área nigroestriada inducida por metanfetamina, la cual aumenta los niveles de SP en el estriado (Yu J et al. 2002).

En esta región, la administración de antagonistas de RNK1 (WIN-51,708 o L-733,060) previene la pérdida de los transportadores de la dopamina, la pérdida de tejido dopaminérgico y pérdida de la tirosina hidroxilasa. El uso de los antagonistas de los RNK1 podría compensar la adicción a drogas y mejorar el pronóstico de las enfermedades neurodegenerativas, ya que previene la degeneración y la apoptosis neuronal e interviene en la muerte neuronal programada (Yu J et al. 2002). Las dosis de los antagonistas del RNK1 requerida para la neuroprotección son más bajas que las necesarias para los efectos antidepressivos y los efectos secundarios de tales dosis son similares al placebo. Los antagonistas del RNK1, el L-732,138 y el L-733,060, inhiben completamente la muerte celular en las células del cuerpo estriado, inducida por la SP, confirmando que la neurotoxicidad inducida por SP está mediada por RNK1 (Castro-Obregón S et al. 2002).

La SP también desempeña un papel importante en los estados patológicos en los se produce la muerte celular neuronal, como en la epilepsia y la isquemia. Yu Z y cols. (1997) en un modelo de isquemia focal cerebral, comprobó que la administración de un antagonista del RNK1 redujo el volumen del infarto y mejoró la función neurológica (Yu Z et al. 1997).

Según Corrigan F et al recientemente, en un número de informes han demostrado que la inflamación neurogénica puede jugar un papel en la respuesta lesión secundaria después de una lesión aguda al sistema nervioso central, incluyendo lesión cerebral traumática y accidente cerebrovascular. En particular, la SP parece ser íntimamente relacionada, así la intensidad de SP liberada se relaciona tanto con la frecuencia, como con la magnitud de la agresión. Así mismo la SP se asocia con un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y el desarrollo de edema vasogénico, así como la lesión neuronal y peor resultado funcional. Por otra parte, la inhibición de las acciones de SP mediante el uso de un antagonista del RNK1 es altamente beneficioso en tanto focal y modelos difusos de lesión cerebral traumática, así como en el ictus isquémico, con una ventana terapéutica de hasta 12 h. Proponiendo que los antagonistas del RNK1 representan una opción terapéutica novedosa para el tratamiento de la inflamación neurogénica después de una lesión aguda del SNC. (Corrigan F et al 2015). Similarmente el tratamiento con antagonistas RNK1 inhibe las crisis y la muerte celular inducida por el ácido kainico en la región CA1 del hipocampo. En un modelo de isquemia focal cerebral, la administración de antagonistas de RNK1 reduce el volumen de la zona infartada y mejoran la función neurológica (Vink R et al. 2010).

Es sabido que la SP y RNK1 están localizadas en las áreas cerebrales involucradas en enfermedades neurodegenerativas. Por ejemplo la SP, NKA y encefalina están íntimamente involucrado en la acción postsináptica de la dopamina en el sistema nigroestriatal y la administración de SP/NKA tanto a la sustancia nigra como al estriado incrementan los niveles

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

de glutamato y dopamina. En contraste este incremento puede ser bloqueado por antagonistas de RNK1. Se ha demostrado también que la metanfetamina causa degeneración neuronal extensa en el SNC. Ya que la metanfetamina aumenta los niveles de SP en sustancia nigra se ha especulado que la SP juega un papel en la toxicidad neuronal inducida por la metanfetamina en el estriado a través de los RNK1. En esta región la administración de antagonistas de RNK1 (WIN-51,708 o L-733,060) previene la pérdida de transportador de dopamina y la pérdida de tirosina hidroxilasa. Estos datos evidencian que la SP a través del RNK1 juega un papel crucial en la patogénesis en la degeneración nigroestriatal dopaminérgica terminal inducida por metanfetamina.

Estos datos apoyan la teoría que la administración de los antagonistas de los RNK1 pueden mejorar el pronóstico de estas enfermedades, previniendo la neurodegeneración y la neuroapoptosis. Todo esto apoya los artículos que indican que la SP desempeña también un papel importante en los estados patológicos en donde se produce una muerte neuronal como en los estatus epilépticos y la isquemia.

Se ha demostrado que a concentraciones nanomolares SP induce proliferación tanto en células tumorales como normales y que la SP no es tóxica a fibroblastos incluso a concentraciones milimolares (Muñoz M et al 2005, 2006), sin embargo en las neuronas la SP produce neurolysis (Castro-Obregón 2002).

Este efecto aparentemente paradójico en las neuronas puede deberse a que las neuronas son células muy especializadas y con muy escasa capacidad de proliferación debido a que este mecanismo ha sido abolido en dicho tipo de células. Probablemente por este motivo la SP concentración y tiempo dependiente puede inducir a la muerte neuronal o neurolysis. Sin embargo el mismo estímulo de SP produce proliferación en fibroblastos ya que la proliferación es el mecanismo normal de estas células.

En la microglía, y en zonas del SNC como el hipocampo y la amígdala de los pacientes con EA existe una sobreexpresión del RNK1. Esta sobreexpresión sugiere la posibilidad de un tratamiento específico contra las células activadas usando antagonistas RNK1.

Kart-Teke E et al. 2007 pusieron de manifiesto que una administración sistémica de la antagonista no peptídica selectiva RNK1: SR140333 aumenta los niveles de acetilcolina del hipocampo y facilita la memoria a largo plazo. El estudio dividía dos grupos de ratas, unas no recibieron ninguna inyección otras, una inyección de SR140333 a dosis de 1, 3 y 9 mg / kg (ip) con anterioridad a la adquisición de una memoria de objeto para qué, dónde y cuándo. En consonancia con los resultados anteriores, las ratas no tratadas mostraron la memoria episódica similar, mientras que las ratas tratadas con inyección fueron perjudicadas. Una dosis baja de 1 mg / kg SR140333 restableció la memoria episódica similar. Este resultado podría estar relacionado con los efectos de SR140333 en la transmisión colinérgica del hipocampo y o en la respuesta al estrés provocado por el procedimiento de inyección. Las dosis más altas de

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

SR140333 (3 y 9 mg / kg) efectos psicomotores inducidos, incluyendo comportamientos estereotipados y la postura arqueada. Dado que los antagonistas de RNK1 tienen propiedades ansiolíticas e inducen la liberación de acetilcolina del hipocampo en dosis más bajas, podrían ser eficaces en el alivio de los déficits cognitivos y de aumento de la ansiedad visto en las primeras etapas de la enfermedad de EA.(Kart-Teke, 2007)

El RNK1 media la facilitación por taquiquininas endógenas, de la liberación de acetilcolina, evocada por NMDA después de la supresión de la transmisión dopaminérgica, en la matriz del cuerpo estriado de rata (Kemel ML et al, 2003).

Los antagonistas RNK1 de alta afinidad, tales como SR140333, GR205171 y en particular SSR240600, tienen un centro antagonista no peptídico (Emonds-Alt et al 2002; Steinberg et al. 2,002), podrían ser utilizados preferentemente como fármaco anticolinérgico indirecto (Kemel ML et al, 2003).

El RNK1 media la facilitación por taquiquininas endógenas de la liberación evocada por NMDA de acetilcolina después de la supresión de la transmisión dopaminérgica en la matriz del cuerpo estriado de rata (Kemel ML et al, 2003).

Se ha demostrado que los antagonistas de RNK1 (L-732,138 y el derivado de piperidina-L-733,060), inhiben la muerte celular inducida por SP en células estriatales, confirmando que la toxicidad inducida por la SP es a través de los RNK1 (Castro-Obregón 2002).

Las dosis de los antagonistas del RNK1 requerida para la neuroprotección son más bajas que las necesarias para los efectos antidepresivos y los efectos secundarios de tales dosis son similares al placebo. Los antagonistas del RNK1, el L-732,138 y el L-733,060, inhiben completamente la muerte celular en las células del cuerpo estriado, inducida por la SP, confirmando que la neurotoxicidad inducida por SP está mediada por RNK1 (Castro-Obregón S et al. 2002).

En general, los antagonistas no peptídicos de los RNK1 son seguros y bien tolerados en los seres humanos. Hasta la fecha, se han reportado más de 300 antagonistas de RNK1 no peptídicos (Muñoz M y Coveñas R, 2015b) y por lo tanto se plantea la cuestión de cuál es el mejor para su uso en la prevención y tratamiento de la EA. La respuesta es apremiant, porque este medicamento es utilizado en la práctica clínica y ejerce una acción antiinflamatoria y antiangiogénica. En consecuencia, muchos de los estudios de seguridad y de caracterización requeridos para apremiant ya se han llevado a cabo. Serán necesarios más estudios en este tipo de pacientes con EA para valorar su eficacia clínica.

Por tanto, el uso de antagonistas de RNK1 podrían mejorar estas enfermedades neurodegenerativas bloqueando la muerte celular inducida por SP (Muñoz et al 2011).

6. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer-Kraepelin (EA) es uno de los principales trastornos neurodegenerativos que despiertan el interés científico alrededor del mundo, debido a su creciente incidencia en la población mayor. Hemos considerado oportuno unir al nombre de Alzheimer de esta conocida enfermedad, bien referenciado por ser quién primero la describió, el de su compañero el Dr Kraepelin, que fue quien reconoció que era una entidad nosológica diferente, y que englobaba las demencias seniles y preseniles como se conocían en su época, dato del que ni el propio Alzheimer fue consciente.

La EA es una enfermedad del sistema nervioso central (SNC) que hasta el momento es incurable. Dado el envejecimiento de la población y el incremento del número de pacientes afectados de enfermedad de Alzheimer-Kraepelin son cada vez más necesarias medidas que no sólo ayuden a retrasar su desarrollo, sino a poder prevenirlo. En el cerebro de pacientes con EA existen fenómenos de neurodegeneración y de neuroinflamación. Dato en el que nos basamos y demostramos en esta tesis doctoral, hemos tratado de documentar que en zonas afectadas por la EA como son el hipocampo y la corteza entorrinal, existen datos inmunohistoquímicos de inflamación, detectando sustancias proinflamatorias concentración dependiente. Se ha identificado la presencia de Sustancia P (SP) y de su receptor (RNK1), es decir su Inmunolocalización.

La Sustancia P (SP) está considerada actualmente como el principal mediador de la inflamación Neurogénica, estimulando las células del endotelio vascular produciendo vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, extravasación de plasma e infiltración granulocítica. Este papel de la SP como mediador de la inflamación neurogénica estimulando las células del endotelio vascular e incrementando la permeabilidad vascular, así como la activación de los neutrófilos y eosinófilos aumentando la expresión de los ICAM-1 en las células del endotelio vascular y mejorando por tanto, la migración transendotelial de neutrófilos, y el aumento de la expresión de los CD 11B de los neutrófilos humanos, ha sido demostrado por Nakagawa N et al. (1995) y Quinlan KL et al. (1998).

Así mismo, es una molécula neuroinmunoreguladora de los sistemas inmunes clásicos celular y humoral, ya que puede estimular la proliferación de células T (Payan DG et al.

1983). Particular interés, tiene la inducción de la SP sobre la síntesis de citoquinas proinflamatorias en células de la neuroglia y linfoides como el aumento de expresión de las IL-2 en células T, (Calvo CF et al 1992; Rameshwar P et al 1993, Muñoz M y Coveñas R, 2014), estimula la producción de IL-1 e IL-6 y TNF a por los astrocitos y microglías (Gitter BD et al 1994) y por los macrófagos (Lotz M et al 1988; Kimball ES y Fisher MC 1988).

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Un componente importante que controla la síntesis de muchas citoquinas y productos de genes proinflamatorios es el factor de transcripción de NF-kB (Schreck R et al. 1991) y posteriormente Lieb K et al. 1997 investigaría el efecto de activación de la SP sobre el NF-kB en la línea celular de astrocitoma humano sugiriendo que sería un mediador esencial en la síntesis de citoquinas inducida por la SP. De ahí su estrecha relación en la neuropatología de las citoquinas inflamatorias, con ciertas enfermedades como la EA.

El desarrollo de los antagonistas de la SP, sensibles y selectivos, ha permitido comprender mejor, la fisiología y fisiopatología de los receptores de SP o receptores de Neuroquinina -1 (RNK1).

Nuestro estudio ha consistido en analizar muestras de cerebros de pacientes fallecidos con diagnóstico de EA y compararlos con muestras de cerebro de pacientes sanos. Identificando por métodos inmunohistoquímicos la localización (Inmunolocalización) de la sustancia P y de su receptor (RNK1), concluyendo que está implicada en los principales zonas del SNC afectas en la EA. Así como la implicación de la microglía en la EA. Por lo que deducimos la implicación terapéutica de los antagonistas de RNK-1 en etapas tempranas de la EA puede curar o al menos aminorar los efectos devastadores de dicha enfermedad neurodegenerativa.

7. CONCLUSIONES

1. La SP y RNK1 se expresan en el hipocampo de la EA.
2. Existe una diferencia en la expresión de la SP y su RNK1 en la EA con respecto a los hipocampos sanos. La diferencia consiste en un aumento de la expresión de la SP/RNK1 en los casos de EA.
3. La diferente expresión de SP/RNK1 se encuentra localizada tanto a nivel neuronal como glial.
4. La SP a través de su RNK1 participa en la fisiopatología de la EA.
5. La implicación de la SP en la EA se puede producir en varios niveles: en la regulación de la génesis de la EA, por su actividad neuroapoptótica, por su actividad proinflamatoria y angiogénica y a través de las células gliales. Dicha actividad la realiza a través de su RNK1.
6. En el hipocampo de los pacientes con EA a nivel neuronal la localización fundamental de SP es nuclear por lo que podemos suponer que su actividad fundamental es como neuromodulador genético neuronal.
7. En el hipocampo de EA a nivel glial la localización fundamental de SP es nuclear por lo que podemos suponer que su actividad fundamental es como neuromodulador genético glial.
8. La sobreexpresión de SP y RNK1 en las células del hipocampo en la EA (neuronas y células gliales) son la base para una posible intervención terapéutica con los antagonistas de los RNK1 en la EA, estos actuarían en los distintos niveles: inhibiendo la neurodegeneración, la acción inflamatoria y angiogénica de la EA.
9. La SP concentración y tiempo dependiente produce proliferación de las células gliales, lo que justificaría su implicación en el fenómeno de gliosis en la EA, consecuentemente los antagonistas de los RNK1 podrían ser usados como antiinflamatorios y para evitar la gliosis en la EA.
10. La SP concentración y tiempo dependiente produce muerte neuronal, lo que justificaría su implicación en el fenómeno de neurodegeneración de la EA, consecuentemente los antagonistas de los RNK1 podrían ser usados como neuroprotectores en la EA.
11. Las implicaciones funcionales de la SP, RNK1 y de los antagonistas RNK1 son una nueva y esperanzadora vía terapéutica en el control de la EA.

8. BIBLIOGRAFÍA

A Robles Bayón, C Carnero et al. Clasificación de las demencias. Capítulo 6, pag 29. Guías en demencias. Conceptos, criterios y recomendaciones para el estudio del paciente con Demencia. Grupo de estudio de Neurología de la conducta y demencias. Sociedad Española de Neurología. Edit Masson. 2002

Acosta GB. Misterios y realidades de la enfermedad de Alzheimer pag 70-80. Revista Farmacéutica. Reviews volumen 155 N° 1-2 – Año 2013

Advenier C, Joos G, Molimard M, Lagente V and Pauwels R. Role of tachykinins as contractile agonists of human airways in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29(5):579-584

Afan AM, Broome CS, Nicholls SE, Whetton AD, Miyan J A. Bone marrow innervation regulates cellular retention in the murine haemopoietic system. *Br J Haematol* 1997;98:569-577.

Ageta H, Murayama A, Migishima R, Kida S, Tsuchida K, Yokoyama M, et al. Activin in the brain modulates anxiety-related behavior and adult neurogenesis. *PLoS ONE* 2008; 3: e1869.

Alayón A et al. Implicación diagnóstica y terapéutica de la valoración neuropsicosocial integral en el paciente neurológico, pag 29-65. Alzheimer 2009: transformando en presente el futuro.2009. Edit Aula Medica. Madrid.

Alberini CM. Genes to remember. *J Exp Biol.* 1999;202(Pt 21):2887-2891.

Albert MJ, Martínez R, Gutiérrez A, Hakim D, Pérez G. Patogenia y tratamientos actuales de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Cubana Farm.* 2014; 48(3)).

Alfieri, AB; Cubeddu, LX. Efectos de los Antagonistas de los Receptores NK1 y de la Dexametasona sobre la inflamación neurogénica inducida por ciclofosfamida y por radiación X, en la rata. *Arch. venez. farmacol. ter;*2004; 23(1):61-66.

Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965; 124:319-35

Álvarez Sánchez Mario, et al. Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer *Rev Mex Neuroci* 2008; 9(3): 196-201

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Álvarez Sánchez Mario, Pedroso Ivonne, de la Fe Amado, Padrón Sánchez Arnoldo, Álvarez Sánchez Marilet, Álvarez Lázaro. *Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer* Rev Mex Neuroci 2008; 9(3): 196-201.

Alzheimer A. A new disease of the cortex (Ger). *Allg Z Psychiatr* 1907; 64: 146-8).

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (4th ed., text revised) DSM-IV-TR. Washington, DC (US): American Psychiatric Association; 2000.

Angoa Pérez Mariana, Rivas Arancibia Selva. Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia? *Arch Neurocién (Mex)* 2007; Vol 12, No. 1: 45-54.

Angoa Pérez P, Rivas Arancibia S Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia? *Arch Neurocién (Mex)* Vol 12, No. 1: 45-54, 2007

Ankarcrona M. Glutamate induced cell death: apoptosis or necrosis? *Prog Brain Res* 1998; 116: 265-72.

Anmu Xie et al. Review Article Shared Mechanisms of Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, Article ID 648740, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/648740>

Arif M et al. Effects of memantine on soluble Alphasyn(25-35)-induced changes in peptidergic and glial cells in Alzheimer's disease model rat brain regions. *Neuroscience*. 2009 Dec 15; 164(3):1199-209. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.08.063. Epub 2009 Sep 4

Asanuma M, Miyazaki I, Ogawa N. Neuroprotective effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on neurodegenerative diseases. *Curr Pharm Des* 2004;10:695-700.

Asanuma M, Miyazaki I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease: possible involvement of quinone formation. *Expert Rev Neurother* 2006; (9):1313-25.

Asociación Americana de Psiquiatría. *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, cuarta edición (DSM-IV)*. Madrid: Masson; 1995.

Ávila J. Tau aggregation into fibrillar polymers: tauopathies. *FEBS Lett*. 2000;30:89-92

Azzari C, Rossi ME, Resti M, Caldini AL, Lega, L, Galli L, Fico E, Vierucci A. Changed levels of substance P and somatostatin in HIVpositive children. *Pediatr Med Chir* 1992;14:577-581.

Bachstetter AD, Pabon MM, Cole MJ, Hudson CE, Sanberg PR, Willing AE, et al. Peripheral injection of human umbilical cord blood stimulates neurogenesis in the aged rat brain. *BMC Neurosci* 2008; 9: 22.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Barger, S., Hörster, D., Furukawa, K., Goddman, Y., Krieglstein, J. et al. Tumor necrosis factors alpha and beta protect against APP toxicity: evidence for involvement of a kB-binding factor and attenuation of peroxide and Ca²⁺ accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92 : 9328-9332.

Bargmann W.. Ed. B. Berde, Springer Velag. New York. Neurohypophysal hormone and similar polypeptides 1968.

Barker R. Substance P and neurodegenerative disorders: a speculative review. *Neuropeptides* 1991;20:73-78.

Barry R. Alzheimer's Disease. En: *Comprehensive Review of Geriatric Psychiatric J.* Cap. 14. American Association for Geriatric Psychiatry; 1996.p.401-58

Beal M F., Mazurek MF. Substance P-like immunoreactivity is reduced in Alzheimer's disease cerebral cortex. *Neurology* 1987;37(7):1205-1209.

Beal MF et al. Neuropeptides in Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl.* 1987;24:163-74. PMID:2445913 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Beaudreau SA, Kaci Fairchild J, Spira AP, Lazzeroni LC, O'Hara R. Neuropsychiatric symptoms, apolipoprotein E gene, and risk of progression to cognitive impairment, no dementia and dementia: the Aging, Demographics, and Memory Study (ADAMS). *Int J Geriatr Psychiatry* 2013; 28: 672-80.

Becker M, Lavie V, Solomon B. Stimulation of endogenous neurogenesis by anti-EFRH immunization in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 1691-6.

Berger M, Neth O, Ilmer M, Garnier A, Salinas-Martín MV, de Agustín Asencio JC, von Schweinitz D, Kappler R, et al. Hepatoblastoma cells express truncated neurokinin-1 receptor and can be inhibited by aprepitant in vitro and in vivo. *J. Hepatol.* 2014 60 985–994

Bermejo F et al. Síndrome Confusional agudo(delirium) Capit 4. Pag 15-19 En Guía de demencias. Conceptos criterios y recomendaciones para el estudio del paciente con demencia. Revisión 2002. Edit Masson Barcelona 2003.

Berr C, Wancata J, Ritchie K. Prevalence of dementia in the elderly in Europe. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005;15(4):463-71.

Bessa J et al. meis1 regulates cyclin D1 and c-myc expression, and controls the proliferation of the multipotent cells in the early developing zebrafish eye. *Development* 2008; 135: 799-803.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Betancur C, Azzi M, Rostene W. Non peptide antagonists of neuropéptido receptors: tools for research and therapy. *Trends Physiol Sci* 1997; 18:372-386.

Bettens Karolien, Slegers Kristel, Van Broeckhoven, Christine. Genetic insights in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2013; 12: 92-10

Bjorklund H, Eriksdotter-Nilsson M, Dahl D, Rose G, Hoffer B, Olson L. Image analysis of GFAPpositive astrocytes from adolescence to senescence. *Exp Brain Res* 1985;58: 163-170.

Blalock JE. Harnessing a neural-immune circuit to control inflammation and shock. *Exp Med* 2002;195:25-28.

Blasko, I., Marx, F., Steiner, E., Hartmann, T., Grubeck-Loebenstein, B. TNFalpha plus IFNgamma induce the production of Alzheimer beta amyloid peptides and decrease the secretion of APPs. *FASEB J.* 1999; 13 : 63-68.

Blessed G, Tomlinson BE, Roth M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry* 1968; 114: 797-811

Bobryshev YV. Subset of cells immunopositive for neurokinin-1 receptor identified as arterial interstitial cells of Cajal in human large arteries. *Cell Tissue Res* 2005; 321 (1): 45-55.

Bonilla E, Tanji K, Hirano M, Vu TH, DiMAuro S, Schon EA. Mitochondrial involvement in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1999;1410(2):171-82.

Bountra C, Bunce K, Dale T, Garner C, Jordan C, Twissell D, Ward P. Anti-emetic profile of a nonpeptide neurokinin NK1 receptor antagonist, CP-99,994 in ferret. *Eur J Pharmacol* 1993; 249:R3-R4.

Boyd, B. *Drug News Perspect.* 2000, 13, 425.

Braak H, Braak E, Yilmazer D, et al. (1994) Amygdala pathology in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 1994; 88: 493-500.

Braak H. and Del Tredici K., "Alzheimer's pathogenesis: is there neuron-to-neuron propagation?" *Acta Neuropathologica*, vol. 121, no. 5, pp. 589-595, 2011.(a)

Braak H., Thal D. R., Ghebremedhin E., and Del Tredici K., "Stages of the pathologic process in alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol. 70, no. 11, pp. 960-969, 2011. (b)

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Braak Heiko and Braak Eva. Cortical destruction and cell death in Alzheimer's disease. pp. 497-507. En: Koliatsos, Ratan. Cell death and diseases of the nervous system. Ed. Humana Press. 1999.

Brener S, Gonzalez-Moles MA, Tostes D, Esteban F, Gil-Montoya JA, Ruiz-Avila I, Munoz M. A role for the substance P/NK-1 receptor complex in cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2009;29: 2323-2329.

Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, et al. Progesterone receptors: form and function in brain. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29: 313-39,

Brinton RD, Wang JM. Therapeutic potential of neurogenesis for prevention and recovery from Alzheimer's disease: allopregnanolone as a proof of concept neurogenic agent. *Curr Alzheimer Res* 2006; 3: 185-90.

Broe GA, DA Grayson, HM Creasey, LM Waite, BJ Casey, HP Bennett, WS Brooks and GM Halliday. Antiinflammatory drugs protect against Alzheimer's disease at low doses. *Arch. Neurol.* (2000)57, 1586-1591.

Brown ER, Roth KA, Krause JE. Sexually dimorphic distribution of substance P in specific anterior pituitary cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1222-1226.

Brownbill P, Bell NJ, Woods RJ, Lowry PJ, Page NM, Sibley CP. Neurokinin B is a paracrine vasodilator in the human fetal placental circulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2164e70.

Bubber P, Haroutunian V, Fisch G, Blass JP, Gibson GE. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain: mechanistic implications. *Ann Neurol.* 2005;57:695-703. 47.

Buck SH, Burcher E. The tachykinins: a family of peptides with a brood of receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 1986; 7: 65-68.

Bueno Rodríguez Inmaculada. Tesis doctoral: Niveles de sustancia P en sangre de cordón umbilical en neonatos a término. 2014.

Burcher E, Buck SH, Lovenberg W, O'Donohue TL. Characterization and autoradiographic localization of multiple tachykinin binding sites in gastrointestinal tract and bladder. *Journal Pharmacology* March 1986 vol. 236 no. 3 819-831.

Bustamante, E. Pág. 6. Las células nerviosas. En: "El Sistema Nervioso: desde las neuronas hasta el cerebro." Universidad de Antioquia 2007;6:91-99.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Butovsky O, Koronyo-Hamaoui M, Kunis G, Ophir E, Landa G, Cohen H, et al. Glatiramer acetate fights against Alzheimer's disease by inducing dendritic-like microglia expressing insulin-like growth factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 11784-9.

Butterfield DA, Perluigi M, Sultana R. Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: New insights from redox proteomics. *Eur J Pharmacol* 2006;545:39-50.

Butterfield DA. Amyloid β -peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. *Free Rad Res* 2002;36:1307-1313.

C Saura Antolin. Capitulo 1 Etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer : Beta amiloide y tau, pag 111. En: *Alzheimer 2012. 200 años de constitución y "viva la Pepa"*. Estimular el ingenio, reserva cognitiva y Alzheimer. Edit enfoque editorial. Fundación Gruenthal.2012.

Caberloto L, Hurd YL, Murdock P, Wahlin JP, Melotto S, Corsi M, Carletti R. Neurokinin 1 receptor and relative abundance of the short and long isoforms in the human brain. *Eur J Neurosci* 2003; 17:1736-46.

Cacabelos R, Alvarez XA, Fernandez-Novoa L, Franco A, Mangués R, Pellicer A, et al. Brain interleukin-1 beta in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1994 Mar;16(2):141-51.

Cameron B and G. E. Landreth, "Inflammation, microglia, and Alzheimer's disease," *Neurobiology of Disease*, vol. 37, no. 3, pp. 503–509, 2010.

Cameron B et al. Inflammation, Microglia and Alzheimer's Disease *Neurobiol Dis*. 2010 March ; 37(3): 503–509. doi:10.1016/j.nbd.2009.10.006. Gibson G, Hsueh-Meei Huang. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2005;26:575-8.

Campisi J. Cancer, aging and cellular senescence. *In Vivo* 2000; 14: 183-8.

Camras CB, Bito LZ. The pathophysiological effects of nitrogen mustard on the rabbit eyes II. The inhibition of the initial hypertensive phase by capsaicin and the apparent role of substance P. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980;19:423-428.

Canzoniero LM, Snider BJ. Calcium in Alzheimer's disease pathogenesis: too much, too little or in the wrong place? *J Alzheimers Dis*. 2005, 8(2):147-54.

Cao YQ, Mantyh PW, Carlson EJ, Gillespie AM, Epstein CJ, Basbaum AI. Primary afferent tachykinins are required to experience moderate to intense pain. *Nature* 1998;392: 390-394.

Casado I, Calatayud T. Epidemiología y factores de riesgo. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J, editores. *Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y*

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

recomendaciones 2009. Barcelona: Prous Science, SAU. Thomson Reuters. Guías oficiales de la Sociedad Española de Neurología Nº 8; 2009. p. 23-50.

Castagliuolo I, Morteau O, Keates AC, Valenick L, Wang CC, Zacks J, Lu B, Gerard NP, Pothoulakis C. Protective effects of neurokinin-1 receptor during colitis in mice: role of the epidermal growth factor receptor. *Br J Pharmacol* 136: 271–279, 2002.

Castagliuolo I, Riegler M, Pasha A, Nikulasson S, Lu B, Gerard C, Gerard NP, Pothoulakis C. Neurokinin-1 (NK-1) receptor is required in *Clostridium difficile*-induced enteritis. *J Clin Invest* 1998;101:1547-1550.

Castellani R, Hirai K, Aliev G, Drew KL, Nunomura A, Takeda A, et al. Role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 2002;70(3):357- 60.

Castro-Obregón S, del Río G, Chen S.F, Swanson R.A, Frankowski H. A ligand-receptor pair that triggers a non-apoptotic form of programmed cell death. *Cell Death Differ.* 2002; 9, 807-817.

Chang MM, Leeman SE and Niall HD. Amino acid sequence of substance P. *Nature New Biol* 1971;232:86-87.

Chan-Palay V, Jonsson E and Palay SL. Serotonin and substance P coexist in neurons of the rat's central nervous system. *Proc Natl Acad Sci.* 1978; 75:1582-86.

Chapman RW, Hey JA, McLeod R, Minnicozzi M, Rizzo C. Tachykinins in the lungs. *Drug News Perspect* 1998;11:480-489.

Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H et al. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature* 1991; 353 (6347): 844-6.

Chavolla-Calderon M, Bayer MK and Fontan JJ. Bone marrow transplantation reveals an essential synergy between neuronal and hemopoietic cell neurokinin production in pulmonary inflammation. *J Clin Invest* 2003;111:973-980.

Chen Ch-Z, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs Modulate Hematopoietic Lineage Differentiation. *Science* 2 January 2004: Vol. 303 no. 5654 pp. 83-86

Chen GJ, J Xu, SA Lahousse, NL Caggiano and SM de la Monte. Transient hypoxia causes Alzheimer-type molecular biochemical abnormalities in cortical neurons: potential strategies for neuroprotection. *J. Alzheimer's Dis.* (2003) 5, 209-228.

Chiurchiu V and M. MacCarrone, "Chronic inflammatory ` disorders and their redox control: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities," *Antioxidants and Redox Signaling*, vol. 15, no. 9, pp. 2605–2641, 2011.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J* 1997; 326: 116.

Coiro V., Capretti L., Volpi R., Davoli C., Marcato A., Cavazzini U., Caffarri G., Rossi G., Chiodera P. Stimulation of ACTH/Cortisol by Intravenously Infused Substance P in Normal Men: Inhibition by Sodium Valproate. *Neuroendocrinology* 1992;56:459–463

Colton CA. Products of the activate microglia: their role in chronic neurodegenerative disease. In Ling Tan EA, Tan CK, CBC, eds. *Topical Issues in Microglia*. Singapur: Research Neuroscience Association; 1996. p. 25578.

Combs, C.K., Karlo, J.C., Kao, S-C., Landreth, G.E. Beta-Amyloid stimulation of microglia and monocytes results in TNFalpha-dependent expression of inducible nitric oxide synthase and neuronal apoptosis, *J. Neurosci.* 2001; 21: 1179-1188.

Cook GA, Elliott D, Metwali A, Blu AM, Sandor M, Lynch R, Weinstock JV. Molecular evidence that granuloma T lymphocytes in murine *Schistosomiasis mansoni* express an authentic SP (NK1)receptor. *J Immunology* 1994;152:1830-1835.

Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261 (5123): 921-3.

Corral M, Shoffner J M, Lott MT, Wallace DC. *Mutat. Res.* 1992;275:169.

Corrigan Fet al. Inflammation in acute CNS injury: a focus on the role of substance P. *Br J Pharmacol.* 2015 Apr 1. doi: 10.1111/bph.13155.

Corujo E et al. Valoración Geriátrica Integral". En: Castañeda García PJ (ed): *Gerontología Básica*. Santa Cruz de Tenerife: Arte, 2007; 23-39

Coveñas, R.; Muñoz, M. Cancer progression and substance P. *Histol.Histopathol.*2014, 29, 881–890.

Cui QL, Yung WH, Chen L. Effects of substance P on neuronal firing of pallidal neurons in parkinsonian rats. *Neurosci Res* 2008;60:162-169.

Cummings, J. L.; Askin-Edgar, S. *CNS Drugs* 2000, 13, 385.

Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G, et al. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom Rev* 2005;24:55-99.

Dalsgaard CJ, Jonsson CE, Hijfelt T, and Cuello AC. Localization of substance P-immunoreactive nerve fibers in the human digital skin. *Experientia Base1* 1983;39:1018-1020.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

DamTV.; Quirion R. Pharmacological characterization and autoradiographic characterization of substance P receptors in guinea-pig brain. *Peptides* 1986;7:855-864

Danysz W. Neurotoxicity as a mechanism for neurodegenerative disorders: basic and clinical aspects. *Expert Opin Investig Drugs* 2001;10(5):985-9.

Daschil N, Kniewallner KM, Obermair GJ, Hutter-Paier B, Windisch M, Marksteiner J, Humpel C. L-type calcium channel blockers and substance P induce angiogenesis of cortical vessels associated with beta-amyloid plaques in an Alzheimer mouse model. *Neurobiol Aging*. 2015 Mar;36(3):1333-41. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.12.027. Epub 2014 Dec 31.

Davis EJ, Foster TD, Thomas WE. Cellular forms and functions of brain microglia. *Brain Res Bull* 1994; 34: 738.

De Biasi S, Rustoni A. Glutamate and substance P coexist in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc. Natl Acad Sci USA*. 1988; 85: 7820-24.

De Leo ME, Borrello S, Passantino M, Palazzotti B, Mordente A, Daniele A, et al. Oxidative stress and overexpression of manganese superoxide dismutase in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1998;250(3):173-6.

De Pedro-Cuesta J, Virués-Ortega J, Vega S, Seijo-Martínez M, Saz P, Rodríguez F, et al. Prevalence of dementia and major dementia subtypes in Spanish populations: a reanalysis of dementia prevalence surveys, 1990-2008. *BMC Neurol*. 2009;9:55.

De Vane CL. Substance P: a new era, a new role. *Pharmacotherapy* 2001;21:1061-1069.

Demencias. GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA EN EL SNS MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD. Edita: Ministerio de Ciencia e Innovación NIPO: en tramitación Depósito Legal: B. 34.475-2011.

Devan BD, White NM. Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. *J Neurosci*. 1999;19(7):2789-2798.

Dhib-Jalbut S, Arnold DL, Cleveland DW, Fisher M, Friedlander RM, Mouradian MM, et al. Neurodegeneration and neuroprotection in multiple sclerosis and other neurodegenerative diseases. *J Neuroimmunol* 2006;176(1-2):198-215

Donaldson LF, Haskell CA, Hanley MR. Messenger RNA localization and further characterization of the putative tachykinin receptor NK4 (NK3B). *Receptors Channels* 2001;7:259-72.

Dow AL, Russell DS, Duman RS. Regulation of activin mRNA and Smad2 phosphorylation by antidepressant treatment in the rat brain: effects in behavioral models. *J Neurosci* 2005; 25: 4908-16.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, BarbergerGateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6: 734-46. 14.

Duke RC. Apoptosis in cytotoxic T lymphocytes and their targets. *Semin Immunol* 1992; 4: 407-12.

Duyckaerts C, Colle MA, Dessi F et al. The progression of the lesions in Alzheimer disease: insights from a prospective clinicopathological study. *J Neural Transm Suppl* 1998; 53: 119-26.

E. Thornton and R. Vink, "Treatment with a substance preceptor antagonist is neuroprotective in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of early Parkinson's disease," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 4, Article ID e34138, 2012.

Eichenbaum H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci*. 2000;1(1):41-50.

Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 2000;52:595-638.

Emonds-Alt X., Proietto V., Steinberg R. et al. (2002) SSR240600 [(R)- 2-(1-{2-[3,5-bis(trifluoromethyl)-phenyl]acetyl}-2-(3,4-dichlorophenyl)-2-morpholinyl]ethyl)-4-piperidinyl]-2-methylpropanamide], a centrally active nonpeptide antagonist of the tachykinin neurokinin-1 receptor. I. Biochemical and pharmacological characterization.

Engelhardt E et al. Alzheimer's 100th anniversary of death and his contribution to a better understanding of Senile dementia. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015 Feb;73(2):159-62.

Engin E, Treit D. The role of hippocampus in anxiety: intracerebral infusion studies. *Behav Pharmacol*. 2007;18(5-6):365-374.

Erspamer V. The tachykinin peptide family. *Trends Neuroscience* 1981; 4:267-269.

Etminan M, S Gill and A Samii. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on risk of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. (2003) *BMJ* 327, 128-131.

Eurostat (Statistical Office of the European Communities). Disponible en: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>

Fabricius K, et al. The impact of maternal separation on adult mouse behaviour and on the total neuron number in the mouse hippocampus. *Brain Struct Funct* 2008; 212: 403-16.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Farfara D, V. Lifshitz, and D. Frenkel, "Neuroprotective and neurotoxic properties of glial cells in the pathogenesis of Alzheimer's disease: alzheimer's Review Series," *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 12, no. 3, pp. 762–780, 2008.

FASEB J 2007; 21: 2400-8.

Fehder, W.P. Alterations in immune response associated with anxiety in surgical patients. *CNRA* 1999, 10, 124–129.

Feistritzer C, Clausen J, Sturn DH, Djanani A, Gunsilius E, Wiedermann CJ, Kahler CM. Natural killer cell functions mediated by the neuropeptide substance P. *Regul Pep* 2003;116: 119-126.

Fernández CI, Alberti E, Mendoza Y, Martínez L, Collazo J, Rosillo JC, et al. Motor and cognitive recovery induced by bone marrow stem cells grafted to striatum and hippocampus of impaired aged rats: functional and therapeutic considerations. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019: 48-52.].

Fernández CI, Collazo J, Bauza Y, Castellanos MR, Lopez O. Environmental enrichment-behavior-oxidative stress interactions in the aged rat: issues for a therapeutic approach in human aging. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019: 53-7.

Fernández-Verdecia CI et al. Neurogénesis y Alzheimer. *Rev Neurol* 2009; 49 (4): 193-201

Ferrer I. Neuropatología de las demencias. En: López-Pousa et al. (eds.): *Manual de demencias*. Barcelona: Prous Science, 1996.

Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112-7.

Figiel I, Kaczmarek L. Cellular and molecular correlates of glutamate-evoked neuronal programmed cell death in the in vitro cultures of rat hippocampal dentate gyrus. *Neurochem Int* 1997; 31: 229-40.

Figini M, Emanuelli C, Bertrand C, Sicuteri R, Regoli D, Geppetti P. Differential activation of the epithelial and smooth muscle NK1 receptors by synthetic tachykinin agonists in guinea-pig trachea. *Br J Pharmacol* 121: 773–781, 1997

Fillit HM, Kemeny E, Luine V, Weksler ME, Zabriskie JB. Antivascular antibodies in the sera of patients with senile dementia of the Alzheimer's type. *J Gerontol*. 1987 Mar;42(2):180-4.

Forstl H. What is Alzheimer's disease? . Edit O'Brien Jet al. *Dementia* 2ª ed. Londres: Arnold 2000; 371-382)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Foster KA, Galeffi F, Gerich FJ, Turner DA, Müller M. Optical and pharmacological tools to investigate the role of mitochondria during oxidative stress and neurodegeneration. *Prog Neurobiol* 2006;79:136-71

Fras C, Kravetz P, Mody DR, Heggeness MH. Substance P-containing nerves within the human vertebral body. an immunohistochemical study of the basivertebral nerve. *Spine J* 2003;3:63-67.

Friess H, Zhu Z, Liard V, et al. Neurokinin-1 receptor expression and its potential effects on tumor growth in human pancreatic cancer. *Lab Invest* 2003; 83:731-742.

Frisoni GB, Winblad B, O'Brien JT. Revised NIA-AA criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: a step forward but not yet ready for widespread clinical use. *Int Psychogeriatr* 2011; 23: 1191-6.

Fuller S, M. Steele, and G. Munch, "Activated astroglia during chronic inflammation in Alzheimer's disease—do they neglect their neurosupportive roles?" *Mutation Research—Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 690, no. 1-2, pp. 40–49, 2010.

Furness JB, Costa M. *The Enteric Nervous System*. Churchill Livingstone. New York. 1987.

Furness JB, Papka RE, Della NG, Costa M, Eskay RL. Substance P-like immunoreactivity in nerves associated with the vascular system of guinea-pigs. *Neuroscience* 1982;7:447-459

Gai WP, Halliday GM., Blumbergs PC, Geffen LB, & Blessing WW. Substance P-containing neurons in the mesopontine tegmentum are severely affected in Parkinson's disease. *Brain* 1991;114(Pt 5):2253-2267.

Gallicchio M, Rosa AC, Benetti E, Collino M, Dianzani C, Fantozzi R. Substance P-induced cyclooxygenase-2 expression in human umbilical vein endothelial cells. *Br J Pharmacol* 2006; 147:681e9.

García de la Rocha ML et al. Criterios diagnósticos sindrómicos de demencia. Pag 3-13. Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones. Barcelona: Sociedad Española de Neurología (SEN); 2002.

García-Marín V et al. Cajal's contributions to the study of Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis*. 2007 septiembre; 12 (2): 161-74. PMID: 17917161 [PubMed - Medline]

Gazulla J. , Cavero-Nagore M.. Glutamato y enfermedad de Alzheimer *Rev Neurol* 2006; 42 (7): 427-432.

Geddes JW. Peters A, Morrison JH, eds. Glutamate receptors and excitotoxic mechanisms in Alzheimer's disease. In *Neurodegenerative and age-related changes in structure and function*

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

of cerebral cortex. *Cerebral cortex*. Vol. 14. New York: Kluver Academic/Plenum Publishers; 1999a. p. 655-79.

Geerts H. The tau protein in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Reports* 1998; 1 (Suppl 1): S7-S8.

Genes Brain Behav 2008; 7 (Suppl 1): 28-42.]

Gerard NP, Garraway LA, Eddy RL, Jr, Shows TB, Iijima H, Paquet JL, Gerard C. Human substance P receptor (NK-1): organization of the gene, chromosome localization, and functional expression of cDNA clones. *Biochemistry* 1991;30:10640-10646.

Gether U, Johansen TE, Snider RM, Lowe AJ, Nakanishi S, Schwartz TW. Different binding epitope for substance P and the non-peptide antagonist, CP 96,345 on the NK1 receptor. *Nature* 1993;362:345-348.

Giannakopoulos P, Hof PR, Bouras C. Selective vulnerability of neocortical association areas in Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech* 1998; 43: 1623.

Giardina GAM, Gagliardi S and Martinelli M. Antagonists at the neurokinin receptors. Recent patent literature. *Drugs* 2003;6:758-772

Gibran N S, Jang YC, Isik FF, Greenhalgh DG, Muffley LA, Underwood RA, Olerud JE. Diminished neuropeptide levels contribute to the impaired cutaneous healing response associated with diabetes mellitus. *J Surg Res* 2002;108:122-128.

Gidron Y, Perry H, Glennie M. Does the vagus nerve inform the brain about preclinical tumours and modulate them? *Lancet Oncol* 2005;6:245-248.

Gil-Gregorio P. Demencia y Parkinson. *Psicogeriatría* 2008; 0: 29-30.

Goldgaber, D., Harris, H.W., Hla, T., Maciag, T., Donnelly, R.J. et al. Interleukin 1 regulates synthesis of amyloid beta-protein precursor mRNA in human endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989; 86 : 7606-7610.

Goldsmith, L.E.; Kwatra, M.M. NK1 (substance P) receptor. *UCSD Mol. Pages* 2012, 2012, 1,10-16.

Goldstein D.J., Offen W.W., Klein E.G. et al., "Lanepitant, and NK-1 antagonist, in migraine prevention," *Cephalalgia*, vol. 21, no. 2, pp. 102-106, 2001.

Gómez. Isla T. La hipótesis amiloide. En: Martínez JM, Pascual LF. *En Alzheimer 2003: ¿Qué hay de nuevo?* Cap. 5. Madrid: Ed. Aula Médica; 2003. p. 74-82.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Gonsalves S, Watson J, Ashton C. Broad spectrum antiemetic effects of CP-122,721, a tachykinin NK1 receptor antagonist, in ferrets. *Eur J Pharmacol* 1996;305:181-185.

González Moles MA, Esteban F, Ruiz-Avila I, Gil Montoya JA, Brener S, Bascones-Martinez A, Muñoz M. A role for the substance P/NK-1 receptor complex in cell proliferation and apoptosis in oral lichen planus. *Oral Dis* 2009;15:162-169.

González Moles MA, Mosqueda-Taylor A, Esteban F, Gil-Montoya JA, Diaz-Franco MA, Delgado M, Muñoz M. Cell proliferation associated with actions of the substance P/NK-1 receptor complex in keratocystic odontogenic tumours. *Oral Oncol* 2008;44:1127-1133.

Grady EF, Garland AM, Gamp PD, Lovett M, Payan DG, Bunnett NW. Delineation of the endocytic pathway of substance P and its seven transmembrane domains NK1 receptor. *Mol BiolCell* 1995;6:509-524.

Graeber B, Streit WJ. Microglia: immune network in the CNS. *Brain Pathol* 1990; 1: 25.

Graham GJ, Stevens JM, Page NM, Grant AD, Brain SD, Lowry PJ, Gibbins JM. Tachykinins regulate the function of platelets. *Blood* 2004;104:1058-1065.

Grant AD, Akhtar R, Gerard NP, & Brain SD. Neurokinin B induces oedema formation in mouse lung via tachykinin receptor-independent mechanisms. *J Physiol* 2002;543(Pt 3):1007-1014.

Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281: 1309-12.

Green SA, Alon A, Ianus J et al. Efficacy and safety of a neurokinin-1 receptor antagonist in postmenopausal women with overactive bladder with urge urinary incontinence. *J Urol* 2006;176:2535-40.

Grune T, Reinheckel T, Davies KJ. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J* 1997;11:526-34.

Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya; 2010. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AIAQS Núm. 2009/07. Pag 61-62

Gupta VB, Anitha S, Hegde ML, Zecca L, Garruto RM, Ravid R, et al. Aluminium in Alzheimer's disease: are we still at a crossroad? *Cell Mol Life Sci*. 2005 Jan;62(2):143-58.

Guyton & Hall, 2011, (modificada de Pennefather JN et al., 2004, p. 1448). En *Textbook of Medical Physiology*, 12 ed, capítulo 45. 2011

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Guyton & Hall. Clasificación de los neurotransmisores según el tipo de molécula y mecanismo de acción. *Textbook of Medical Physiology*, 12 ed, 2011, capít 45.

HaberSN, Groenewegen HJ, Grove EA, Nauta WJH. Efferent connections of the ventral pallidum: Evidence of a dual striato pallidofugal pathway. *Journal of Comparative Neurology*. Volume 235, Issue 3, pages 322–335, 15 May 1985

Hagermark O, Hokfelt T, Pernow B. Flare and itch induced by substance P in human skin. *J Invest Dermatol* 1978;71: 233-235.

Halestrap AP, Doran E, Gillespie JP, O’Toole A. Mitochondria and cell death. *Biochem Soc Trans* 2000; 28: 1707.

Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992;119:598-620)

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3th Edition. Oxford University Press, Oxford. 1999

Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 1994;52:253-265. 84.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *J Neurochem* 2006; 97(6)1634-58

Hanger DP, Betts JC, Loviny TL et al. New phosphorylation sites identified in hyperphosphorylated tau (paired helical filament-tau) from Alzheimer's disease brain using nano-electrospray mass spectrometry. *J Neurochem* 1998; 71 (6): 2465-76

Hanisch, U.K. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002; 40 : 140-155.37.

Hardy J., Selkoe D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002; 297(5580): 353–356. doi: 0.1126/science.1072994.

Harmar AJ, Hyde V, Chapman K. Identification and cDNA sequence of delta-preprotachykinin, a four splicing variant of the rat substance P precursor. *FEBS Lett* 1990; 275:22-24.

Harrison S, Geppetti P. Substance P. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:555-576.

Hartung HP, Toyka KV. Substance P, the immune system and inflammation. *Int Rev Immunol* 1989;4:229-249.

Harvey RJ, Skelton-Robinson M, Rossor MN. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(9):1206-9.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Hendry SHC, Jones E.G. Activity-dependent regulation of GABA expression in the visual cortex of adult monkeys. *Volume 1, Issue 8, p701–712, October 1988.*

Hennig IM, Laissue JA, Horisberger U and Reubi JC. Substance-P receptors in human primary neoplasms: tumoral and vascular localization. *Int. J. Cancer. 1995 61 786–792*

Herpfer I., Lieb K. Substance P and substance P receptor antagonists in the pathogenesis and treatment of affective disorders. *The World Journal of Biological Psychiatry. Volume 4, Issue 2, p 56-63. 2003*

Herrera-Rivero M, HernándezAguilar ME, Manzo J, Aranda-Abreu GE. Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. *Rev Neurol 2010; 51: 153-64*

Hershey AD, Dykema PE, Krause JE. Organization, structure, and expression of the gene encoding the rat substance P receptor. *J Biol Chem. 1991; 226: 4366- 4374.*

Ho WZ, Lai JP, Zhu XH, Uvaydova M, Douglas SD. Human monocytes and macrophages express substance P and neurokinin-1 receptor. *J Immunol 1997; 159:5654-5660.*

Hofstater C, Dubiel M, Gudmundsson S. Two types of umbilical venous pulsations and outcome of high-risk pregnancy. *Early Hum Develop 2001; 61:111-117.*

Hökfelt T, Kellerth JO, Nilsson G and Pernow B. Substance P: Localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons. *Science 1975; 190: 889-890.*

Hökfelt T, Lundberg JM, Schultzberg M, Johansson O, Ljungdahl A and Rehfeld JF. Coexistence of peptides and putative transmitters in neurons. *Adv Biochem Psychopharmacol 1980; 22:1-23.*

Hökfelt T, Pernow B, Wahren J. Substance P: a pioneer amongst neuropeptides. *J Intern Med 2001; 249: 27-40.*

Hökfelt T, Vincent S, Dalsgaard CJ, Skirboll L, Johansson O, Schultzberg M, Lundberg JM, Rosell S, Pernow B, Jancso G. Distribution of substance P in brain and periphery and its possible role as a co-transmitter. *Ciba Found Symp 1982; 91:84-106.*

Holzer P, Holzer-Petsche U. Tachykinins in the gut. Part I. Expresión, release and motor function. *Pharmacol Ther 1997;73:173-217.*

Holzer, P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: Involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience 1988, 24, 739–768.*

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Hopkins B, Powell SJ, Danks P, Briggs I, Graham A. Isolation and characterisation of the human lung NK-1 receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;180:1110-1117.

Howland DS, Trusko SP, Savage MJ, Reaume AG, Lang DM, Hirsch JD, et al. Modulation of secreted beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-peptide in brain by cholesterol. *J Biol Chem*. 1998 Jun 26;273(26):16576-82.

Hroudová Jana, Singh Namrata, and Fišar Zdenjk. Review Article. Mitochondrial Dysfunctions in Neurodegenerative Diseases: Relevance to Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*. Volume 2014, Article ID 175062, 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/175062>

Hsieh HL and C. M. Yang, "Role of redox signaling in neuroinflammation and neurodegenerative diseases," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 484613, 18 pages, 2013.

http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_484_Alzheimer_AIAQS_compl.pdf (SNS 2011) Guía de Práctica Clínica sobre la Atención Integral a las Personas con Enfermedad de Alzheimer y otras

Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM, et al. Biomarker discovery for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2010;120:385-99.

Hu, J., Van Eldik, L.J. Glial-derived proteins activate cultured astrocytes and enhance beta amyloid-induced glial activation. *Brain Res*. 1999; 842 : 46-54.

Huang Y. Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Neurology*. 2006 Jan 24; 66(2 Suppl 1):S79-85.

Huete-Pérez J y Sentis E. Bases moleculares de la enfermedad de Alzheimer. Perspectivas de nuevos enfoques terapéuticos. *Encuentro 2007/ Año XXXIX, N° 78*, 121-135

Hughes SR, Williams TJ, Brain SD. Evidence that endogenous nitric oxide modulates edema formation induced by substance P. *Eur J Pharmacol* 1990;191:481-484.

Humpel, C.; Knaus, G.A.; Auer, B.; Knaus, H.G.; Haring, C.; Theodorsson, E.; Saria, A. Effects of haloperidol and clozapine on preprotachykinin mRNA tachykinin tissue level release and NK-1 receptors in the striatonigral system. *Synapse* 1990, 6, 1-9.

Hwang L, Leichter R, Okamoto A, Payan D, Collins SM, Bunnett N W. Downregulation of neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in the inflamed rat intestine. *Am J Physiol* 1993;264 :G735-743.

INE 2009. Anuario Estadístico de España [página en Internet]. Madrid: Instituto Nacional de Estadística. Disponible en: http://www.ine.es/prodyser/pubweb/anuarios_mnu.htm Eurostat

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

(Statistical Office of the European Communities). Disponible en: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>

Iqbal K, Alonso AC, Gong CX et al. Mechanisms of neurofibrillary degeneration and the formation of neurofibrillary tangles. *J Neural Transm Suppl* 1998; 53: 169-80.

Itsykson P et al. Derivation of neural precursors from human embryonic stem cells in the presence of noggin. *Mol Cell Neurosci* 2005; 30: 24-36.

Janelins BM, Mathers AR, Tkacheva OA, Erdos G, Shufesky WJ, Morelli AE, Larregina AT. Proinflammatory tachykinins that signal through the neurokinin 1 receptor promote survival of dendritic cells and potent cellular immunity. *Blood* 2009;113:3017-3026.

Jiang T. et al. Review. Novel Disease-Modifying Therapies for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 31 (2012) 475-492

Jiang Z, Dun NJ, Karczmar AG. Substance P: a putative sensory transmitter in mammalian autonomic ganglia. *Science* 1982; 217:739-741.

Jiao J et al. Induction of neurogenesis in nonconventional neurogenic regions of the adult central nervous system by niche astrocyte-produced signals. *Stem Cells* 2008; 26: 1221-30.

Jones EG. The Neuron Doctrine 1891. *J Hist Neurosci* 1994;3:3-20.

Jones S, Tucker KL, Sage T, Kaiser WJ, Barrett NE, Lowry PJ, Zimmer A, Hunt SP, Emerson M, Gibbins JM: Peripheral tachykinins and the neurokinin receptor NK1 are required for platelet thrombus formation. *Blood* 2008;111:605-612.

Jordan JD, Ma DK, Ming GL, Song H. Cellular niches for endogenous neural stem cells in the adult brain. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2007; 6: 336-41.

JPET 303, 1171-1179.

JPET 303, 1180-1188.

Kage R, Leeman SE, Boy ND. Biochemical characterization of two different forms of the SP receptor in rat submaxillary gland. *J Neurochem* 1993; 60: 347-351

Kage R, McGregor GP, Thim L. Neuropeptide- γ . A peptide isolated from rabbit intestine that is derived from γ -Preprotachykinin. *J Neurochem* 1988; 50:1412-17.

Kanazawa I., Jessell T. Post mortem changes and regional distribution of substance P in the rat and mouse nervous system. *Brain Research*. Volume 117, Issue 2, 26 November 1976, Pages 362-367

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Kang HS, Trzaska KA, Corcoran K, Chang VT, Rameshwar P. Neurokinin receptors: relevance to the emerging immune system. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. *Arch Immunol Ther Exp* 2004; 52:338-347.

Kangawa K, Minamino N, Fukuda A, Matsuo H. Neuromedin K: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;114:533-540

Kant V, Gopal A, Kumar D, Bag S, Kurade NP, Kumar A, Tandan SK, Kumar D. Topically applied substance P enhanced healing of open excision wound in rats. *Eur J Pharmacol* 2013;715:345-53.

Kao HT, Li P, Chao HM, Janoschka S, Pham K, Feng J, et al. Early involvement of synapsin III in neural progenitor cell development in the adult hippocampus. *J Comp Neurol* 2008; 507: 1860-70.

Kart-Teke E et al. Reinstatement of episodic-like memory in rats by neurokinin-1 receptor antagonism. *Neurobiol Learn Mem.* 2007 Mar;87(3):324-31. Epub 2006 Oct 31.

Kasai M et al. Wnt signaling regulates the sequential onset of neurogenesis and gliogenesis via induction of BMPs. *Genes Cells* 2005; 10: 777-83

Kavelaars A, Broeke D, Jeurissen F, Kardux J, Meijer A, Franklin R, Gelfand EW, Heijnen CJ. Activation of human monocytes via a non-neurokinin substance P receptor that is coupled to Gi protein, calcium, phospholipase D, MAP kinase, and IL-6 production. *J Immunol* 1994; 153:3691- 3699.

Kawaguchi Y, Hoshimaru M, Nawa H, Nakanishi S. Sequence analysis of cloned cDNA for rat substance P precursor: existence of a third substance P precursor. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;139:1040-1046.

Kawahara M, Kato-Negishi M. Link between aluminium and the pathogenesis of Alzheimer's disease: The integration of the aluminium and amyloid cascade hypotheses. *Int J Alzheimers Dis.* 2011;10:1-17.

Keller, M.; Montgomery, S.; Ball, W.; Morrison, M.; Snively, D.; Liu, G.; Hargreaves, R.; Hietala, J.; Lines, C.; Beebe, K.; et al. Lack of efficacy of the substance P (neurokinin-1 receptor) antagonist aprepitant in the treatment of major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 2006, 59, 216–223.

Kemel ML, Pérez S, Beaujouan JC, Jabourian M, Soubrie P, Glowinski J. *J Neurochem.* 2003 Oct; 87 (2): 487-96.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Kerdelhue B, Lenoir V, Scholler R, Jones HW, Jr. Substance P plasma concentration during the LH preovulatory surge of the menstrual cycle in the human. *Neuro Endocrinol Lett* 2006;27:359-364.

Kerdelhue B, Williams RF, Lenoir V, Fardin V, Kolm P, Hodgen GD, Jones HW, Jr. Variations in plasma levels of substance P and effects of a specific substance P antagonist of the NK(1) receptor on preovulatory LH and FSH surges and progesterone secretion in the cycling cynomolgus monkey. *Neuroendocrinology* 2000;71:228-236.

Kessler JA, Black IB. Regulation of substance P in adult rat sympathetic ganglia. *Brain Res* 1982;234:182-187.

Khann G et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939-944.

Kimball ES, Fisher MC. Potentiation of IL-1-induced BALB/3T3 fibroblast proliferation by substance P. *Ann N Y Acad Sci* 1988;540:681-683.

Kimura S, Okada M, Sugita Y, Kanazawa I, Munekata E. Novel neuropeptides: neurokinin α and β , isolated from porcine spinal cord. *Proc Jpn Acad* 1983; 59: 101-104.

Kincy-Cain T, Bost KL. Substance P-induced IL-12 production by murine macrophages. *J. Immunol* 1997;158:2334-2339.

Koon HW, Shih D, Karagiannides I, Zhao D, Fazelbhoj Z, Hing T, Xu H, Lu B, Gerard N, Pothoulakis C. Substance P modulates colitis-associated fibrosis. *Am J Pathol* 177:2300–2309, 2010.

Koon HW, Shih DQ, Hing TC, Chen J, Ho S, Zhao D, Targan SR, Pothoulakis C. Substance P induces CCN1 expression via histone deacetylase activity in human colonic epithelial cells. *Am J Pathol* 179: 2315–2326, 2011

Korolainen MA, Goldsteins G, Nyman TA, Alafuzoff I, Koistinaho J, et al. Oxidative modification of protein in the frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Aging* 2006;27(1):42-53

Kramer M. S., Winokur A., Kelsey J. et al., "Demonstration of the efficacy and safety of a novel substance P (NK1) receptor antagonist in major depression," *Neuropsychopharmacology*, vol. 29, no. 2, pp. 385–392, 2004.

Kramer MS, Cutler N, Feighner J, Shrivastava R, Carman J, Sramek JJ, Reines SA, Liu , Snively D, Wyatt-Knowles E, Hale JJ, Mills SG, MacCoss M, Swain CJ, Harrison T, Hill RJ, Hefti F, Scolnick EM, Cascieri MA, Chicchi GG, Sadowski S, Williams AR, Hewson L, Smith D, Carlson EJ,

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Hargreaves RJ and Rupniak NMJ. Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science* 1998;281:1640-1645

Krause JE, Takeda Y, Hershey AD. Structure, functions and mechanisms of Substance P receptor action. *J Invest Dermatol* 1992;98:2-7.

Krugel U, Bigl V, Eschrich K, et al. Deafferentation of the septo-hippocampal pathway in rats as a model of the metabolic events in Alzheimer's disease. *Int J Dev Neurosci.* 2001;19(3):263-277.

Kurtz MM, Wang R, Clements M, Cascieri M, Austin C, Cunnighan B, Chicchi G, Liu Q. Identification, localization and receptor characterization of novel mammalian substance P-like peptides. *Gene* 2002;296:205-212.

Lage J. M. M. 100 Years of Alzheimer's disease (1906–2006) *Journal of Alzheimer's Disease.* 2006;9(3):15–26. [PubMedLautenschlager NT, Cupples LA, Rao VS, Auerbach SA, Becker R, Burke J, et al. Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: what is in store for the oldest old? *Neurology* 1996; 46: 641-50.

Lai J-P, Douglas SD, Rappaport E, Wu JM, Ho WZ. Identification of a delta isoform of preprotachykinin mRNA in human mononuclear phagocytes and lymphocytes. *J Neuroimmunol* 1998;91:121-128.

Lambrecht BN, Germonpre PR, Everaert EG, Carro-Muino I, De Veerman M, de Felipe C, Hunt SP, Thielemans K, Joos GF, Pauwels RA. Endogenously produced substance P contributes to lymphocyte proliferation induced by dendritic cells and direct TCR ligation. *Eur J Immunol* 1999;29:3815-3825.

Lambrecht BN. Immunologists getting nervous: neuropeptides, dendritic cells and T cell activation. *Respir Res* 2001;2:133-138.

Lang K, Drell TL, Lindecke A, Niggemann B, Kaltschmidt C, Zaenker KS, Entschladen F. Induction of a metastatogenic tumor cell type by neurotransmitters and its pharmacological inhibition by established drugs. *Int J Cancer* 2004;112:231-238.

Lang K, Drell TL, Niggemann B, Zanker KS, Entschladen F. Neurotransmitters regulate themigration and cytotoxicity in natural killer cells. *Immunol Lett* 2003;90:165-172.

Langevin H, Emson P. Distribution of substance P, somatostatin and neurotensin in the human hypothalamus. *Brain Research.* Vol 246, Issue 1, 19 August 1982, Pages 65–69

Lasaga M, Debeljuk L. Tachykinins and the hypothalamo-pituitary-gonadal axis: An update. *Peptides* 2011;32:1972-78.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Lauderback CM, Hackett JM, Huang FF, Keller JN, Szweda LI, Markesbery WR, et al. The glial glutamate transporter GLT1, is oxidatively modified by 4-hydroxy-2-nonenal in the Alzheimer's disease brain: the role of Abeta1-42. *J Neurochem* 2001;78:413-16

Launer LJ, Hofman A. Frequency and impact of neurologic diseases in the elderly of Europe: a collaborative study of population-based cohorts. *Neurology* 2000; 54(supl.5):S1-S3.

Lazure C, Seidah NG, Pelaprat D, Chretien M. Proteases and posttranslational processing of prohormones: a review. *Can J Biochem Cell Biol* 1983;61:501-515.

Lee CM, Iversen LL, Hanley MR, Sandberg BEB. The possible existence of multiple receptors for substance P. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1982;318:281-287.

Lefkowitz R.J. The superfamily of heptahelical receptors. *Nature Cell Biology* 2000;2:133-136.

Lembeck F, Donnerer J, Tsuchiya M, Nagahisa A. The non-peptide tachykinin antagonist, CP-96,345, is a potent inhibitor of neurogenic inflammation. *Br J Pharmacol* 1992;105:527-530.

Lembeck F. Zur frage der zentrale ubertragung afferent impulse, III.Mitteilung. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch exp pathol Pharmacol* 1953;219:197-213.

Levesque M, Bedard MA, Courtemanche R, Tremblay PL, Scherzer P, Blanchet PJ. Raclopride-induced motor consolidation impairment in primates: role of the dopamine type-2 receptor in movement chunking into integrated sequences. *Experimental Brain Research*. October 2007, Volume 182, Issue 4, pp 499-508

Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E et al. A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science* 1995; 269 (5226): 970-3

Lewis K. M., Harford-Wright E., Vink R et al., "Walker 256 tumour cells increase substance P immunoreactivity locally and modify the properties of the blood-brain barrier during extravasation and brain invasion," *Clinical & Experimental Metastasis*, vol. 30, no. 1, pp. 1-12, 2012b.

Lewis K.M., Harford-Wright E., Vink R. et al., "Targeting classical but not Neurogenic inflammation reduces peritumoral edema in secondary brain tumors," *Journal of Neuroimmunology*, vol. 250, no. 1-2, pp. 59-65, 2012a

Lewis Kate Marie, Turner Renée Jade, and Vink Robert. Blocking Neurogenic Inflammation for the Treatment of Acute Disorders of the Central Nervous System. *International Journal of Inflammation* Volume 2013, Article ID 578480, 16 pages

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Lewis KM, Harford-Wright E, Vink R, Nimmo AJ and Ghabriel MN Walker 256 tumour cells increase substance P immunoreactivity locally and modify the properties of the blood brain barrier during extravasation and brain invasion. *Clin. Exp. Metastasis*. 2013b30 1–12

Li L., Cheung T., Chen J., and Herrup K., “A comparative study of five mouse models of Alzheimer’s disease: cell cycle events reveal new insights into neurons at risk for death,” *International Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 2011, Article ID 171464, 10 pages, 2011.

Li Y., L Liu, Barger SW, Griffin WST. Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *The Journal of neuroscience*, 2003. 1 March 2003, 23(5): 1605-1611.

Li Ying, Tan Meng-Shan, Jiang Teng, and Tan Lan. Microglia in Alzheimer’s Disease. *Review Article*. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 437483, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/437483>

Liang-Wei Chen, Li-Chun Wei, Hui-Ling Liu, Yong Qiu, Ying-Shing Chan. Cholinergic neurons expressing substance P receptor (NK₁) in the basal forebrain of the rat: a double immunocytochemical study. *Brain Research*. Volume 904, Issue 1, 15 June 2001, Pages 161–166

Lieb K, Engels S, Fiebich BL. Inhibition of LPS-induced iNOS and NO synthesis in primary rat microglial cells. *Neurochemistry international*, Volume 42, Issue 2, January 2003, p 131–137

Lieb, K.; Fiebich, B.L.; Berger, M.; Bauer, J.; Schulze-Osthoff, K. The neuropeptide substance P activates transcription factor NF-kappa β and kappa β -dependent gene expression in human astrocytoma cells. *Journal of Immunology* 1997, 159, 4952–4958.

Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443(7113):787-95.

Linder N, Rapola J, Raivio KO. Cellular expression of xanthine oxidoreductase protein in normal human tissues. *Lab Invest*. 1999;79:967-74.

Liu H, Mazarati AM, Katsumor H, Sankar R, Wasterlain C G. Substance P is expressed in hippocampal principal neurons during status epilepticus and plays a critical role in the maintenance of status epilepticus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:5286-5291.

Liu X, Zhu XZ. Roles of p53, cMyc, Bcl2, Bax and caspases in serum deprivation induced neuronal apoptosis: a possible neuroprotective mechanism of basic fibroblast growth factor. *Neuroreport* 1999; 10: 3087-91.

Liu Z, Sayre LM. Model Studies on the modification of proteins by lipoxidation-derived-2-hydroxyaldehydes. *Chem Res Toxicol* 2003; 16(2):232-41.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Ljungdahl A, Hokfelt T, Nilsson G. Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat--I. Cell bodies and nerve terminals. *Neuroscience* 1978; 3:861-943.

Lledías F, Hansberg W. Catalase modification as a marker for singlet oxygen. *Methods Enzymol* 2000;319:110-119.

Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, Andersen K, Di CA, Breteler MM, et al. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*. 2000;54(11 Suppl 5):S4-S9.

López de Munain A. Apo e y enfermedad de Alzheimer. En: Alberca R, López-Pousa S, eds. *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. Madrid: IM & C;1998,p.159-68.

López de Silanes de Miguel, Carlos. *Educaneuro. La investigación en la enfermedad de Alzheimer: últimos avances*. Centro de Investigación en Enfermedades Neurológicas (Fundación CIEN).2010

López de Silanes de Miguel, Carlos. *Neurólogo- Hospital de Torrejón Centro de Investigación en Enfermedades Neurológicas (Fundación CIEN)*

López-Álvarez, Jorge; Agüera-Ortiz, Luis F. Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: Una visión desde la psicogeriatría. *Psicogeriatría* 2015; 5 (1): 3-144

López-Ibor JJ, Valdés M. *DSM-IV-TR Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. Barcelona: Masson; 2005.

Lotz M, Carson DA, Vaughan JH. Substance P activation of rheumatoid synoviocytes: neural pathway in pathogenesis of arthritis. *Science* 1987; 235:893-5.

Lotz, M.; Vaughan, J.H.; Carson, D.A. Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science* 1988, 241, 1218–1221.

Lovestone S, McLoughlin DM. Protein aggregates and dementia: is there a common toxicity? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002; 72(2):152-61(109 pantallas). Disponible en: <http://jnnp.bmj.com/cgi/content/abstract/72/2/152>. Fecha de acceso: 29 de julio de 2002.

Lucotte G, David F, Legrand C et al. Predictive value of apolipoprotein E-4 allele genotyping in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research* 1997; 3 (1): 7-9.

Luo W, Sharif TR, Sharif M. Substance P-induced mitogenesis in human astrocytoma cells correlates with activation of the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *Cancer Res* 1996;56:4983-4991.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Luth, H., Munch, G., Arendt, T. Aberrant expression of NOS isoforms in Alzheimer's disease is structurally related to nitrotyrosine formation, *Brain Res.* 2002; 953 : 135-143.

MacDonald SG, Boyd ND. Regulation of substance P receptor affinity by guanine nucleotide binding proteins. *J Neurochem* 1989;53:264-272.

MacDonald SG, Dumas JJ, Boyd ND. Chemical cross-linking of the substance P (NK-1) receptor to the alpha subunits of the G proteins Gq and G11. *Biochemistry* 1996; 35:2909-2916.

Maggi CA, Giachetti A, Dey R D, Said SI. Neuropeptides as regulators of airway function: vasoactive intestinal peptide and the tachykinins. *Physiol Rev* 1995;75:277-322.

Maggi CA, Patacchini R, Rovero P, Giachetti A. Tachykinin receptors and tachykinin receptor antagonists. *J Auton Pharmacol* 1993;13:23-93.

Maggio JE. Tachykinins. *Annu Rev Neurosci* 1988; 11:13-28.

Maintz L, Wardelmann E, Walgenbach K, Fimmers R, Bieber T, Raap U, and Novak N. Neuropeptide blood levels correlate with mast cell load in patients with mastocytosis. *Allergy* 2011;66(7):862-869.

Malaterre J, et al. MI, et al. c-Myb is required for neural progenitor cell proliferation and maintenance of the neural stem cell niche in adult brain. *StemCells* 2008; 26: 173-81.

Mandari PS, Qian J, Yehia G, Seegopaul H P, Harrison J S, Gascon, P., Rameshwar P. Differences in the expression of neurokinin receptor in neural and bone marrow mesenchymal cells: implications for neuronal expansion from bone marrow cells. *Neuropeptides* 2002;36:13-21.

Martin FC, Anton PA, Gornbein JA, Shanahan F, merrill JE. Production of interleukin-1 by microglia in response to substance P: role for a non-classical NK-1 receptor. *J Neuroimmunol* 1993;42;53-60.

Martin FC, Charles AC, Sanderson MJ, Merill JE. Substance P stimulates IL-1 production by astrocytes via intracellular calcium. *Brain Research* 1992;599:13-18.

Martinez Lage JM et al. Alois Alzheimer, los enfermos Auguste D y Johan F y la noción de enfermedad de Alzheimer dentro de la neurociencia germana. En: Martinez Lage JM Khachaturian ZS (edit): *alzheimer XXI: Ciencia y Sociedad*. Barcelona: Masson, 2011; 77-86)

Martinez Lage JM et al. Enfermedad de Alzheimer pág 41-63). En: *Guías en Demencias*. Conceptos, criterios y recomendaciones para el estudio del paciente con demencia. Revisión 2002. Edit Masson. 2003.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Martinez Lage JM. En: Alzheimer 2006: enfermedad centenaria. Capit 1. 100 años de enfermedad de Alzheimer , pag 1-26. Edit Aula Médica ediciones. Madrid. 2006

Massi M, Gentili L, Perfumi M, De Caro G, Schulkin J. Inhibition of salt appetite in the rat following injection of tachykinins into the medial amygdala. [Brain Research. Volume 513, Issue 1](#), 9 April 1990, Pages 1–7.

Masu Y, Nakayama K, Tamaki, H, Harada Y, Kuno M, & Nakanishi S. cDNA cloning of bovine substance-K receptor through oocyte expression system. *Nature* 1987;329: 836-838.

Mato M, Ookawara S, Sakamoto A, Aikawa E, Ogawa T, Mitsuhashi U, et al. Involvement of specific macrophagelineage cells surrounding arterioles in barrier and scavenger function in brain cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 8326974.

Mauborgne A, Javoy-Agid F, Legrand JC, Agid Y, & Cesselin F. Decrease of substance P-like immunoreactivity in the substantia nigra and pallidum of parkinsonian brains. *Brain Res* 1983;268(1):167-170

McCord JM. Evolution of free radicals and oxidative stress. *AmJ Med* 2000; 108(8):652-9.

McGillis JP, Organist ML, Payan DG. Immunoaffinity purification of membrane protein constituents of the IM-9 lymphoblast receptor for substance P. *Anal Biochem* 1987b;164:502-513.

McGillis JP, Organist ML, Scriven KH, Payan DG. Purification of the 33,000-dalton ligand binding-protein constituent of the lymphoblast substance P receptor. *J Neurosci Res* 1987a;18:190-194

McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;34(7):939-44.

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute of Aging and the Alzheimer's Association workgroup. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 263-9.

McLean S. Do substance P and the NK1 receptor have a role in depression and anxiety? *Curr Pharm Des*. 2005; 11: 1529 a 4157

Mecocci PU, MacGarvey MF, Beal, *Ann Neurol*. 1994;36:747. 44.

Medrano, S.; Gruenstein, E.; Dimlich, R.V. Substance P receptors on human astrocytoma cells are linked to glycogen breakdown. *Neurosci.Lett*.1994, 167, 14–18.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Metwali A, Blum AM, Elliot DE, Setiawan T, Weinstock JV. Cutting edge: hemokinin has Substance P-like function and expression in inflammation. *J Immunol* 2004; 172: 6528-32.

Millan P.J., White S.S., Franklin A. et al., "Differential response of the central noradrenergic nervous system to the loss of locus coeruleus neurons in Parkinson's disease and Alzheimer's disease," *Brain Research*, vol. 1373, pp. 240–252, 2011.

Milner P, Kirkpatrick KA, Ralevic V, Toothill V, Pearson J, Burnstock G. Endothelial Cells cultured from human umbilical vein release ATP, substance P and acetylcholine in response to increased flow. *Proc Biol Sci* 1990; 22: 245-248.

Miloso M, Scuteri A, Foudah D, Tredici G. MAPKs as mediators of cell fate determination: an approach to neurodegenerative diseases. *Curr Med Chem* 2008; 15: 538-48.].

Mineta Y, Eisenberg E, Strassman AM. Distribution of Fos-like immunoreactivity in the caudal medullary reticular formation following noxious facial stimulation in the rat. *Exp Brain Res* 1995; 107: 34-8.)

Minghetti L. Role of inflammation in neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurobiol* 2005;18:315-21

Mirra SS, Heyman A, Mckeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, Vogel FS, Hughes JP, Van Belle G, Berg L. The Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). Part II.

Mitsikostas DD, Sánchez del Río M, Waeber C, et al. The NMDA receptor antagonist MK-801 reduces capsaicin-induced c-fos expression within rat trigeminal nucleus caudalis. *Pain* 1998; 76: 239-48.)

Moharita, A.; Harrison, J.S.; Rameshwar, P. Neurokinin receptors and subtypes as potential targets in breast cancer: Relevance to bone marrow metastasis. *Drug Res. Rev.* 2004, 1, 1–6.

Molinuevo JL, Peña-Casanova J, Grupo de estudio de neurología de la conducta y demencias. Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones. Barcelona: Sociedad Española de Neurología (SEN); 2009. Guía Nº 8.

Monaco-Shawver L, Schwartz L, Tuluc F, Guo CJ, Lai JP, Gunnam SM, Orange JS. Substance P inhibits natural killer cell cytotoxicity through the neurokinin-1 receptor. *J Leukoc Biol* 2011;89:113-125.

Moreira PM, Smith MA, Zhu X, Nanomura A, Castellani RJ, Perry G. Oxidative stress and neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043:545-52.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Morris C, Heyman JA, Mohs RC, Hughes JP, Van Belle G, Fillenbaum G, Mellits ED, Clark C. The Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD).Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1989; 39: 1159-1165.

Morris D et al. Wnt expression in the adult rat subventricular zone after stroke. *Neurosci Lett* 2007; 418: 170-4.

Mravec B, Gidron Y, Kukanova B, Bizik J, Kiss A, Hulin I. Neuralendocrine-immune complex in the central modulation of tumorigenesis: facts, assumptions, and hypotheses. *J Neuroimmunol* 2006;180:104-116.

Multhaup G, Scheuermann S, Schlicksupp A, Simons A, Strauss M, Kemmling A, et al. Possible mechanisms of APP-mediated oxidative stress in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*. 2002 Jul 1;33(1):45-51.

Muñoz M., Coveñas R. Review. Targeting NK-1 Receptors to Prevent and Treat Pancreatic Cancer: a New Therapeutic Approach *Cancers* 2015b, 7, 1215-1232.

Muñoz M, Coveñas R. NK-1 Receptor Antagonists: A New Paradigm in Pharmacological Therapy. *Current Medicinal Chemistry* 2011; 18: 1820-1831.

Muñoz M, González-Ortega A, Coveñas R. The NK-1 receptor is expressed in human leukemia and is involved in the antitumor action of aprepitant and other NK-1 receptor antagonists on acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Invest New Drugs*. 2010; 529-40.

Muñoz M, Pavón A, Rosso M, Salinas M.V., Pérez A., Carranza A., González-Ortega A. Immunolocalization of NK-1 Receptor and Substance P in Human Normal Placenta. *Placenta* 31 (2010c) 649-651

Muñoz M, Pérez A, Coveñas R, Rosso M, Castro E. Antitumoural action of L- 733, 060 on neuroblastoma and glioma cell lines. *Arch Ital Biol* 2004; 142:105112.

Muñoz M, Pérez A, Rosso M, Zamarrigo C, Rosso R. Antitumoural action of NK1 receptor antagonist L-733, 060 on human melanoma cell lines. *Melanoma Res* 2004; 14:183-188.

Muñoz M, Rosso M and Coveñas R A new frontier in the treatment of cancer: NK-1 receptor antagonists. *Curr. Med.Chem.* 2010a 17 504–516

Muñoz M, Rosso M and Coveñas R. Neuropeptides and cancer: focus on substance P/neurokinin-1 receptor system research. In: *Neuropeptides Research Trends*. Bernice A. Levine (ed.) Nova Science Publishers, New York 2007; 97-119.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Muñoz M, Rosso M, Aguilar FJ, González-Moles MA, Redondo M, Esteban F. NK-1 receptor antagonists induce apoptosis and counteract substance P-related mitogenesis in human laryngeal cancer cell line HEp-2. *Invest New Drugs* 2008; 26: 111-118.

Muñoz M, Rosso M, Coveñas R, Montero I, González-Moles MA, Robles MJ. Neurokinin-1 receptors located in human retinoblastoma cell lines: antitumor action of its antagonists, L-732, 138. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 2775-81.

Muñoz M, Rosso M, Coveñas R. A new frontier in the treatment of cancer: NK-1 receptor antagonists. *Curr Med Chem* 2010; 17: 504-16.

Muñoz M, Rosso M, Coveñas R. NK-1 receptor antagonists as new antitumoural agents: action on human neuroblastoma cell lines. In: Fernandes JA, ed. *Focus on Neuroblastoma Research*. New York, NY: Nova Science Publishers; 2007: 31-56.

Muñoz M, Rosso M, Coveñas R. The NK1 receptor is involved in the antitumoral action of L-733, 060 and in the mitogenic action of substance P on human pancreatic cancer cell lines. *Lett. Drug Des. Discov.* 2006; 3: 323-329. 173.

Muñoz M, Rosso M, Perez A, Coveñas R, Rosso R, Zamarrigo C and Piruat. The NK1 receptor is involved in the antitumoral action of L-733, 060 and the mitogenic action of substance P on neuroblastoma and glioma cell lines. *Neuropeptides* 2005; 39: 427-432.

Muñoz M, Rosso M, Perez A, Coveñas R, Rosso R, Zamarrigo C, Soult JA, Montero I. Antitumoral action of the neurokinin-1-receptor antagonist L-733, 060 and mitogenic action of substance P on human retinoblastoma cell lines. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46: 2567-70.

Muñoz M, Rosso M, Robles-Frias MJ, Salinas-Martín MV, Rosso R, González-Ortega A, Coveñas R. The NK-1 receptor is expressed in human melanoma and is involved in the antitumor action of the NK-1 receptor antagonist aprepitant on melanoma cell lines. *Lab Invest.* 2010; 90:1259-69.

Muñoz M, Rosso M, Soult JA and Coveñas R. Antitumoural action of neurokinin-1 receptor antagonists on human brain cancer cell lines. In: *Brain Cancer Therapy and Surgical Interventions*, Yang AV (ed.). New York, Nova Science Publishers. 2006; 45-75.

Muñoz M., Coveñas R., Esteban F, Redondo M. The substance P/NK-1 receptor system: NK-1 receptor antagonists as anti-cancer drugs. *J. Biosci.* 40(2), June 2015a, 1–23.

Muñoz M., Coveñas R. Safety of neurokinin-1 receptor antagonists. *Expert Opin. Drug Saf.* 2013,12, 673–685.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Muñoz M., Coveñas R., Esteban F, Redondo M. The substance P/NK-1 receptor system: NK-1 receptor antagonists as anti-cancer drugs. *Journal of Biosciences*. June 2015, Volume 40, Issue 2, pp 441-463

Muñoz, M.; Coveñas, R. Involvement of substance P and the NK-1 receptor in cancer progression. *Peptides* 2013, 48, 1–9.

Muñoz, M.; Rosso, M.; Coveñas, R. The NK-1 receptor is involved in the antitumoural action of L-733,060 and in the mitogenic action of substance P on human pancreatic cancer cell lines. *Lett. Drug Des. Discov.* 2006, 3, 323–329.

Muñoz, M.; Rosso, M. The NK-1 receptor antagonist aprepitant as a broad spectrum antitumor drug. *Invest. New Drugs* 2010b, 28, 187–193.

Murray CA and M Lynch. Evidence that increased hippocampal expression of the cytokine interleukin-1 β is a common trigger for age- and stress-induced impairments in long-term potentiation. *J. Neurosci.* (1998)18, 2974-2981.

Mutter J, Curth A, Naumann J, Deth R, Walach H. Does inorganic mercury play a role in Alzheimer's disease? A systematic review and an integrated molecular mechanism. *J Alzheimers Dis.* 2010;22:357-74.

Nacmias B, Bagnoli S, Tedde A, Cellini E, Guarnieri BM, Bartoli A, et al. Cystatin C and apoe polymorphisms in Italian Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2006 Jan 9;392(1-2):110-3.

Nagy I, Woolf CJ. Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-D-aspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic de polarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics. *Pain* 1996; 64: 59-70

Nagy ZS, Esiri MM. Apoptosis related protein expression in the hippocampus in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 565-71.

Nakagawa N, Sano H, Iwamoto I. Substance P induces the expression of intercellular adhesion molecule-1 on vascular endothelial cells and enhances neutrophil transendothelial migration. *Peptides* 1995;16:721-725.

Nakanishi S. Mammalian tachykinin receptors. *Annu Rev Neuroscience* 1991; 14:123-136.

Nakanishi S. Substance P precursor and kininogen: their structures, gene organizations and regulation. *Physiol Rev* 1987; 67:1117-42.

Nakata Y, Hiraoka C, Segawa T. Apparent molecular weight of the substance P binding site in rat brain. *Eur J Pharmacol* 1988;152:171-174.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Nawa H, Doteuchi M, Igano K, Inouye K, Nakanishi S. Substance K: a novel mammalian tachykinin that differs from substance P in its pharmacological profile. *Life Sci* 1984;34: 1153-1160.

Nawa H, Kotani H, Nakanishi S. Tissue-specific generation of two preprotachykinin mRNAs from one gene by alternative RNA splicing. *Nature* 1985; 312: 729-734.

Neira F et al. Antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA en el tratamiento del dolor crónico *Rev. Soc. Esp. del Dolor*, Vol. 11, N.º 4, Mayo 2004).

Neira F, Ortega JL. Etiopatogenia y efectos funcionales del dolor postoperatorio. En: Torres LM. Tratamiento del dolor postoperatorio. Ediciones Ergon SA, 2003. p. 3-30.

Nilsson G, Dahlberg K, Brodin E, Sundler F, Strandberg K. Distribution and constrictor effect of substance P in guinea pig tracheobronchial tissue. En: "Substance P (Nobel Symposium 37)" By U.S. von Euler U.S. and B. Pernow B. (Eds.). Raven Press 1977;75-81.

Nilsson J, Von Euler AM, Dalsgaard CJ. Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature* 1985;315:61e3.

Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 2005;308,1314-8.

Nio DA, Moylan RN, Roche JK. Modulation of T lymphocyte function by neuropeptides. Evidence for their role as local immunoregulatory elements. *J Immunol* 1993;150:5281-5288.

Nio DA, Moylan RN, Roche JK. Modulation of T lymphocyte function by neuropeptides. Evidence for their role as local immunoregulatory elements. *J Immunol* 1993;150:5281-5288.

Nishitsuji K, Hosono T, Nakamura T, Bu G, Michikawa M. Apolipoprotein E regulates the integrity of tight junctions in an isoform-dependent manner in an *in vitro* blood-brain barrier model. *J Biol Chem*. 2011;286:17536-42.

O'Connor T, O'Connell J, O'Brien D, Goode T, Bredin C, Fergus S. The Role of Substance P in Inflammatory Disease. *Journal of Cellular Physiology* 2004; 201:167-180. *ology* 2004; 201:167-180.

O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Verdin CP, Sanan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol* 2004;201:167-180.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

O'Harte F, Burcher E, Lovas S, Smith DD, Vaudry H, Conlon JM. Ranakinin: a novel NK1 tachykinin receptor agonist isolated with neurokinin B from the brain of the frog *Rana ridibunda*. *JNeurochem* 1991;57:2086–2.

Olanow CW, Arendash GW. Metals and free radicals in neurodegeneration. *Curr Opin Neurol* 1994;7(6):548-58.

Olney JW, Wozniak DF, Farber NB. Excitotoxic neurodegeneration in Alzheimer's disease. New hypothesis and new therapeutic strategies. *Arch Neurol* 1997; 54: 1234-40. 2.

Ortega HH, Salvetti NR, Baravalle C, Lorente JA, Mira GA. Oestradiol induced inhibition of neuroendocrine marker expression in Leydig cells of 191 adult rats. *Reprod Domest Anim* 2006;41:204-209.

Ozo D, Segura JJ, Jiménez-Rubio A, García-Pergañeda A, Bettahi I, Guerrero JM, Calvo JR. Identification of G-protein coupled receptor subunits in normal human dental pulp. *J Endod* 2000;26:16-19.

Pagani L, Eckert A. Amyloid- β interaction with mitochondria. *Int J Alzheimers Dis.* 2011;10:1-11.

Page NM, Bell NJ, Gardiner SM, Manyonda IT, Brayley KJ., Strange PG et al. Characterization of the endokinins: human tachykinins with cardiovascular activity. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:6245-6250.

Page NM, Dakour J, Morrish DW. Gene regulation of neurokinin B and its receptor NK3 in late pregnancy and pre-eclampsia. *Molecular Human Reproduction* 2006;12:427-433.

Page NM. Hemokinins and endokinins. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:1652-1663.

Page NM. Neurokinin B and pre-eclampsia: a decade of discovery. *Biology and Endocrinology* 2010;8:4.

Page NM. New challenges in the study of the mammalian tachykinins. *Peptides* 2005;26:1356-1358.

Palma C., Bigioni M., Irrissuto C., Nardelli F., Maggi C.A., and Manzini S, "Anti-tumour activity of tachykinin NK1 receptor antagonists on human glioma U373MG xenograft," *British Journal of Cancer*, vol. 82, no. 2, pp. 480–487, 2000.

Panchal HD, Vranizan K, Lee CY, Ho J, Ngai J, Timiras PS. Early antioxidative and anti-proliferative curcumin effects on neuroglioma cells suggest therapeutic targets. *Neurochem Res* 2008; 33: 1701-10.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Pappolla MA, Smith MA, Bryant-Thomas T, Bazan N, Petanceska S, Perry G, et al. Cholesterol, oxidative stress, and Alzheimer's disease: expanding the horizons of pathogenesis. *Free Radic Biol Med.* 2002 Jul 15;33(2):173-81.

Paresce DM, H Chung and FR Maxfield Slow degradation of aggregates of the Alzheimer's disease amyloid β -protein by microglial cells. *J. Biol. Chem.* (1997)272, 29390-29397.

Park SW, et al. Substance P is a promoter of adult neural progenitor cell proliferation under normal and ischemic conditions. *J Neurosurg* 2007; 107: 593-9.

Patacchini R, Lecci A, Holzer P, Maggi CA. New discovered tachykinins raise new questions about their peripheral roles and the tachykinin nomenclature. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25:1-3.

Patak E, Candenias ML, Pennefather JN, Ziccone S, Lilley A, Martín JD, Flores C, Mantecón AG., Story ME, Pinto FM. Tachykinins and tachykinins receptors in human uterus. *Br J Pharmacol* 2003;139:523-532.

Patak E, Pinto FM, Story ME, Pintado CO, Fleming A, Page NM, Pennefather JN, Candenias ML. Functional and molecular characterization of tachykinins and tachykinins receptors in the mouse uterus. *Biol Reprod* 2005;72:1125-1133.

Patel, H.J.; Ramkissoon, S.H.; Patel, P.S.; Rameshwar, P. Transformation of breast cells by truncated neurokinin-1 receptor is secondary to activation by preprotachykinin-A peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 17436–17441.

Pavia J, de Ceballos ML, Sanchez de la Cuesta F. Alzheimer's disease: relationship between muscarinic cholinergic receptors, beta-amyloid and tau proteins. *Fundam Clin Pharmacol* 1998; 12 (5): 473-81.

Payan DG, Brewster DR, Goetzl EJ. Specific stimulation of human T lymphocytes by substance P. *J Immunol* 1983;131:1613-1615.

Payan DG, McGillis JP, Organist ML. Binding characteristics and affinity labelling of protein constituents of the human IM-9 lymphoblast receptor for substance P. *J Biol Chem* 1986;261:14321-14329.

Peinado MA, Ramírez MJ, Pedrosa JA, Martínez M, Quesada A, del Moral ML, et al. Effects of contralateral lesions and aging on the neuronal and glial population of the cerebral cortex of the rat. In Castellano B, González B, NietoSampedro M, eds. *Understanding Glia Cells*. Boston: Kruwer Academic Publishers; 1998b. p. 297317.

Peng, S.L. Transcription factors in the pathogenesis of autoimmunity. *Clin. Immunol.* 2004, 110, 112–123.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Pennefather JN, Zeng XP, Gould D, Hall S, Burcher E. Mammalian tachykinins stimulate rat uterus by activating NK-2 receptors. *Peptides* 1993;14:169-174.

Pericak-Vance MA, Haines JL. Genetic susceptibility to Alzheimer disease. *Trends Genet* 1995; 11: 504-8.

Perneczky R, Kurz A. Dealing with uncertainty: biomarkers for the elderly detection of Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr* 2012; 24: 1533-5.

Pernow B. Substance P. *Pharmacol Reviews*. The Amer Soc Pham Exp Therap 1983; 35:85-141.

Persson-Sjogren S, Lejon K, Holmberg D, Forsgren S. Expression of the NK-1 receptor on islet cells and invading immune cells in the non-obese diabetic mouse. *J Autoimmun* 2005; 24:269-279.

Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56: 303-8

Pezzilli, R.; Morselli-Labate, A.M. Alcoholic pancreatitis: Pathogenesis, incidence and treatment with special reference to the associated pain. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2009, 6, 2763–2782.

Pike CJ, Walencewicz AJ, Glabe CG, Cotman CW. In vitro aging of β - amyloid protein causes peptide aggregation and neurotoxicity. *Brain Res* 1991; 563: 311-4

Pintado CO, Pinto FM, Pennefather JN, Hidalgo A, Baamonde A, Sanchez T, Candenás ML. A role for tachykinins in female mouse and rat reproductive function. *Biol Reprod* 2003;69:940-946.

Pinto FM, Almeida TA, Hernández M, Devillier P, Advenier C, Candenás ML. mRNA expression of tachykinins and tachykinin receptors in different human tissues. *Eur J Pharmacol* 2004; 494: 233-239.

Qiu C, De RD, Fratiglioni L. The epidemiology of the dementias: an update. *Curr Opin Psychiatry*. 2007;20(4):380-5.

Quartara L, Maggi CA. The tachykinin NK1 receptor. Part I: ligands and mechanisms of cellular activation. *Neuropeptides* 1997;31:537-563.

Quartara L, Maggi CA. The tachykinin NK1 receptor. Part II: distribution and pathophysiological roles. *Neuropeptides* 1998;32:1-49.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Quinlan KL, Song IS, Bunnett NW, Letran E, Steinhoff M, Harten B, et al. Neuropeptide regulation of human dermal microvascular endothelial cell ICAM-1 expression and function. *Am J Physiol* 1998; 275:C1580-C1590.

Radhakrishnan V, Henry JL. Electrophysiology of neuropeptides in the sensory spinal cord. *Prog Brain Res* 1995;104:175-195.

Ramasamy R, Vannucci SJ, Shi Du Yan S, Herold K, Fang Yang S, Schmidt AM. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration and inflammation. *Glycobiology* 2005;15(7):16-28

Rameshwar P, Gascon P. Hematopoietic modulation by the tachykinins. *Acta Haematol* 1997;98:59-64.

Ramón y Cajal, S. El nuevo concepto de la histología de los centros nerviosos. *Revista de Ciencias Médicas* 1982;18:457-476.

Ravina CG, Seda M, Pinto FM, Orea A, Fernandez-Sanchez M, Pintado CO, Candenias ML. A role for tachykinins in the regulation of human sperm motility. *Hum Reprod* 2007;22:1617-1625.

Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, Wang R, Tint GS, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis.* 2000 Aug;7(4):321-31. Fe de erratas en: *Neurobiol Dis* 2000 Dec;7(6 Pt B):690.

Regoli D, Drapeau G, Dion S, D'Orleans-Juste P. Receptors for substance P and related neurokinins. *Pharmacology* 1989;38:1-15.

Reinke E, Fabry Z. Breaking or making immunological privilege in the central nervous system: the regulation of immunity by neuropeptides. *Immunol Lett* 2006;104:102-109.

Reynaldo Fernández Gledys, Pardo Andréu Gilberto; Mariela Guevara García; Cascudo BarralNiurka; Carrasco García Maira Rosa. Teorías acerca de los mecanismos celulares y moleculares en la enfermedad de Alzheimer. *Rev cubana med* v.47 n.3 Ciudad de la Habana jul.-sep. 2008

Richfield EK., Vonsattel JP, MacDonald ME, Sun Z, Deng YP., & Reiner A. Selective loss of striatal preprotachykinin neurons in a phenocopy of Huntington's disease. *Mov Disord* 2002;17(2):327-332.

Robert PH, Verhey FR, Byrne EJ, Hurt C, De Deyn PP, Nobili F, et al. Grouping for behavioral and psychological symptoms in dementia: clinical and biological aspects. Consensus paper of the European Alzheimer disease consortium. *Eur Psychiatry.* 2005 Nov;20(7):490-6.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Robles A, Del Ser T, Alom T, Peña-Casanova J. Grupo asesor del grupo de neurología de la conducta y demencias de la Sociedad Española de Neurología. Propuesta de criterios para el diagnóstico clínico del deterioro cognitivo leve, la demencia y la enfermedad de Alzheimer. *Neurología*. 2002;17:17-32.

Rocca WA, Hofman A, Brayne C, Breteler MM, Clarke M, Copeland JR, et al. Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 prevalence findings. The EURODEM-Prevalence Research Group. *Ann Neurol*. 1991;30(3):381-90.

Rogers, J.T., Leiter, L.M., McPhee, J., Cahill, C.M., Zhan, S.S. et al. Translation of the Alzheimer amyloid precursor protein mRNA is up-regulated by interleukin-1 through 5'-untranslated region sequences. *J. Biol. Chem*. 1999; 274 ; 6421-6431.

Rondeau V. A review of epidemiologic studies on aluminum and silica in relation to Alzheimer's disease and associated disorders. *Rev Environ Health*. 2002 Apr-Jun; 17(2):107-21.

Rosenberg ZF, Fauci A.S. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection: cytokine induction of HIV expression. *Immunol. Today* 1990;11:176-180.

Rosler N, Wichart I, & Jellinger KA. Clinical significance of neurobiochemical profiles in the lumbar cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *J Neural Transm* 2001;108(2):231-246.

Rosso M, Robles-Frías MJ, Coveñas R, Salinas-Martín MV, Muñoz M- The NK-1 Receptor Is Expressed in Human Primary Gastric and Colon Adenocarcinomas and Is Involved in the Antitumor Action of L-733,060 and the Mitogenic Action of Substance P on Human Gastrointestinal Cancer Cell Lines. *Tumor Biol* 2008; 934

Rubin G, Spradling AC. Vectors for P element-mediated gene transfer in *Drosophila*. *Nucl. Acids Res*. (1983) 11 (18):6341-6351.

Rubinsztein DC. The genetics of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 1997; 52 (6): 447-54)

Rubinsztein DC. The genetics of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 1997; 52 (6): 447-54

Ruff MR, Wahl SM, Pert CB. Substance P receptor-mediated chemotaxis of human monocytes. *Peptides* 1985;6:107-111.

Rupniak N. M. New insights into the antidepressant actions of substance P (NK1 receptor) antagonists. *Can. J. Physiol. Pharmacol*(2002). 80, 489–494.

Rupniak NM and Kramer MS. Discovery of the antidepressant and anti-emetic efficacy of substance P receptor (NK1) antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 1999;20:485-490.

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Rupniak NM, Carlson E, Boyce S, Webb JK, Hill RG. Enantioselective inhibition of the formalin paw late phase by the NK1 receptor antagonist L-733,060 in gerbils. *Pain* 1996;67:189-195.

Saffroy M, Torrens Y, Glowinski J, Beaujouan JC. Presence of NK2 binding sites in the rat brain. *J Neurochem* 2001;79:985-996.

Sagar SM et al. Implications of neuropeptides in neurological diseases. *Peptides*. 1984;5 Suppl 1:255-62. PMID:6207511[PubMed - indexed for MEDLINE]

Sakanaka M, Shiosaka S, Takatsuki K, Inagaki S, Takagi H, Senba E, Kawai Y, Matsuzaki T, Tohyama M. Experimental immunohistochemical studies on the amygdalofugal peptidergic (substance P and somatostatin) fibers in the stria terminalis of the rat. *Brain Research*. Vol 221, Issue 2, 28 September 1981, Pages 231-242

Salmon DP, Thomas RG, Pay MM, Both A, Hofstetter CR, Thal LJ, et al. Alzheimer's disease can be accurately diagnosed in very mildly impaired individuals. *Neurology* 2002;99:1022-8.

Samsam M, Coveñas R, Ahangari R, Yajeya J, Narváez JA, Tramu G. Simultaneous depletion of neurokinin A, substance P and calcitonin gene-related peptide from the caudal trigeminal nucleus of the rat during electrical stimulation of the trigeminal ganglion. *Pain* 2000;84:389-95.

Samsam M, Coveñas R, Csillik B, Ahangari R.; Yajeya J, Riquelme R, Narváez JA, Tramu G. Depletion of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide from the contralateral and ipsilateral caudal trigeminal nucleus following unilateral electrical stimulation of the trigeminal ganglion: a possible neurophysiological and neuroanatomical link to generalized head pain. *J Chem Neuroanat* 2001;21:161-169.

Sasai Y., Nakanishi S. Molecular characterization of rat substance K receptor and its mRNAs. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;165:699-702.

Sato T, Shimogaito N, Wu X, Kikuchi S, Yamagishi S, Takeuchi M. Toxic advanced glycation end products (TAGE) theory in Alzheimer's disease. *Am J Alzheimer Dis other Dement* 2006; 21(3):197-211.

Saunders AM, Hulette C, Welsh-Bohmer KA et al. Specificity, sensitivity, and predictive value of apolipoprotein-E genotyping for sporadic Alzheimer's disease. *Lancet* 1996; 348: 90-3.

Saura Antolin C. Etiopatogenia de la Enfermedad de Alzheimer. En: Alzheimer 2012. Viva la Pepa (pag 17)

Saura C. Capítulo 1 Etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer : Beta amiloide y tau, pag 14. En: Alzheimer 2012. 200 años de constitución y "viva la Pepa". Estimular el ingenio, reserva cognitiva y Alzheimer. Edit enfoque editorial. Fundación Gruenthal. 2012.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem* 2001;8:721-38.

Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM et al. Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992; 258 (5082): 6668-71

Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, et al. Immunization with amyloidbeta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse [see comments]. *Nature*. 1999; 400:173-7.

Schindowski K, Belarbi K, Bretteville A, Ando K, Buee L. Neurogenesis and cell cycle-reactivated neuronal death during pathogenic tau aggregation. *Genes Brain Behav* 2008; 7 (Suppl 1): 92-100.

Scholzen T, Armstrong CA, Bunnett NW, Luger TA, Olerud JE, Ansel JC. Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. *Exp Dermatol* 1998

Schratzberger P, Reinisch N, Prodingner WM, Kahler CM, Sitte BA, Bellmann R, Fischer-Colbrie R, Winkler H, Wiedermann CJ. Differential chemotactic activities of sensory neuropeptides for human peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol* 1997;158:3895-3901.

Schreck R, Rieber P, Baeuerle P A. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- κ B transcription factor and HIV 1. *EMBO J* 1991;10:2247.

Schwartz JP, Costa E. Hybridization approaches to the study of neuropeptides. *Annu Rev Neurosci*1986;9:277-304.

Scorziello A, Pellegrini C, Secondo A, Sirabella R, Formisano L, Sibaud L et al. Neuronal NOS activation during oxygen and glucose deprivation triggers cerebellar granule cell death in the later reoxygenation phase. *J Neurosci Res*. 2004;76(6):812-21.

Seegers HC, Hood VC, Kidd BL, Cruwys SC, Walsh DA. Enhancement of angiogenesis by endogenous substance P release and neurokinin-1 receptors during neurogenic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:8-12.

Seidah, N. G., & Chretien, M. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides. *Brain Res* 1999; 848:45-62.

Sennvik K, Boekhoorn K, Lasrado R, Terwel D, Verhaeghe S, Korr H, et al. Tau-4R suppresses proliferation and promotes neuronal differentiation in the hippocampus of tau knockin/knockout mice. *FASEB J* 2007; 21: 2149-61].

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Setó-Salvia N, Clarimón J. Genética en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2010; 50 (6): 360-364

Severini C, Improta G, Falconieri-Ersamer G, Salvadori S, Ersamer E. The tachykinin peptide family. *Pharmacol Rev* 2002;54:285-322.

Shan X, Lin CL. Quantification of oxidized RNAs in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27(5):657-62.

Sharp JW, Sagar SM, Hisanaga K, et al. The NMDA receptor mediates cortical induction of fos and fos-related antigens following cortical injury. *Exp Neurol* 1990; 109: 323-32.

Shen XZ y Bernstein KE. The peptide network regulated by angiotensin converting enzyme (ACE) in hematopoiesis. *Cell Cycle* 2011;10:1363-1369.

Shepherd, Gordon M. *Neuroanatomy; Neurons; History* 1991;6:338p. Book (ISBN 0195064917).

Sherrington C. *The integrative action of the central nervous system*. London. Constable Co. 1906.

Shibata H, Mio M, Tasaka K. Analysis of the mechanism of histamine release induced by

Shibata, K.; Haverstick, D.M.; Bannon, M.J. Tachykinin gene expression in rat limbic nuclei: Modulation by dopamine antagonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1990, 255, 388–392.

Shirayama, Y.; Mitsushio, H.; Takashima, M.; Ichikawa, H.; Takayashi, K. Reduction of substance P after chronic antidepressant treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat. *Brain Res.* 1996, 739, 70–78.

Singewald N, Chicchi GG, Thurner CC, et al. Modulation of basal and stress-induced amygdaloid substance P release by the potent and selective NK1 receptor antagonist L-822429. *J. Neurochem.* (2008) 106, 2476–2488

Singh D, Joshi DD, Hameed M, Qian J, Gascon P, Maloof PB, Mosenthal A, Rameshwar P. Increased expression of preprotachykinin-I and neurokinin receptors in human breast cancer cells: implications for bone marrow metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:388-393.

Sitte N, Huber M, Grune T, Ladhoff A, Doecke WD, Von Zglinicki T, et al. Proteasome inhibition by lipofuscin/ceroid during postmitotic aging of fibroblasts. *FASEB J* 2000;14:1490-8.

Sivam SP, & Krause JE. (Tachykinin systems in the spinal cord and basal ganglia: influence of neonatal capsaicin treatment or dopaminergic intervention on levels of peptides, substance P encoding mRNAs, and substance P receptor mRNA. *J Neurochem* 1992;59(6):2278-2284.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Skinner DC. Rethinking the stalk effect: A new hypothesis explaining suprasellar tumor-induced hyperprolactinemia. *Medical Hypotheses* 2009;72:309-310.

Small GW. The pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 1998; 59 (Suppl 9): 7-14.

Smith MA, Perry G, Richey PL. Oxidative damage in Alzheimer disease. *Nature*. 1996;382:120-1.

Smith MA, Richey Harris PL, Sayre LM, Beckman JS, Perry G. Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1997;17(8):2653-7.

Smith W L. Cyclooxygenases, peroxide tone and the allure of fish oil. *Curr Opin Cell Biol*. 2005;17:174-82.

Smythies J. Redox aspects of signaling by catecholamines and their metabolites. *Antioxid Redox Signal* 2000;2(3):575-83

Snider BJ, Gottron FJ, Choi DW. Apoptosis and necrosis in cerebrovascular disease. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 893: 24353.

Snider RM, Constantine JW, Lowwe IJ. A potent nonpeptide antagonist of the substance P (NK1) receptor. *Science* 1991;251:435-437

Song Z, Steller H. Death by design: mechanism and control of apoptosis. *Trends Cell Biol* 1999; 9: M4952.

Sonomura T, Nakamura K, Furuta T, Hioki H, Nishi A, Yamanaka A., . . . Kaneko T. (2007). Expression of D1 but not D2 dopamine receptors in striatal neurons producing neurokinin B in rats. *Eur J Neurosci* 2007;26(11) :3093-3103.

Sorkin LS. Farmacología y fisiología básica del proceso del dolor agudo. En: Wallace MS, Dunn JS, Yaksh TL. *Clínicas de Anestesiología de Norteamérica*. México: McGraw-Hill Interamericana 1997; 2: 245-59.)

Speidel CC. Further comparative studies in other fishes of cell that are homologous to the large irregular glandular cells in the spinal cord of the skates. *J Comp Neurol* 1922; 34:303.

Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Towards defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute of Aging and the Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 280-92.

Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991;41: 479-486.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Steinberg R., Alonso R., Rouquier L. et al. (2002) SSR240600 [(R)-2-(1-{2-[3,5bis(trifluotomethyl)-phenyl]acetyl}-2-(3,4-dichlorophenyl)-2-morpholinyl]ethyl)-4-piperidinyl]-2-methylpropanamide], a centrally active nonpeptide antagonist of the tachykinin neurokinin- 1 receptor. II. Neurochemical and behavioral characterization.

Steinhoff Martin S., von Mentzer Bengt, Geppetti Pierangelo, Pothoulakis Charalabos, and Bunnett Nigel W. Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease. *Physiol Rev* 94: 265–301, 2014 doi:10.1152/physrev.00031.2013

Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nat Immunol* 2004;

Strader CD, Fong TM, Tota MR, Underwood D, Dixon RF et al. Structure and function of G protein-coupled receptors. *Annu Rev Biochem* 1994;63:101-132.

Strassman AM, Vos BP. Somatotopic and laminar organization of fos-like immunoreactivity in the medullary and upper cervical dorsal horn induced by noxious facial stimulation in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 331: 495-516.

Streit WJ, Walter SA, Pennell NA. Reactive microgliosis. *Prog Neurobiol* 1999; 57: 56381.

Struble RG et al. Neuropeptidergic systems in plaques of Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1987 Sep;46(5):567-84. PMID: 2442313 [PubMed – Medline

Studer RO, Trzeciak H and Lergier W. Isolierung and Aminosäuresequenz von Substanz P aus Pferdedarm. *Helv Cchim Acta* 1973;56:860-866.

substance P. *Biochem. Biophys Acta* 1985;846:1-7.

Sukiennik AW, Kream RM. N-methyl-D-aspartate receptors and pain. *Current Op Anaesth* 1995; 8: 445-9.2,6,15-23).

Sultana R, Perluigi M, Butterfield DA. Protein oxidation and lipid peroxidation in brain of subjects with Alzheimer's disease: insights into mechanism of neurodegeneration from redox proteomics. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(11-12):2021-37.

Sultana R, Perluigi M, Butterfield DA. Redox proteomics identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain and in vivo and in vitro models of AD centered around Abeta (1-42). *J Chromatogr*. 2006;833:3-11

Sun X, Jin L, Ling P. Review of drugs for Alzheimer's disease. *Drug Discov Ther*. 2012;6(6):285-290

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Szot P, White S. S., Lynne Greenup J, Leverenz J.B., Peskind E. R., and Raskind M. A., "Compensatory changes in the noradrenergic nervous system in the locus ceruleus and hippocampus of postmortem subjects with Alzheimer's disease and dementia with lewy bodies," *Journal of Neuroscience*, vol. 26, no. 2, pp. 467–478, 2006.

Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radic Biol Med* 2002;33:29-36.

Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radic Biol Med* 2002;33:29-36.

Takemoto K, Lundberg JM, Jörnvall H. Neuropeptide K: isolation, structure and biological activities of a novel brain tachykinin. *Biochem Biophys Res Comm* 1985;128:947-953.

Talley, A., Dewhurst, S., Perry, S., Dollars, S., Gummuluru, S. et al. Tumor necrosis alpha-induced apoptosis in human neuronal cells: protection by the antioxidant N-acetylcysteine and the genes bcl-2 and crmA. *Mol. Cell. Biol.* 1995; 15: 2359-2366.

Tamatani M, Ogawa S, Niitsu Y, Tohyama M. Involvement of Bcl2 family and caspase3like protease in NOmediated neuronal apoptosis. *J Neurochem* 1998; 71: 158896.

Tatebayashi Y, Lee MH, Li L, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. The dentate gyrus neurogenesis: a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2003; 105: 225-32.

Tattersall FD, Rycroft W, Hargreaves RJ, Hill RG. The tachykinin NK-1 receptor antagonist CP-99,994 attenuates cisplatin induced emesis in the ferret. *Eur J Pharmacol* 1993;250:R5-6.

Tchantchou F, Xu Y, Wu Y, Christen Y, Luo Y. EGb 761 enhances adult hippocampal neurogenesis and phosphorylation of CREB in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Ahmed MM et al Effect of memantine on the levels of glial cells, neuropeptides, and peptide-degrading enzymes in rat brain regions of ibotenic acid-treated alzheimer's disease model. *Neuroscience*. 2004; 126(3):639-49.

Teichberg VI, Cohen S, Blumbreg S. Distinct classes of substance P receptors for substance P. Receptors revealed by a comparison of the activities of substance P and some of its esgments. *Regul Pept* 1981;1:327-333.

Teng Jiang et al. Advances in Alzheimer's Disease: From Bench to Bedside. *BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 202676, 2 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/202676>

Thomas M, Isaac M. Alois Alzheimer: a memoir. *Trends Neurosci* 1987; 10: 306-7)

Immunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Thompson A, Boekhoorn K, Van Dam AM, Lucassen PJ. Changes in adult neurogenesis in neurodegenerative diseases: cause or consequence? *Genes Brain Behav* 2008; 7 (Suppl 1): 28-42.

Thompson A, Boekhoorn K, Van Dam AM, Lucassen PJ. Changes in adult neurogenesis in neurodegenerative diseases: cause or consequence?

Thuret S, Toni N, Aigner S, Yeo GW, Gage FH. Hippocampus-dependent learning is associated with adult neurogenesis in MRL/MpJ mice. *Hippocampus* 2009; Jan 12

Tondreau T, Dejeneffe M, Meuleman N, Stamatopoulos B, Delforge A, Martiat P, et al. Gene expression pattern of functional neuronal cells derived from human bone marrow mesenchymal stromal cells. *BMC Genomics* 2008; 9: 166.].

Treager GW, Niall HD, Potts JT, Leeman SE, Chang MM. Synthesis of substance P. *Nature New Biol* 1971;232:87-89.

Tsai KJ, Tsai YC, Shen CK. G-CSF rescues the memory impairment of animal models of Alzheimer's disease. *J Exp Med* 2007; 204: 1273-80.

Tsuchida K, Shigemoto R, Yokota Y, Nakanishi S. Tissue distribution and quantitation of the mRNAs for three rat tachykinin receptors. *Eur J Biochem* 1990;193:751-757.

Tsuruo Y, Kawano H, Nishiyama T, Shigeo S Daikoku. Substance P-like immunoreactive neurons in the tuberoinfundibular area of rat hypothalamus. Light and electron microscopy. *Brain Research*. Volume 289, Issues 1-2, 19 December 1983, Pages 1-9

Unger JW. Glial reaction in aging and Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech* 1998; 43: 248.

Van Duijn CM, Hofman A. Risk factors for Alzheimer's disease: the EURODEM collaborative re-analysis of case-control

Van Ginkel FW, Pascual DW. Recognition of neurokinin 1 receptor (NK1-R): an antibody to a peptide sequence from the third extracellular region binds to brain NK1-R. *J Neuroimmunol* 1996; 67:49-58.

Vickers JC, Huntley GW, Hof PR, Bederson J, DeFelipe J, Morrison JH. Immunocytochemical localization of non-NMDA ionotropic excitatory amino acid receptor subunits in human neocortex. *Brain Res* 1995; 671: 175-80.

Viloria A. La enfermedad de Alzheimer antes de la demencia. Beneficios del diagnóstico precoz. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2011; 46 (Supl. 1):47-54

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Von Bernhandi. Glial Cell Dysregulation: a New Perspective on Alzheimer Disease. *Neurotoxicity Research*, 2007, vol. 12(4). pp. 215-232

Von Bernhardi R and Eugenin J, "Alzheimer's disease: redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms," *Antioxidants and Redox Signaling*, vol. 16, no. 9, pp. 974-1031, 2012.

Von Bernhardi R. La Neuroinflamación en la patogénesis de la Enfermedad de Alzheimer. *Boletín Escuela de Medicina U.C., Pontificia Católica de Chile*, Vol 32 nº1, 2007

Von Bernhardi Rommy et al. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer Neurobiological mechanisms of Alzheimer's disease. *M.Rev Chil Neuro-Psiquiat* 2005; 43(2): 123-132) Versión on-line 0717-9227 <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272005000200005>

Von Bernhardi Rommy M. *Rev. chil. neuro-psiquiatr.* ; 43(2): 123-132. jun. 2005. Versión on-line 0717-9227 <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272005000200005>

Von Euler US, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J Physiol* 1931;72:74-87.

Waldau B, Shetty AK. Behavior of neural stem cells in the Alzheimer brain. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 2372-84.

Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, et al. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol.* 2007;14(1):e1-26.

Wallace, M.N., Geddes, J.G., Farquhar, D.A., Masson, M.R. Nitric oxide synthase in reactive astrocytes adjacent to beta-amyloid plaques. *Exp. Neurol.* 1997; 144 : 266-272

Wang JM, Liu L, Irwin RW, Chen S, Brinton RD. Regenerative potential of allopregnanolone. *Brain Res Rev* 2008; 57: 398-409.

Wasterlain Claude G., Liu THantao, Mazarati TAndrey M., Baldwin Roger A., Shirasaka Yuki-yoshi, Hiroshi Katsumori Yuki-yoshi, Thompson Kerry W., Sankar Raman, Pereira de Vasconcelos TIIAnne, and Nehlig Astrid. Epilepsy Self-sustaining Status Epilepticus: A Condition Maintained by Potentiation of Glutamate Receptors and by Plastic Changes in Substance P and Other Peptide Neuromodulators. *Epilepsia*, 41(Suppl. 6):S134-S143, 2000.

Wei F, Dubner R, Ren K. Nucleus reticularis gigantocellularis and nucleus raphe magnus in the brain stem exert opposite effects on behavioral hyperalgesia and spinal Fos protein expression after peripheral inflammation. *Pain* 1999; 80: 127-41.)

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Weinstock JV, Blum A, Walder J, Walder R. Eosinophils from granulomas in murine schistosomiasis mansonii produce substance P. *J Immunol* 1988;141:961-966.

Weinstock JV. The role of substance P, hemokinin and their receptor in governing mucosal inflammation and granulomatous responses. *Front Biosci* 9: 1936–1943, 2004.

Werge TM. Identification of an Epitope in the Substance P Receptor Important for Recognition of the Common Carboxyl-terminal Tachykinin Sequence. *J Biol Chem* 1994;269:22054-22058.

Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*. 1982;215:1237-9.

Wick, E.C.; Hoge, S.G.; Grahn, S.W.; Kim, E.; Divino, L.A.; Grady, E.F.; Bunnett, N.W.; Kirkwood, K.S. Transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide, and substance P mediate nociception in acute pancreatitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006, 290, G959–969.

Wilhelmsen, K. C. The tangled biology of tau. *Proc Natl Acad Sci USA* (1999)96, 7120-7121.

[Willis M](#) et al. Localization and expression of substance P in transgenic mice overexpressing human APP751 with the London (V717I) and Swedish (K670M/N671L) mutations. [Brain Res.](#) 2007 Apr 27;1143:199-207. Epub 2007 Jan 30.

Wisniewski T, Dowjat WK, Permann B et al. Presenilin-1 is associated with Alzheimer's disease amyloid. *Am J Pathol* 1997 b; 151 (2): 601-10.

Wisniewski T, Ghiso J, Frangione B. Biology of A beta amyloid in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 1997 a; 4 (5): 313-28.

Wollen KA. Alzheimer's disease: The pros and cons of pharmaceutical, nutritional, botanical, and stimulatory therapies, with a discussion of treatment strategies from the perspective of patients and practitioners. *Altern Med Rev.* 2010;15:223-44.

World Health Organization. The ICD-10 Classification of mental and behavioural disorders. Geneva (Switzerland): World Health Organization; 1992.

Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease: a double edge sword. *Neuron* 2002;35:419-32.

Wyss-Coray, T., Yan, F., Lin A.H., Lambris, J.D., Alexander, J.J. et al. Prominent neurodegeneration and increased plaque formation in complement-inhibited Alzheimer's mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99 : 10837-10842.

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Xu, J.; Xu, X.; Lin, Y. Cigarette smoke synergizes lipopolysaccharide-induced interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α secretion from macrophages via substance P-mediated nuclear factor- κ B activation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011, 44, 302–308.

Yan SD, Stern DM. Mitochondrial dysfunction and Alzheimer's disease: role of amyloid-b peptide alcohol dehydrogenase (ABAD). *Int J Exp Pathol.* 2005;86,161- 71.

[Yew DT](#) et al. Neurotransmitters, peptides, and neural cell adhesion molecules in the cortices of normal elderly humans and Alzheimer patients: a comparison. [Exp Gerontol.](#) 1999 Jan;34(1):117-33.

Ying Li et al Microglia in Alzheimer's Disease. *Review Article.* BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 437483, 7 pages Hindawi Publishing Corporation <http://dx.doi.org/10.1155/2014/437483>

Ying Li,^{1,2} Meng-Shan Tan,³ Teng Jiang,⁴ and Lan Tan. Microglia in Alzheimer's Disease. *Review Article.* Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 437483, 7 pages

Yuan M, Wen-Xia Z, Jun-Ping C, Yong-Xiang Z. Age related changes in the oestrous cycle and reproductive hormones in senescence-accelerated mouse. *Reprod Fertil Dev* 2005;17: 507-512.

Zachrisson O, Lindefors N, Brene S. A tachykinin NK1 receptor antagonist, CP-122,721-1, attenuates kainic acid-induced seizure activity. *Brain Res Mol Brain Res* 1998;60:291-295.

Zentella M, Saldaña Y. Papel fisiológico de los radicales libres. *Boletín de Educación Bioquímica* 1996;15:152-161.

Zhang J, Fujii S, Wu Z, Hashioka S, Tanaka Y, Shiratsuchi A, et al . Involvement of COX-1 and up-regulated prostaglandin E synthases in phosphatidylserine liposome-induced prosta-glandin E2 protection by microglía. *J Neuroimmunol* 2006;172:112-20.

Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ, Hina is hematopoietic. specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis. *Nature Immunology* 2000; 1: 392-397.

Zhangyu Zou, Changyun Liu, Chunhui Che, and Huapin Huang. Clinical Genetics of Alzheimer's Disease. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International Volume 2014, Article ID 291862, 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/291862>

Ziche M, Morbidelli L, Pacini M, Gepetti P, Alessandri G and Maggi CA Substance P stimulates neovascularization in vivo and proliferation of cultured endothelial cells. *Microvasc. Res.* 1990. 40 264–278

Inmunolocalización de la sustancia P y del receptor NK1 en las estructuras del sistema nervioso central implicadas en la enfermedad de Alzheimer-Kraepelin

Zielasek J, Hartung HP. Molecular mechanisms of microglial activation. *Adv Neuroimmunol* 1996; 6: 191-222.