



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA



ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LA

ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

NIEVES RIERA LLULL

SEVILLA, JUNIO DE 2017



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LA EFERMEDAD DE
ALZHEIMER

Departamento de bioquímica y biología molecular

Trabajo bibliográfico

Nieves Riera Llull

Tutor: Francisco Javier Vitorica Ferrández

Sevilla, junio de 2017.

Índice de contenido

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Aspectos generales de la enfermedad.....	1
1.2.	Epidemiología.....	2
1.3.	Aspectos económicos.....	3
1.4.	Tipos de Alzheimer.....	4
1.4.1.	Proteína precursora β -amiloide (APP).....	4
1.4.2.	Presenilinas.....	5
1.4.3.	Factores de riesgo del Alzheimer esporádico.....	7
2.	PREVENCIÓN EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	10
3.	PATOGENIA.....	11
3.1.	Neuropatología.....	11
3.1.1.	Neurodegeneración.....	12
3.1.2.	Placas seniles.....	14
3.1.3.	Ovillos neurofibrilares.....	17
4.	HIPOTESIS DE LA CASCADA AMILOIDE.....	18
5.	DIAGNÓSTICO.....	20
6.	TRATAMIENTO.....	26
6.1.	Desarrollo terapéutico.....	27
6.2.	Fármacos en desarrollo.....	28
6.2.1.	Contra tau.....	29
6.2.2.	Contra $A\beta$	30
7.	CONCLUSIONES.....	37
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	38

Ilustración 1. Esquema de la secuencia peptídica del APP, las mutaciones familiares y los sitios de procesamiento	5
Ilustración 2. Gráfica sobre polimorfismos asociados a la AE.....	10
Ilustración 3. Cambios macroscópicos en la EA (sección transversal del cerebro).....	12
Ilustración 4. Circuitos neuronales y sinapsis durante la progresión de AD	13
Ilustración 5. Placa neurítica clásica.....	14
Ilustración 6. Placa difusa.....	14
Ilustración 7. Esquema de la vía no amiloidogénica	15
Ilustración 8. Esquema de la vía amiloidogénica	16
Ilustración 9. Esquema de ovillos neurofibrilares	18
Ilustración 10. Ovillos neurofibrilares (Tinción Thioflavin S).....	18
Ilustración 11. Esquema de la hipótesis amilolide	19
Ilustración 12. Deposición de placas amiloides fibrosas en pacientes con DCL y EA.....	24
Ilustración 13. Reducción progresiva del metabolismo regional de la glucosa cerebral en un paciente con EA.....	24
Ilustración 14. Modelo temporal hipotético que integra biomarcadores de la EA	25
Ilustración 15. Representaciones de la estructura del complejo de la β -secretasa.....	31
Ilustración 16. Esquema del enfoque inmunoterápico para el aclaramiento de β -amiloide	32
Ilustración 17. Depósito amiloide en el neocórtex de ratones APP24 después del tratamiento con CAD106. Antes (A) y después (B).....	32
Ilustración 18. Mecanismo de eliminación de β -amiloide mediante anticuerpos específicos. (Se incluyen las tres hipótesis)	34
Ilustración 19. Estructura de la región media del péptido A β unido a solanezumab	35
Ilustración 20. Procesamiento de APP y epítopes de mAbs en A β	35
Ilustración 21. Efecto de Aducanumab sobre CDR-SB y MMSE	36
Ilustración 22. Unión selectiva del aducanumab a las formas fibrilares y oligoméricas de A β agregado.....	37

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aspectos generales de la enfermedad

El Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa, progresiva, de aparición tardía, dependiente de la edad, caracterizada por un deterioro de las funciones cognitivas y por cambios en el comportamiento y la personalidad.

Es la principal causa de demencia representando entre un 50% y un 70% de los casos. *(Winblad et al., 2016)*.

Según la OMS, la demencia es un síndrome, generalmente de naturaleza crónica o progresiva, caracterizado por el deterioro de la función cognitiva más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal. Conlleva la pérdida irreversible de las capacidades intelectuales, incluyendo la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, el aprendizaje, el lenguaje, el juicio, la capacidad de expresarse y comunicarse adecuadamente, de organizar la vida cotidiana y de llevar una vida familiar, laboral y social autónoma. Conduce a un estado de dependencia total y finalmente, a la muerte.

El criterio de clasificación más extendido es el etiológico. Se pueden considerar tres grandes categorías etiológicas: demencias degenerativas primarias, (donde se incluye la EA) demencias secundarias, causadas por un trastorno neurológico no degenerativo o que no tiene su origen en el SN, (pueden ser de causa vascular, infecciosa...) y demencias combinadas o mixtas, de etiología múltiple. *(Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias, 2010)*.

Las demencias degenerativas se caracterizan por una pérdida neuronal y sináptica y por el depósito cerebral de agregados proteicos insolubles intra y/o extracelulares. Son de presentación esporádica, apareciendo en edades más avanzadas (> 65 años), aunque existen formas hereditarias de inicio precoz. Se inician de forma insidiosa, y siguen un curso progresivo e irreversible.

La demencia afecta a nivel mundial a unos 47,5 millones de personas. En la población europea se estima una prevalencia de entre el 5,9 y el 9,4% en mayores de 65 años, según datos del consorcio Eurodem. La prevalencia se duplica aproximadamente cada 5 años y se prevé que el número total de personas con demencia prácticamente pase de 75,6 millones en 2030 a 135,5 millones en 2050. *(OMS, 2016)*.

Deterioro cognitivo leve

De forma general, la enfermedad de Alzheimer debuta como Deterioro cognitivo leve (DCL). El DCL es un intento de identificar la EA en sus fases más precoces. Los criterios para la definición de DCL incluyen que el paciente exprese quejas de memoria, que tenga rendimientos bajos en los tests de memoria, que tenga una función cognitiva global normal, haga una vida autónoma sin repercusión del déficit de memoria en actividades de la vida diaria y no cumpla criterios de demencia.

Algunos estudios anatomopatológicos han demostrado que más de la mitad de los pacientes con DCL tienen en sus cerebros las placas seniles y ovillos neurofibrilares característicos de la EA. Además, diversos estudios in vivo han mostrado que aproximadamente un 60% de los pacientes con DCL tienen patrones de PET-PIB y LCR muy similares a los de la EA. (*Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias, 2010*).

1.2. Epidemiología

Actualmente, la EA afecta a más de 24 millones de personas en todo el mundo y cada año se notifican más de 5 millones de casos nuevos. La prevalencia es de un 1% entre los mayores de 65, del 20% entre los mayores de 80 y del 40-50% en mayores de 95 años. Se prevé que para el 2050 el número de enfermos sea aproximadamente 13,8 millones. (*Bekris et al., 2010*). Además la EA de inicio temprano es sumamente prominente en las personas con el síndrome de Down.

El principal factor de riesgo es la edad, por lo que la prevalencia esta aumentado dramáticamente debido al envejecimiento de la población.

Varios estudios han sugerido que las personas de 65 años sobreviven una media de 3-9 años después de ser diagnosticados. La OMS determina que los pacientes pueden permanecer en la fase leve o temprana de la enfermedad una media de 1-2 años, en la moderada o media 2-3 años y entran en la fase tardía o grave a partir del quinto año. (*Winblad et al., 2016*).

Un estudio realizado en los EEUU demuestra que el riesgo de mortalidad depende en mayor medida de la edad en el momento del diagnóstico, siendo más alto entre los pacientes más jóvenes (75-84 años) que en el grupo de más avanzada edad (85 o más años). (*Winblad et al., 2016*).

Síntomas

Comienza con una disminución gradual de la memoria (porque los circuitos límbicos implicados en los procesos de memoria se alteran muy precozmente) que aumenta lentamente en gravedad hasta que los síntomas se vuelven incapacitantes. El síntoma más común que aparece de forma temprana es la dificultad para recordar los acontecimientos recientes. A medida que avanza la enfermedad se produce el deterioro de otras áreas de cognición, dando lugar a un conjunto de síntomas tales como la desorientación, confusión, razonamiento abstracto, alteraciones del lenguaje, cambios de humor y comportamiento, que se asocian con una mayor dificultad en el trabajo y en situaciones sociales. Cuando las lesiones se extienden a áreas asociativas temporoparietales posteriores, se hacen evidentes trastornos apráxicos (pérdida de la capacidad de llevar a cabo movimientos de propósito), afásicos (pérdida de capacidad de producir o comprender el lenguaje) y agnósicos (pérdida de la capacidad para reconocer estímulos). Todo esto puede desembocar en cambios en la personalidad, incluyendo paranoia, alucinaciones, apatía, incontinencia, perturbación del sueño y depresión. El declive cognitivo progresa gradualmente con la enfermedad.

1.3. Aspectos económicos

Se estiman unos costes económicos mundiales de 818 mil millones de dólares americanos para la enfermedad. Las estimaciones de costes para la demencia en Europa en los últimos años fueron entre 105.6 billones de euros. (*Winblad et al., 2016*). Sólo el 16% de los costes fueron costes médicos directos (para la prevención y el tratamiento), 41,7% fueron costes de atención informal (cuidadores no profesionales) y el 42,3% de atención social (cuidado a largo plazo y servicios a domicilio). Se estimó que el mercado global de productos farmacéuticos y de diagnóstico para la EA era de 10.000 millones de dólares en 2015 (1% de los costes totales) por lo que es evidente que los costes no se deben principalmente al tratamiento y prevención, lo que se traduce en una clara ausencia de terapia efectiva para la enfermedad. (*Winblad et al., 2016*).

Según la base de datos del Registro Sueco de Demencia (SveDem), el diagnóstico promedio para un caso de EA es de más de 5000 euros. El objetivo debe ser el de proporcionar un diagnóstico preciso, fiable y oportuno a los pacientes para proporcionar un tratamiento coste-efectivo con las terapias disponibles, y realizar el valor potencial de nuevas terapias modificadoras de la enfermedad.

La finalidad de la terapia no debe ser únicamente ralentizar la progresión de la enfermedad, sino minimizar el tiempo de demencia severa (disminuir la morbilidad tardía) y maximizar el

tiempo con los recursos cognitivos conservados, autonomía y calidad de vida. Si el tratamiento mejora la supervivencia pero prolonga el tiempo con demencia severa solo consigue beneficios marginales ya que se aumentan los costes de atención.

1.4. Tipos de Alzheimer

Se diferencian dos tipos de Alzheimer:

Alzheimer familiar, presenil, juvenil o temprano: Constituye menos del 5 % de los casos. Se caracteriza por su aparición entre los 35 y 40 años de edad y se transmite de forma autosómica dominante. En su desarrollo están implicados tres genes:

1.4.1. Proteína precursora β -amiloide (APP)

Se trata de una glicoproteína de membrana integral de tipo I de la que deriva el péptido β -amiloide (ver más adelante). El gen que codifica para esta proteína se localiza en el cromosoma 21. De hecho, el aumento de riesgo de los pacientes de Down se explica por la triplicación de este gen. Se conocen más de 20 mutaciones en este gen. La mayoría de estas mutaciones se localizan en los sitios de escisión por secretasas o en el dominio transmembrana de APP, en los exones 16 y 17.

Las secuencias que codifican APP se clonaron primero mediante selección de bibliotecas complementarias de ADN (ADNc). El clon de ADNc inicial codificaba una proteína de 695 aminoácidos (APP695) que consistía en 18 exones. El gen APP sufre un splicing (empalme) alternativo dando lugar a varias isoformas, denominadas según su longitud en aminoácidos (APP695, APP714, APP751, APP770 y APP563), que se expresan diferencialmente por tipo de tejido. (Beckis et al., 2010).

Las isoformas APP751 y APP770 están presentes tanto en el tejido periférico y neuronal. La región génica que codifica la porción de APP que se escinde para producir el péptido $A\beta$ se localiza dentro de los exones 16 y 17 de la variante de empalme de APP770. Se han observado otras variantes de empalme denominadas L-APPs. Varios estudios han indicado que el empalme alternativo de los exones está modulado en el cerebro durante el envejecimiento y posiblemente durante la EA. La diferente expresión de estas variantes de empalme entre tejidos parece implicar diferencias funcionales.

Mutaciones en el gen de APP

Un estudio del exon 17 del gen de la APP contribuyó al hallazgo de una mutación, transición citosina-timina, en individuos que procedían de una familia británica. La alteración se

manifiesta en un cambio de una valina (Val) por isoleucina (Ile) en el codón 717 y es conocida como mutación “London” que da origen a la enfermedad. Se halló en el codón 716 una mutación denominada “Florida”, la cual es patogénica y consiste en un cambio de Val por Ile. Se encontró, en una familia alemana, una mutación en el codón 692 de la APP, donde se produce un cambio de alanina por glicina, que se expresa fenotípicamente por una enfermedad intermedia entre la angiopatía congófilica y la EA. En diferentes familias suecas con EA de inicio precoz se identificaron mutaciones en el codón 670 y 671 del gen de la APP. Esta doble mutación se conoce con el nombre de mutación “Swedish”. Los síntomas de la enfermedad se explican por una transversión guanina-timina (codón 670) que ocasiona la sustitución de lisina (Lis) por aspártico (Asp) y la transversión adenina-citosina (codón 671) que se manifiesta en una sustitución de metionina por leucina. En pacientes con EA, cuyo inicio fue a los 59 años, se encontraron mutaciones en el codón 715 y 713 de la APP. Esta última es una mutación missense, que se presenta de forma esporádica, y se manifiesta por un cambio de alanina (Ala) por treonina (treo). La afectación del codón 715, sin embargo no ocasiona ningún cambio, es una mutación silente. En sujetos ancianos con demencia de inicio tardío se encontró una mutación en el codón 665, que resultó en una sustitución de glutámico (Glu) por Asp, donde los pacientes afectados cumplían con los criterios neuropatológicos de la EA. Esta es la única mutación en el gen de la APP que se asocia a la EA de inicio tardío.

Las mutaciones en APP aumentan la función tóxica, ya que incrementan la producción de fragmentos de β -amiloide insolubles.

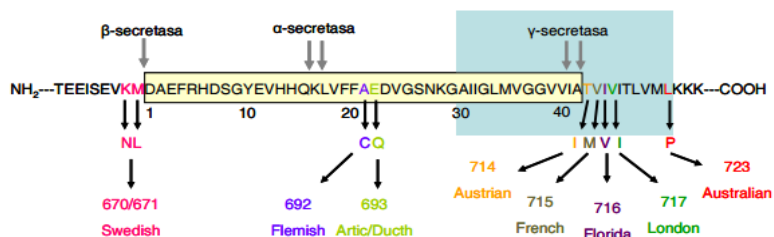


Ilustración 1. Esquema de la secuencia peptídica del APP, las mutaciones familiares y los sitios de procesamiento

La secuencia del A β está encuadrada en la caja de color amarillo claro. El rectángulo celeste delimita el dominio de membrana. Las flechas de arriba indican la zona de corte de las secretasas. Las mutaciones puntuales que se han encontrado en casos de EA familiar están destacadas en color.

1.4.2. Presenilinas (PS1 y PS2)

PS1 y PS2 son proteínas integrales de membrana con 6-9 dominios transmembranales y con dominios N- y C-terminal citosólicos. Poseen un lazo hidrofílico citoplasmático entre el dominio 6 y 7.

- PS1: El gen de la PS1 se localiza en el cromosoma 14 y se compone de 12 exones que codifican para una proteína de 467 aminoácidos. Las mutaciones en esta proteína se encuentran en el 30-50% de los casos de EA familiar, y son la principal causa de EA a partir de los 55 años. Se conocen más de 200 mutaciones distintas.
- PS2: Posee una alta homología con la PS1 (65%). Se encuentra codificada en el cromosoma 1 y se organiza en 10 exones traducidos que codifican un péptido de 448 aminoácidos. Para la PS2, se conocen pocas mutaciones responsables de provocar esta enfermedad.

Se encuentran ubicadas en el retículo endoplásmico, en el aparato de Golgi, lisosomas, endosomas, fagosomas, mitocondrias y también se han detectado en la membrana plasmática. Son altamente expresadas en el hipocampo, la corteza entorrinal y el subículo, aunque también aparecen en otras zonas del cerebro y en tejidos periféricos. Se les atribuyen varias funciones, como el control de la apoptosis, la inducción de señales intercelulares cuando se encuentran unidas a APP, homeostasis del calcio, crecimiento neurítico, plasticidad sináptica e intervienen en el procesamiento del APP. (*Gutiérrez y Moreno, 2009*).

Diversos autores han propuesto que el fenotipo neural de los pacientes con EA se basa fundamentalmente en una pérdida de la función presenilina. La mayoría de las mutaciones son missenses, por lo que causan sustituciones de aminoácidos a lo largo de la secuencia de la proteína y parecen dar como resultado un aumento relativo en la relación de péptidos A β 42/A β 40.

Las características clínicas de las familias afectadas por mutaciones en PS2 difieren con las de PS1 en que la edad de inicio de la enfermedad es generalmente mayor (45-88 años para PS2 y 25-65 años para PS1). Además, la edad de inicio es muy variable entre los miembros de la misma familia afectados por PS2, mientras que con PS1, la edad de inicio es generalmente bastante similar entre todos los miembros afectados (incluso de diferente familia). (*Beckis et al., 2010*).

Varios estudios en pacientes con EA familiar han proporcionado evidencias a favor de la hipótesis de la cascada amiloide. A partir de análisis funcionales de estos tres genes se ha podido comprobar cómo estas mutaciones provocan cambios concomitantes en el procesamiento de APP hacia la sobreproducción especies de A β que son más propensas a la agregación.

Alzheimer senil, esporádico o tardío: Representa una incidencia baja hasta los 60-65 años de edad, afectando a un 3 ó 4% de la población. A partir de esta edad, el porcentaje de incidencia

se duplica cada 5 años, lo que supone que más de la mitad de la población de 80 años puede padecer esta enfermedad. Este tipo de Alzheimer está relacionado con factores genéticos y ambientales (donde se incluyen el nivel de actividad física, el estado educativo, la diabetes mellitus, la hipertensión etc.).

1.4.3. Factores de riesgo del Alzheimer esporádico

La EA es un trastorno multifactorial que se determina por la interacción de la susceptibilidad genética y los factores ambientales a lo largo de la vida. La edad avanzada es el factor de riesgo más importante ya que los pacientes que desarrollan la enfermedad antes de los 65 años como resultado de mutaciones genéticas representan sólo una proporción muy pequeña de todos los casos (1-5%).

- Envejecimiento: Múltiples cambios asociados al envejecimiento favorecen las enfermedades neurodegenerativas: disminución de factores de crecimiento, alteraciones vasculares, cambios en la homeostasis del parénquima cerebral que conlleva el aumento de procesamiento amiloidogénico de APP y una respuesta inflamatoria mayor, con aumento del NO, citoquinas, estrés oxidativo y reactividad microglial. Además, disminuye la capacidad de degradación y aumenta el potencial oxidativo del β -amiloide.
- Factores cardiovasculares: Las placas amiloides se presentan habitualmente en zonas cercanas a los vasos sanguíneos, proceso que se denomina angiopatía amiloide cerebral (AAC). Además, alteraciones macrovasculares (aterosclerosis e infarto) y microvasculares (infartos, lesiones de la sustancia blanca, microhemorragias) y las patologías neurodegenerativas pueden converger durante el envejecimiento para causar daño cerebral aditivo, además de estrés oxidativo, inflamación y deposición de $A\beta$ tóxico y así promover el desarrollo clínico de un síndrome de demencia. La diabetes, el colesterol, la hipertensión y la obesidad en la edad adulta aumentan el riesgo no sólo de demencia vascular, sino también de EA.
- Lesión cerebral traumática (TBI): Conlleva una lesión axonal de uso difuso y una deposición de $A\beta$ y tau resultante de la aceleración-desaceleración repetitiva y fuerzas de rotación en el tejido cerebral, además de un hipocampo más pequeño.
- Factores psicosociales: (depresión, educación, compromisos sociales, y actividades de ocio).
- Factores genéticos: Aunque no se han encontrado mutaciones en genes que se transmitan de forma mendeliana en los pacientes de EA esporádico, el riesgo de sufrir esta patología aumenta al doble en familiares de primer grado de dichos pacientes. (Beckris et al., 2010). Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) han identificado más de 20 loci que

confieren un mayor riesgo de EA, incluidos los genes implicados en la inmunidad innata, el metabolismo del colesterol, procesamiento de APP y el reciclaje de vesículas endosomales, lo que sugiere que la patogénesis de la EA es bastante heterogénea. Dentro de los estos polimorfismos o mutaciones asociadas al AE esporádico conviene relatar los siguientes:

- Metabolismo del colesterol.

- Apolipoproteína E: El factor de riesgo genético más importante es la herencia del alelo de la APOE. El gen ApoE se encuentra en el cromosoma 19 y consta de 4 exones que codifican una proteína de 299 aminoácidos. El gen tiene tres pares de alelos posibles: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$ que traducen tres isoformas de proteína: E2, E3 y E4. Este polimorfismo se da únicamente en humanos.

La isoforma de ApoE más frecuente es ApoE3, que contiene cisteína y arginina en las posiciones de aminoácidos 112 y 158. En cambio, estas posiciones contienen sólo restos de cisteína en ApoE2 y sólo restos de arginina en ApoE4. La sustitución de cisteína-arginina afecta a la estructura tridimensional y a las propiedades de unión a lípidos entre isoformas. Por ello, ApoE3 y ApoE2 se unen preferentemente a las HDL, mientras que en apoE4, la sustitución de aminoácidos da como resultado la formación de un puente salino entre una arginina en posición 61 y un ácido glutámico en 255, lo que hace que se una preferentemente a las VLDL. (*Beckris y cols., 2010*).

Los niveles de ApoE son elevados en enfermedades neurodegenerativas severas, como la EA. Esta proteína parece estar implicada en la formación de placas amiloides y agregados neurofibrilares, al interactuar tanto con el péptido A β como con la proteína tau. La ApoE regula los niveles de A β en una forma dependiente de isoforma de ApoE, de manera que la isoforma ApoE4 promueve la acumulación de amiloide mientras que las isoformas ApoE3 y ApoE2 parece mejorar su depuración. Por otra parte, ApoE4 estimula la fosforilación de tau y es capaz de estimular la producción de PGE2, un factor inflamatorio producido por la microglía, que también contribuye a la patogénesis de la EA. Existe una asociación del genotipo $\epsilon 4$ con las formas precoces y tardías de la EA, de manera que la herencia de ApoE $\epsilon 4$ aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad hasta tres veces.

- ABCA7: Se basa en un transportador de lípidos que ha sido identificado como un locus genético para la enfermedad y las mutaciones de pérdida de función aumentan el riesgo de EA tres veces. Se expresa en neuronas, microglia y macrófagos periféricos. Un grupo de ratones mutantes con ABCA7 sufrió una duplicación de los niveles de A β insolubles sin modificar el procesamiento de APP, lo cual justifica la implicación del transportador en el aclaramiento de A β . (*Selkoe y Hardy, 2016*).

- *Procesamiento APP.*
 - ADAM10: Este gen, también conocido como kuz, AD10 o MADM, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 15. Dos publicaciones recientes refieren una asociación significativa entre el polimorfismo rs514049 ubicado en el promotor del gen y los niveles de APP α . En la primera de ellas se encontró que los controles con genotipo C-C tienen mayores niveles de APP α respecto a los otros genotipos y se presenta el efecto opuesto en los pacientes con EA. En la segunda publicación, Bekris y colaboradores determinan que la presencia del haplotipo C-A está asociada con mayores niveles de la fracción soluble de APP α en LCR de individuos normales comparados con pacientes y mayores niveles de la proteína ADAM10 en hipocampo (pero no en cerebelo) de sujetos con menor número de placas comparados con individuos con más placas. (*Castañeda, 2013*).
 - NCSTN: Este gen, también conocido como APH2, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 1. Se han detectado 14 polimorfismos, 10 de ellos intrónicos, 3 mutaciones silentes y una mutación sin sentido que parece no ser patogénica. En una muestra de pacientes encontraron un haplotipo (hap B) cuya frecuencia fue mayor en el grupo de EA de inicio temprano respecto a los pacientes de comienzo tardío y los controles.
- *Sistema inmune innato.*
 - CR1, cuyo bloqueo inhibe la activación microglial y potencia la fagocitosis microglial; CD33, cuya inactivación potencia la captación microglial de A β y TREM2, que es responsable de mantener la fagocitosis microglial de A β . Los tres parecen estar involucrados directa o indirectamente en la respuesta de microglia a la deposición de A β . Los niveles de TREM2 en el LCR suben a medida que aumenta la carga de la placa, lo que sugiere que puede ser un biomarcador útil. Los tres parecen estar involucrados directa o indirectamente en la respuesta de microglia a la deposición de A β .
- *Reciclaje de vesículas endosomales.*
 - Esta categoría incluye SORL1, BIN1 y PICALM. Todos ellos están implicados en el procesamiento de APP. En modelos transgénicos con deficiencias en SORL1 se observa un incremento en los niveles de producción de A β y formación de placas. En EA se observan niveles reducidos de este gen en LCR considerándose como un potencial biomarcador de diagnóstico. PICALM participa en el transporte de A β a través de la barrera hematoencefálica: Las células endoteliales humanas derivadas de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) que portaban un alelo protector de EA exhibían mayores niveles de PICALM y un aclaramiento de A β mejorado.

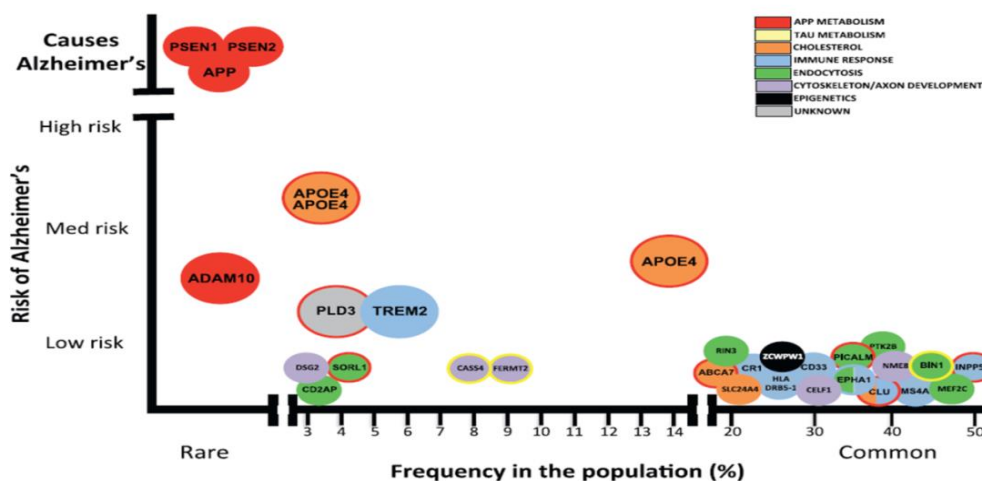


Ilustración 2. Gráfica sobre polimorfismos asociados a la AE

2. PREVENCIÓN EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Una revisión sistemática sobre los estudios epidemiológicos que se centraron en siete factores de riesgo modificables (baja educación, tabaquismo, diabetes, diabetes mellitus, hipertensión, obesidad, depresión e inactividad física) sugirieron que una reducción del 10-20% podría reducir la prevalencia mundial de EA entre un 8-15% en 2050 (8,8-16,2 millones de casos). Además, el retraso de la aparición de la demencia en 5 años podría reducir hasta un 50% de casos. (Bengt et al., 2016).

Los ensayos iniciales de prevención comenzaron a partir de los años noventa. Hasta entonces los fármacos que habían sido aprobados como tratamiento sintomático para pacientes con EA fueron probados para la prevención de la demencia y el deterioro cognitivo leve. En vista del fracaso generalizado de los ensayos la atención se dirigió a la prevención de la disminución cognitiva, especialmente en los estudios que probaban la eficacia de las intervenciones en el estilo de vida. Paralelamente, se iniciaron varios ensayos de fase 3 para tratamientos específicos de la EA con la esperanza de encontrar un agente modificador de la enfermedad capaz de retardar o detener el proceso de la enfermedad, pero todos fracasaron, posiblemente porque la intervención en la fase de demencia era demasiado tarde. Recientemente se han iniciado ensayos que prueban intervenciones farmacológicas para la prevención del deterioro cognitivo pero ningún estudio ha mostrado convincentemente que un enfoque de fármaco único sea eficaz en la prevención de la demencia.

Ensayos de prevención en poblaciones con alto riesgo de demencia

Estos ensayos están a la orden del día debido al claro fracaso terapéutico al que se enfrenta esta enfermedad.

Los estudios de la Red de Alzheimer Dominantemente Heredada (DIAN) han inscrito a individuos que portan mutaciones en uno de los genes para la APP, PS1 o PS2. Aunque estos casos de EA familiar representan sólo el 1-5% de todos los casos, el hecho de que la progresión a EA sintomática es casi inevitable en este grupo hace que su inclusión en los ensayos de prevención y tratamiento sea realmente importante. Este estudio ha demostrado que los cambios fenotípicos asociados con la enfermedad puede detectarse varios años antes de la aparición de síntomas cognitivos en las personas con autosomía dominante: Las concentraciones de A β 42 en LCR disminuyen 25 años antes del inicio esperado de los síntomas y la deposición cerebral de A β puede ser detectada 15 años antes de los síntomas. (*Winblad et al., 2016*). El objetivo es intervenir antes de que surjan los síntomas.

El ensayo API se centra en la mayor aparición temprana de EA: En Antioquia, (Colombia) existe una población de 5000 individuos, de los cuales 1500 llevan una mutación en PS1 que causa EA con una edad media de 45 años. El tratamiento anti-amiloide seleccionado se utiliza para prevenir la EA esporádica y evaluar el efecto de anticuerpos anti-amiloide en adultos mayores con evidencia de acumulación de amiloide cerebral. El estudio también examina los efectos psicológicos de revelar información a las personas sobre su riesgo de desarrollar EA.

3. PATOGENIA

La enfermedad de Alzheimer fue descrita en 1907 por el neuropatólogo y psiquiatra alemán Alois Alzheimer en el artículo titulado 'Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde' ("Sobre una enfermedad peculiar de la corteza del cerebro"). Esta descripción fue realizada en una paciente de 55 años, Auguste Deter, que murió tras sufrir una pérdida progresiva de memoria, desorientación espacio-temporal, alucinaciones, trastornos de la conducta y del lenguaje. El análisis post-mortem de su cerebro reveló la presencia de depósitos extracelulares de A β denominados placas seniles y marañas de fibras intracelulares constituidas por la proteína tau hiperfosforilada, lesiones histopatológicas que hoy en día se consideran los principales marcadores de diagnóstico de esta enfermedad.

3.1. Neuropatología

Los principales *cambios macroscópicos* característicos del cerebro de los pacientes incluyen una importante atrofia cortical, con adelgazamiento de las circunvoluciones, ensanchamiento de los surcos, engrosamiento de las meninges, dilatación de las cavidades ventriculares y disminución del peso y volumen cerebral. El patrón de atrofia más común es el difuso, seguido

por una combinación de atrofia fronto-temporal, frontal o temporal aisladas y, en menor proporción, puede haber una afectación parietooccipital.

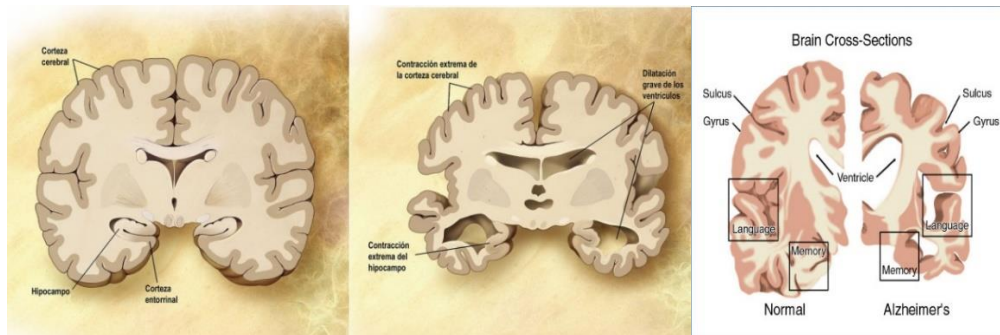


Ilustración 3. Cambios macroscópicos en la EA (sección transversal del cerebro)

3.1.1. Neurodegeneración

La muerte o degeneración neuronal es un fenómeno común durante el envejecimiento que se produce de manera prematura en situaciones de daño cerebral agudo (isquemia o traumatismos encefálicos) y crónico, como son las enfermedades neurodegenerativas (EA, Parkinson o ELA) que se caracterizan por la pérdida neuronal selectiva de determinadas subpoblaciones en el SNC. La disminución del número de sinapsis se considera el hecho neuropatológico que mejor se relaciona con la demencia en EA. (Selkoe y Hardy, 2016).

En los casos preclínicos, donde aparecen las primeras placas amiloides y ovillos neurofibrilares, la región CA1 del hipocampo y la corteza entorrinal no muestran una disminución significativa del número de neuronas. Sin embargo, en la fase intermedia o moderada, existe un 35% de pérdida neuronal en la corteza entorrinal, siendo un 50% en la capa II. En la fase avanzada, se ha cuantificado una reducción del 32% en la corteza entorrinal, un 57% en la capa II y un 41% en capa IV, mientras que las demás capas sufren una pérdida neuronal del 25%. (Gutiérrez y Moreno, 2009).

El declive cognitivo se correlaciona estrechamente con la pérdida neuronal. Gracias a las técnicas de resonancia magnética, se ha podido realizar un seguimiento del avance de la enfermedad a lo largo del tiempo. En las imágenes obtenidas de pacientes con EA se ha observado que existe un patrón de afección de la enfermedad en distintas regiones cerebrales, viéndose afectada en primer lugar la corteza temporal, seguida de la frontal y, finalmente, disminuye la densidad neuronal en la corteza somatosensorial, de tal modo que en estadios tempranos de la enfermedad existe una disminución del 15% de la materia gris de la corteza temporal y parietal de manera bilateral, mientras que regiones como la corteza motora o la sensorial primaria apenas se ven afectadas. Un año más tarde, las imágenes realizadas en el

mismo individuo registraron que la corteza frontal pasaba de tener una pérdida neuronal del 6% a más del 15%, mientras las áreas motoras y sensoriales permanecían sin daños. (Gutiérrez y Moreno, 2009). La vulnerabilidad de las áreas de asociación neocortical se debe posiblemente a la conexión funcional que tienen con las estructuras límbicas, zona de inicio de la patología. La atrofia que sufren tanto la corteza entorrinal como el hipocampo se correlaciona perfectamente con la pérdida de memoria característica de la EA.

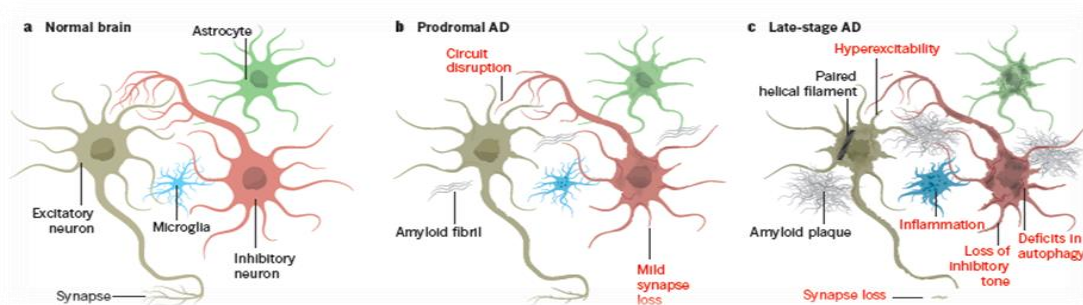


Ilustración 4. Circuitos neuronales y sinapsis durante la progresión de AD

A) Las subpoblaciones de neuronas y células gliales forman circuitos funcionales a través de conexiones sinápticas. B) En la EA prodrómica, las fibrilas amiloide- β comienzan a formarse en el espacio extracelular, contribuyendo a la disfunción precoz del circuito y a la iniciación de procesos inflamatorios. C) En la fase tardía de EA, las placas amiloide- β crecen cuando la producción del péptido supera su depuración y también se forman ovillos neurofibrilares intracelulares. Los déficits en la autofagia y otras vías de control de calidad contribuyen a la disfunción de las neuronas y la glía. La activación y proliferación de las células gliales promueve la inflamación y puede afectar la función del circuito de numerosas maneras. Varios mecanismos afectan a la señalización GABAérgica y contribuyen a la pérdida de tono inhibitorio, comprometiendo la fidelidad de las conexiones de red sináptica para la comunicación de largo alcance.

La primera evidencia de la disfunción de la red en la EA fue la observación de la pérdida de neuronas colinérgicas en cerebros postmortem. Las neuronas colinérgicas se encuentran en distintas regiones subcorticales del cerebro y utilizan la acetilcolina como neurotransmisor. Se extienden a través del cerebro, modulando el tono excitatorio de los circuitos y facilitando estados como el sueño, la vigilia y la atención. La identificación de la formación de ovillos neurofibrilares y la degeneración en las neuronas colinérgicas apoya la hipótesis colinérgica, que establece que la pérdida de neuronas colinérgicas es un evento que conduce a la EA. Los fármacos que se dirigen a la señalización colinérgica representan un porcentaje elevado de los tratamientos para la EA, sin embargo, la eficacia de los mismos es corta y pueden retardar temporalmente la enfermedad, pero no detienen ni revierten la disminución de la memoria.

A nivel microscópico, las principales lesiones que caracterizan la EA son:

3.1.2. Placas seniles

Son depósitos extracelulares insolubles formados por la agregación de péptido β -amiloide que se deposita tanto en el parénquima cerebral como en la pared de los vasos sanguíneos cerebrales. Se dividen en:

- Placas neuríticas: depósitos de aspecto filamentosos formados principalmente por fibrillas de $A\beta_{42}$, además de la forma $A\beta_{40}$. Aparecen neuritas distróficas y células de la microglía asociadas a estas placas, mientras que la astrogliá se localiza en la periferia.
- Placas difusas: depósitos no fibrilares, también denominados placas preamiloides. Son zonas difusas o amorfas sin núcleo compacto, con poca o ninguna microglía y no suelen poseer neuritas distróficas ni astrogliá. Suelen aparecer en zonas cercanas a neuronas. Están compuestas por $A\beta_{42}$ y un poco o nada de $A\beta_{40}$.

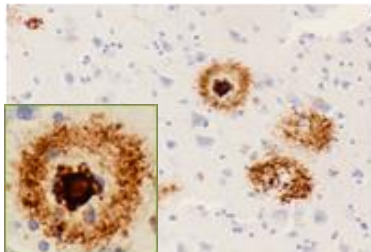


Ilustración 5. Placa neurítica clásica

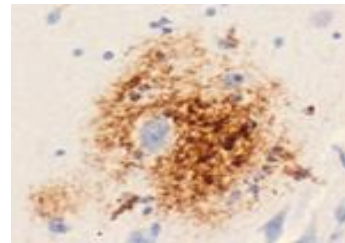


Ilustración 6. Placa difusa

3.1.2.1. Péptido β -amiloide

$A\beta$ es un péptido de longitud variable (39-43 aminoácidos) y tamaño de 4-6 kDa. Es producto natural del metabolismo de APP y resulta de la división secuencial de la misma. La estructura de APP incluye un dominio β -amiloide con sitios de escisión para enzimas secretasas. APP tiene las características estructurales de las proteínas de membrana: un largo segmento extracelular amino terminal y un corto segmento intracelular carboxilo terminal. Existe una familia de al menos 8 isoformas transmembranales diferentes de APP, las cuales se diferencian por la presencia o ausencia de los exones 7, 8,9 y 15. Las isoformas que se expresan en las neuronas que contienen el exón 15 son más amiloidogénicas y liberan mucho más péptido $A\beta$ que las otras.

Procesamiento de APP

Una vez sintetizada en el retículo endoplasmático rugoso, APP pasa por el aparato de Golgi donde se modifica postranscripcionalmente, (sufriendo N y O glicosilación, sulfatación y fosforilación) se empaqueta en vesículas de transporte, atraviesa el citoplasma y se inserta en

la membrana celular. Una vez allí, APP es procesada mediante la acción de diversas proteasas, siguiendo dos procesos que compiten por la misma parte de la proteína.

- En *la vía no amiloidogénica*, la escisión de APP en el dominio amiloide- β se da por α -secretasa, un complejo que contiene metaloproteasas ADAM. La α -secretasa o ADAM10 se encuentra anclada a la membrana y tiene varios sustratos entre los que se encuentran Notch y APP. Así libera el ectodominio sAPP α (fragmento soluble) dentro del lumen vesicular o al espacio extracelular, y el fragmento C-terminal CTF α de 83 aminoácidos (C83) que queda unido a la membrana. El procesamiento de CTF α por γ -secretasa, complejo enzimático del que forman parte PS1, PS2, Nicastrina y APh1, da lugar a los péptidos p3 (que puede encontrarse formando parte de las placas) y AICD (dominio intracelular de APP), que es citosólico, por lo que podría tener función en la regulación de la transcripción génica. Esta vía la acción de la α -secretasa previene la formación de péptido A β , por lo que impide la formación de depósitos A β .

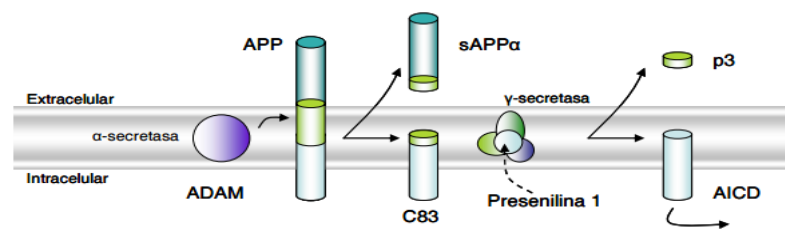


Ilustración 7. Esquema de la vía no amiloidogénica

- *La vía amiloidogénica* implica escisión de APP por β -secretasa (BACE1), que es una aspartil proteasa transmembrana tipo I, presente en células neuronales, en los compartimentos donde se produce el A β , como los endosomas y el aparato de Golgi, ya que requiere un pH ácido para su actividad como el que existe en el lumen de estos compartimentos. La homóloga BACE2 se encuentra en el tejido cardíaco y vascular, por lo que estaría implicada en el A β vascular. BACE1 libera un fragmento amino soluble, sAPP β y un fragmento de proteína de membrana integral carboxilo terminal conocido como C99 o CTF β . La escisión de CTF β por γ -secretasa produce péptidos A β de longitudes variables (40 ó 42 aminoácidos), así como el fragmento AICD. Los péptidos A β tienen una solubilidad limitada y forman autoagregados que constituyen las fibrillas insolubles que se encuentran en las placas seniles. El impacto patógeno de los péptidos A β varía con la longitud: Las especies más largas (A β 42-A β 43) son más propensas a la agregación. La formación de los fragmentos A β 40 o A β 42 es debido a que el sitio de procesamiento sobre el que actúa la γ -secretasa no tiene una secuencia específica. A β 40 es el péptido más frecuente y es soluble en agua, mientras que la isoforma A β 42 sólo constituye un 10%, pero es la forma más tóxica. A β 42

se agrega formando protofilamentos, que se acumularán en el espacio extracelular, generando las placas seniles.

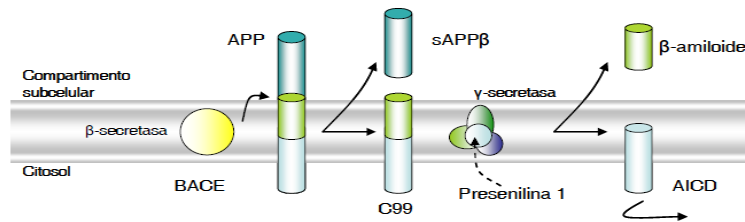


Ilustración 8. Esquema de la vía amiloidogénica

Degradación de A β

Para la degradación metabólica de estos péptidos existen distintos tipos de proteasas, capaces de degradar las formas monoméricas, oligoméricas y/o fibrilares:

La neprilisina o encefalinasa es una zinc-metaloproteasa capaz de eliminar A β insoluble asociado a la membrana, así como las formas monoméricas y oligoméricas del mismo. Esta proteína disminuye en el envejecimiento.

La enzima degradante de insulina (IDE) es una tiol metaloproteasa que reconoce sustratos con estructura en hoja β -plegada. Es capaz de degradar A β en su estado monomérico, pero no cuando éste se agrega y pasa a formar fibrillas insolubles.

Los péptidos formados tras la degradación no tienden a agregarse en forma de oligómeros, por lo que los productos de la degradación no son tóxicos.

Formas oligoméricas

Los oligómeros de A β deterioran tanto la función como la estructura sináptica. Es importante saber que los oligómeros solubles de A β 42 aislados directamente de la corteza pueden disminuir la función sináptica y el número de sinapsis de forma dependiente de la dosis. Hoy en día se piensa que las placas amiloides no son el único agente causal de los problemas sinápticos o la pérdida neuronal, ya que no siempre el número de placas se correlaciona con la severidad de la patología. La asociación de oligómeros A β y placas fibrilares ha sido apoyada por la cuantificación de oligómeros mediante ELISA en tejido cerebral post-mortem de pacientes no dementes o ligeramente dementes con diferencias en densidad de placas. El estudio reveló que los sujetos ricos en placa no dementes tienen relaciones oligómero-placa mucho más bajas que los pacientes ligeramente dementes. Este hecho es considerado como un punto débil en la hipótesis amiloide ya que estamos hablando de personas aparentemente normales que tienen placas abundantes y presentan bajos niveles de oligómeros asociados a la

placa. De esta manera se piensa que las placas pueden secuestrar oligómeros solubles hasta que alcanzan lentamente un límite físico de manera que los oligómeros en exceso difunden sobre las membranas sinápticas circundantes.

3.1.3. Ovillos neurofibrilares

La proteína tau es un fosfolipopéptido que se encuentra asociado a los microtúbulos del citoesqueleto cuya función biológica es promover el ensamblaje de tubulina en los mismos y favorecer su polimerización, por lo que es esencial para la supervivencia celular, ayudando a mantener la estructura interna de la célula.

Los microtúbulos son unos de los principales constituyentes mayores del citoesqueleto neuronal, participando en el transporte axonal y en el mantenimiento de la integridad estructural de la neurona. Cuando se produce una hiperfosforilación anómala de tau, los microtúbulos se desorganizan y tau, al ser insoluble, tiende a agregarse formando filamentos apareados helicoidales (PHF), y finalmente ovillos neurofibrilares (NFTs) intracelulares. La hiperfosforilación de tau se da en las neuronas con degeneración neurofibrilar y en las neuritas distróficas alrededor de los depósitos $A\beta$, dando lugar a placas neuríticas. La aparición temporal y espacial de estos ovillos refleja más estrechamente la gravedad de la enfermedad que la presencia de placas amiloides.

Tau tiene 79 residuos de serina y treonina que pueden aceptar una fosforilación. Las enzimas implicadas en la adición de grupos fosfato a la proteína son la proteína quinasa dependiente de ciclina 5 (CDK5) y la quinasa glucógeno sintasa 3 (GSK-3) además de otras seríntreonin proteín-quinasa. Tau está codificada por el cromosoma 17, que consta de 16 exones. Las distintas isoformas existentes en el SNC se generan por procesamiento alternativo de 11 de los exones y varían en su interacción con los microtúbulos.

La existencia de grandes cantidades de $A\beta$, el estrés oxidativo y cambios en la transducción de señales pueden provocar una desregulación en la actividad de las serín-treonin quinasa, provocando la hiperfosforilación de tau y la generación de NFTs, que provoca la degeneración del transporte axonal y que conduce a una pérdida sináptica, generación de neuritas distróficas y muerte neuronal.

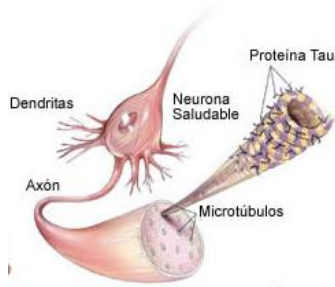


Ilustración 9. Esquema de ovillos neurofibrilares

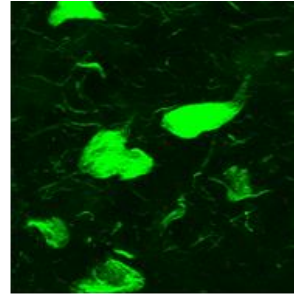


Ilustración 10. Ovillos neurofibrilares (Tinción Thioflavin S)

4. HIPOTESIS DE LA CASCADA AMILOIDE

Entre otras evidencias, los genes donde se encuentran las mutaciones causantes de EA familiar pertenecen al metabolismo del A β . En base a este hecho, hace aproximadamente 25 años se postuló la llamada hipótesis de la cascada amiloide (*Selkoe y Hardy, 2016*) convirtiéndose en el modelo dominante de la patogénesis de EA y en la base del desarrollo de tratamientos potenciales. Esta hipótesis ha sido modificada en los últimos años: actualmente se cree que determinados cambios en el metabolismo de A β provocan el inicio de la cascada amiloide, generando una elevación de los niveles de A β , ya sea por sobreproducción o por falta de eliminación, incrementando la proporción A β 42/A β 40. Debido a que la forma A β 42 tiende a oligomerizar más fácilmente, se potencia la formación de oligómeros difusibles, ejerciendo efectos tóxicos sobre las células gliales, lo que provoca cambios en la función sináptica. Todo esto provoca la activación de la respuesta inflamatoria (astroglía y microglía) provocando la liberación de diversas citoquinas inflamatorias, como el interferón g (IFN-g), factor de necrosis tumoral alpha (TNF alpha) y diversas interleuquinas. A su vez se forman las placas extracelulares de amiloide, lo que provoca la pérdida de las espinas sinápticas y generación de neuritas distróficas. Con el tiempo se provocan daños en el transporte axonal y se altera la actividad fosfatasa de las quinasas, provocando la hiperfosforilación de tau que da lugar a la formación de NTFs. La acumulación a largo plazo de especies tóxicas de A β conduce al daño oxidativo del ADN, pérdida de sinapsis, neurodegeneración y alteraciones en la actividad neuronal. Finalmente, la cascada termina con la muerte neuronal masiva y un estado de demencia progresivo.

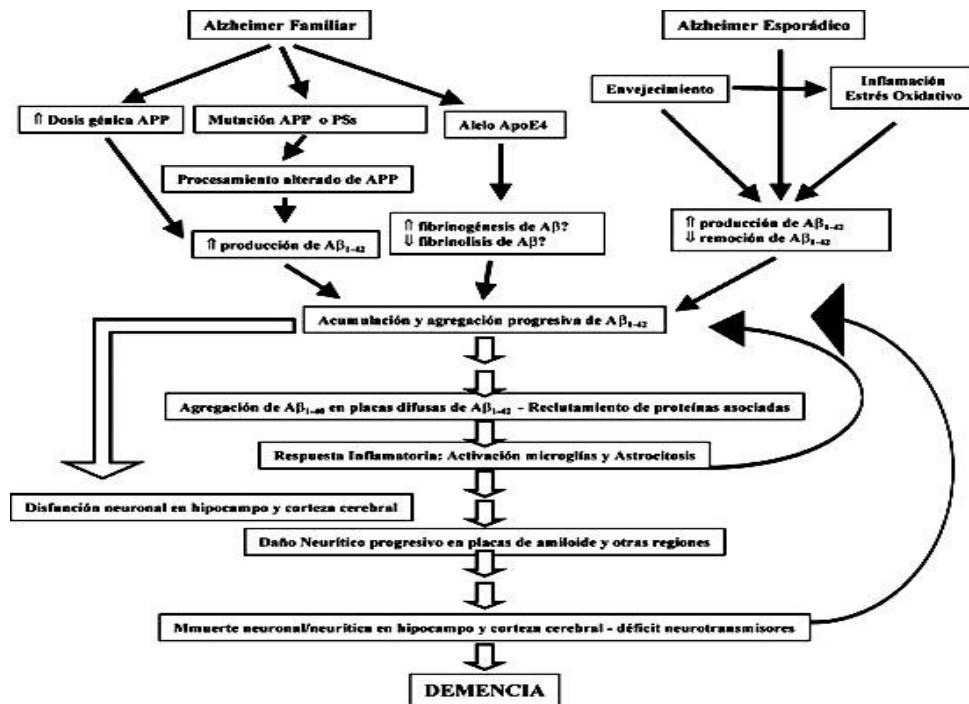


Ilustración 11. Esquema de la hipótesis amiloide

Conexión entre placas y ovillos

Diversos estudios genéticos y de biomarcadores han proporcionado la respuesta a la secuencia de la acumulación de $A\beta$ y tau en la EA. Las mutaciones hereditarias en APP y presenilina provocan una deposición temprana de $A\beta$ seguida por la acumulación de ovillos. Por el contrario, las mutaciones en el gen tau conducen a una forma de demencia frontotemporal sin acumulación posterior de $A\beta$. Por lo tanto, la acumulación de $A\beta$ puede conducir a la deposición de tau progresiva, pero no a la inversa. Sin embargo, para que la patología tau evolucione a EA, requiere la presencia concomitante de patología $A\beta$. Los estudios de laboratorio apoyan esta secuencia: el cruzamiento de ratones tg con APPh y ratones tg con tauh tiene como resultado una mejora de la deposición de tau sin cambiar la deposición de $A\beta$.

Pruebas de que la hipótesis amiloide puede ser errónea

Si bien la hipótesis amiloide propone que el depósito de $A\beta$ es el evento inicial de la EA, existen observaciones que revocan esta teoría, como son aquellos animales transgénicos que sobreexpresan mutaciones APP en APP y que no desarrollan la secuencia de eventos de la cascada amiloide. Además, la aparición tanto de las placas seniles como de los ovillos se produce en momentos y lugares diferentes. Los ovillos suelen ser más abundantes en las áreas donde es más intensa la destrucción neuronal, que son el hipocampo y las zonas adyacentes del lóbulo temporal (encargadas de la memoria). No obstante, la acumulación de placas es relativamente

escasa en estas áreas. Además, a diferencia de las placas, el número de NFTs se correlaciona de forma muy estrecha con el grado de demencia.

Se postuló que la presencia de gran cantidad de placas en personas con cognición normal sería indicativa de estadios preclínicos de EA, ya que la progresión de disfunción cognitiva leve a EA se asocia con los depósitos de A β . Sin embargo, recientemente se observó que algunos pacientes sin demencia pueden tener el mismo grado de afección por placas que quienes sí presentan demencia.

Otro argumento en contra de esta hipótesis es el hecho de que hasta un 50% de los casos presentan hallazgos histopatológicos mixtos de otros cuadros neurodegenerativos, como cuerpos de Lewy por acumulación de sinucleína alfa. (*Estrategia en Enfermedades Neurodegenerativas del Sistema Nacional de Salud, 2016*). Es posible que la EA sea heterogénea en su presentación debido a que sus causas sean heterogéneas e incluyan factores no genéticos. Estudios de señales moleculares indican que existe gran complejidad en esta enfermedad, donde aparecen varios cambios transcripcionales que la diferencian del envejecimiento normal. Se ha visto además que hay perfiles de neuroinflamación y metabolismo de lípidos alterados incluso en estadios tempranos.

5. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de un síndrome de demencia y de EA es la base para el tratamiento farmacológico y no farmacológico, especialmente en personas más jóvenes. En las personas mayores, en las que la demencia suele ser mixta, el diagnóstico diferencial es menos útil.

En la actualidad, el diagnóstico de la EA se basa en la historia clínica, el examen neurológico y pruebas neuropsicológicas. (*Bekris et al., 2010*). El Manual de Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales (DMS) es un manual usado en psicología y psiquiatría para el diagnóstico de enfermedades y trastornos mentales. Según éste, los criterios para diagnosticar la demencia requieren la pérdida de 2 o más de los siguientes factores: memoria, lenguaje, cálculo, orientación o juicio.

Se necesita un examen post-mortem para confirmar la presencia de depósitos extracelulares de A β y ovillos neurofibrilares en el cerebro.

El MMSE o mini examen del estado mental es un breve cuestionario muy conocido empleado para determinar la existencia de fallos cognitivos. Fue desarrollado en 1970 y ha llegado a ser

el test cognitivo más usado para determinar la existencia y el rango de las enfermedades neurológicas.

Con esta técnica de neuroimagen es posible observar las alteraciones que se producen en distintas regiones del cerebro y el desarrollo secuencial de síntomas. Existen dos tipos de neuroimagen:

- Neuroimagen funcional. Es más sensible y específica para detectar alteraciones tempranas de EA. Se emplea para el estudio de cambios en el metabolismo u oxigenación sanguínea asociados a la EA. Se diferencian en:
 - PET: La tomografía por emisión de positrones permite determinar la distribución regional de múltiples marcadores biológicos (actividades enzimáticas, procesos sinápticos, hormonas, medicamentos o anticuerpos).
 - SPECT: Tomografía por emisión de un único fotón. Permite conocer las zonas de hipoperfusión cerebral mediante la administración de un trazador. Se pudo comprobar que en los pacientes de EA la perfusión de la corteza parietotemporal, el hipocampo y el giro cingulado estaba disminuida en comparación con los controles.
- Neuroimagen estructural. Permite predecir la probabilidad de evolucionar hacia una demencia.
 - MRI: Neuroimagen de resonancia magnética. Permite examinar las alteraciones de la anatomía cerebral in vivo tanto en el envejecimiento normal como en varias enfermedades relacionadas con la edad. Permite conocer la existencia de atrofia tanto en la corteza entorrinal como en el hipocampo en estadios tempranos de la EA.

Evaluaciones clínicas

La EA es un desorden que evoluciona lentamente, con un largo período preclínico seguido de una fase prodrómica con síntomas leves antes de que se alcance la etapa de demencia. (Winblad et al., 2016). Actualmente, el diagnóstico clínico de la EA en la atención clínica y en la mayoría de los ensayos clínicos se realiza en la fase de demencia. La Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) y el DMS ofrecen un conjunto de criterios donde se enumeran las características clínicas necesarias para hacer el diagnóstico clínico de la EA típica, como el déficit de memoria en la presentación inicial, el inicio progresivo lento y el curso de la enfermedad. También reconocen las presentaciones atípicas de la EA, como la variante del lenguaje (afasia logopéica), la variante visuoespacial (atrofia cortical posterior) y la variante con disfunción ejecutiva (variante frontal).

Los criterios de diagnóstico incluyen los criterios del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y de la Asociación de Enfermedades de Alzheimer y Trastornos Relacionados (NINCDS-ADRDA), los criterios del Instituto Nacional de Envejecimiento y Alzheimer (NIA-AA) y los criterios revisados del Grupo de Trabajo Internacional (IWG-2). Los instrumentos estándar utilizados en el cuidado clínico y los ensayos clínicos incluyen baterías completas y detalladas de pruebas cognitivas, escalas de evaluación del deterioro funcional, cuestionarios basados en informes sobre actividades instrumentales de la vida diaria y actividades básicas de la vida diaria y evaluaciones de síntomas neuropsiquiátricos.

Sin embargo, las personas con un diagnóstico clínico de EA, cuando se sigue a post-mortem, no siempre tienen patología EA característica y muchas personas mayores que cumplen los criterios neuropatológicos para la EA no tienen demencia cuando mueren, lo cual dificulta su detección temprana.

Evaluación cognitiva

El rendimiento cognitivo de los pacientes se describe con una puntuación global única: el MMSE expresa el nivel de rendimiento cognitivo con un único número que va de 0 a 30, y la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer-subescala cognitiva (ADAS-Cog), expresa la función cognitiva como un número único entre 0 y 70. Este enfoque debe extenderse, especialmente para su uso en ensayos clínicos, midiendo los componentes individuales de la cognición (por ejemplo, la memoria, la atención, el lenguaje) para aumentar la comprensión de cómo estos componentes se afectan con el tiempo por la enfermedad, cómo se relacionan con biomarcadores como indicadores de la patología y cómo responden al tratamiento.

Uso de biomarcadores en el diagnóstico de AE

Los biomarcadores para EA se encuentran en un estado de transición entre la investigación y la práctica clínica. Su aplicación generalizada para permitir un diagnóstico preciso, temprano y diferencial se está retrasando por varios factores metodológicos (entre los que destacamos la falta de estandarización), económicos y políticos.

Se van a usar para monitorizar los cambios cerebrales que se producen durante el transcurso de la enfermedad. El volumen y la estructura del cerebro se pueden investigar mediante SPECT y MRI ya que el tamaño de las regiones cerebrales particulares, como el hipocampo, se utiliza para evaluar la atrofia cerebral en el EA. Para estudiar la actividad funcional del cerebro, las técnicas tipo PET se utilizan para medir el metabolismo de la glucosa cerebral y el flujo sanguíneo cerebral que se correlacionan con la función cognitiva. Esta técnica también permite la detección de la patología mediante imágenes de la deposición de placa amiloide y se están

desarrollando varios marcadores de PET para la obtención de imágenes de la deposición de tau. El LCR puede obtenerse fácilmente mediante punción lumbar y es muy útil: Por ejemplo, concentraciones aumentadas de tau total (T-tau) y tau fosforilado (P-tau) y concentraciones disminuidas de A β 42 sugieren una degeneración neurológica similar a la EA.

Los biomarcadores diagnósticos son marcadores de la patología in vivo que están presentes en todas las etapas de la enfermedad y pueden usarse para detectar cambios patológicos de EA incluso en el estado asintomático. Estos son, PET de placas amiloides y la medida de A β 42 y P-tau en el LCR. Por el contrario, un marcador de progresión indica la gravedad clínica cambios a medida que avanza la enfermedad. Por ejemplo, PET del metabolismo de la glucosa cerebral, la medición de P-tau en el LCR y la atrofia cerebral medida por MRI.

El uso de estos biomarcadores ha demostrado que el proceso fisiopatológico de la EA comienza una década o más antes de la aparición de los síntomas. Un estudio de cohorte prospectivo demostró que la deposición de A β es lenta y que tarda alrededor de 20 años antes del inicio de los síntomas clínicos. Los metaanálisis muestran una correlación entre la positividad amiloide y el diagnóstico clínico, la edad y el genotipo APOE. Debido a que un paciente con síntomas clínicos de EA leve ya tendrá una pérdida sustancial de neuronas en regiones específicas del cerebro, la reversión o disminución sintomática en esta etapa de la enfermedad es extremadamente difícil. (*Winblad et al., 2016*).

Trazadores o radiofármacos como florbetapir (Amyvid, Eli Lilly, Indianápolis, IN, EE.UU.), florbetaben (Neuraceq, Piramal, Berlín, Alemania) y flutemetamol (Vizamyl, GE Healthcare, Waukesha, WI, EE.UU.) han sido aprobados por la FDA y la EMA para su uso en la evaluación clínica de los trastornos de la memoria para excluir la EA. (*Winblad et al., 2016*).

El desarrollo de los trazadores para PET que se unen al A β , como el compuesto C-Pittsburgh B (PIB) y F-florbetapir, ha permitido evaluar el patrón de deposición A β a lo largo de la EA. Los estudios transversales de PET confirman hallazgos neuropatológicos que muestran depósitos considerables de A β a lo largo del neocórtex y también demuestran que la cantidad de retención cortical es predictiva del deterioro cognitivo.

Aunque los estudios de imagen en seres humanos muestran que la localización del A β se correlaciona con la disfunción de la red cortical, estas técnicas todavía tienen que revelar patrones iniciadores de la acumulación de A β o dar una idea de los mecanismos de propagación del mismo. El objetivo es identificar regiones que muestren susceptibilidad a la deposición amiloide para la detección temprana y la intervención en EA.

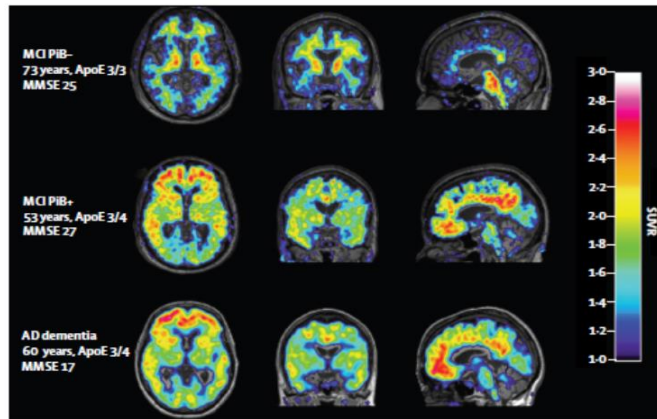


Ilustración 12. Deposición de placas amiloides fibrosas en pacientes con DCL y EA

La deposición de placas de amiloide medida con PiB (C-Pittsburgh compuesto B) mediante PET en dos pacientes con DCL y un paciente con AE. Las imágenes de PET y RM se presentan como secciones transversales (izquierda), coronal (medio), y sagital (derecha). La condición del paciente con DCL y retención baja de C-PiB (PiB-) permaneció como DCL y no se convirtió en EA, mientras que el paciente con DCL y retención alta de C-PiB (PiB+) sufrió demencia en un plazo de 2 a 5 años. Los valores de absorción de C-PiB estándar se expresan en relación con el cerebelo en una escala de color. SUVR: relación del valor de captación estándar.

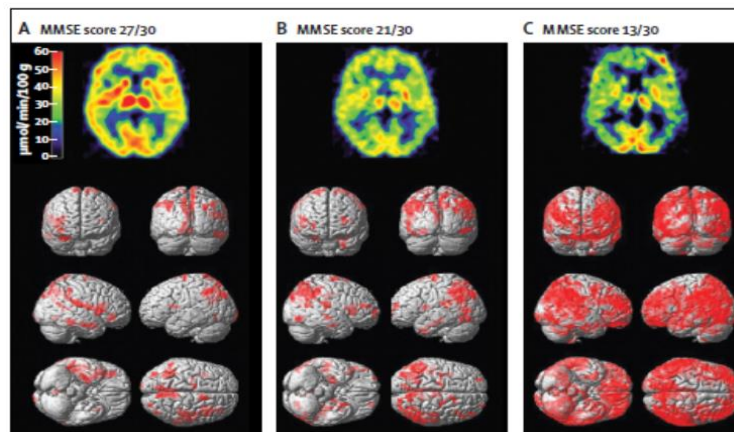


Ilustración 13. Reducción progresiva del metabolismo regional de la glucosa cerebral en un paciente con EA

La fila superior muestra imágenes de PET del metabolismo regional de glucosa ($\mu\text{mol} / \text{min} / 100 \text{ g}$), medida por la captación de F-FDG (fluorodesoxiglucosa), en una mujer con diagnóstico de AE a la edad de 53 años (A), 56 años (B), y 58 años (C). Los valores de absorción de F-FDG se expresan en una escala de color. La fila inferior muestra una representación tridimensional del cerebro del mismo paciente, donde el rojo representa áreas en las que el metabolismo regional de la glucosa cerebral se redujo significativamente durante la progresión de EA.

Imagen amiloide y biomarcadores del LCR

Numerosas familias que portan mutaciones de APP o presenilinas han sido estudiadas colectivamente para determinar el curso en el tiempo de biomarcadores de fluidos, neuroimagen y cambios clínicos antes de la aparición de síntomas de EA basándose en la edad de inicio de los síntomas en un padre/madre con la misma mutación. Los análisis iniciales de

una cohorte de AE familiar (DIAN) sugieren que los niveles de A β 42 en el LCR pueden estar algo elevados (frente a lo normal) y luego comenzar a disminuir 25 años antes del inicio de los síntomas. A esto le sigue la aparición de depósitos de amiloide en el cerebro (detectado por PiB-PET), aumento de los niveles de tau en el LCR y atrofia cerebral progresiva aproximadamente 15 años antes del inicio esperado de los síntomas. El hipometabolismo neuronal y la alteración de la memoria episódica parecen comenzar unos 10 años antes de los síntomas (Selkoe y Hardy, 2016). Si tenemos en cuenta que el estudio sobre Biomarcadores y Estilo de Vida (AIBL) sugiere que este curso de tiempo es generalmente similar al de EA esporádica podemos considerar que la deposición de A β puede comenzar hasta dos décadas o más antes de un deterioro cognitivo clínicamente notable. Por estas razones no es de extrañar que las intervenciones terapéuticas dirigidas sólo en la fase clínica leve-moderada sean demasiado tarde para mejorar la progresión. En general, la obtención de imágenes cerebrales y los estudios con biomarcadores de LCR en seres humanos sugieren que la secuencia de pasos patogénicos de EA actualmente medibles in vivo sigue ampliamente el esquema propuesto por Jack y colaboradores (ver figura).

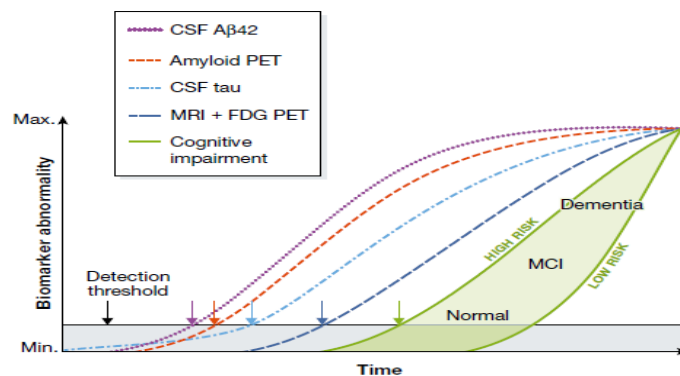


Ilustración 14. Modelo temporal hipotético que integra biomarcadores de la EA

El umbral para la primera detección de biomarcadores asociados con cambios fisiopatológicos se denotan por la línea horizontal negra. El área gris indica la zona en la que los cambios fisiopatológicos anormales están por debajo de este umbral de detección de biomarcadores. En este modelo, la aparición de la patología tau puede preceder a la deposición de A β en el tiempo, pero sólo en un nivel de detección de biomarcadores sub-umbral. La deposición de A β ocurre independientemente y se eleva por encima del umbral de detección de biomarcadores (flechas morada y roja). Esto induce la aceleración de la tauopatía, y el LCR tau se eleva por encima del umbral de detección (flecha azul clara). Posteriormente, FDG PET y MRI (flecha azul oscuro) se elevan por encima del umbral de detección. Por último, el deterioro cognitivo se hace evidente (flecha verde), con una amplia gama de respuestas cognitivas que dependen del perfil de riesgo del individuo (área de color verde claro). Obsérvese que mientras que la alteración de la A β 42 en LCR está representada como un biomarcador (púrpura), representa una disminución en los niveles de A β 42 de LCR y es un sucedáneo para un aumento de A β 42 parenquimatoso y cambios en otros péptidos de A β en el tejido cerebral.

6. TRATAMIENTO

Actualmente, la terapia más comúnmente administrada para la EA se centra en el uso de:

- Inhibidores de la acetilcolinesterasa: En personas de avanzada edad y en pacientes con demencia existen disfunciones colinérgicas importantes en el SNC relacionadas con la pérdida de memoria. Los inhibidores para la acetilcolinesterasa reducen la degradación de acetilcolina, mejorando la transmisión colinérgica y mejorando los síntomas de la EA durante un periodo de tiempo limitado, y en etapas de demencia leve/moderada, ya que en fases avanzadas de la EA no tienen efectos sobre los síntomas. En este grupo se encuentra el donepezilo, la rivastigmina y la galantamina, que promueven la señalización colinérgica al inhibir la degradación de la acetilcolina para mantener sus niveles en el espacio extracelular, lo que se cree que promueve la actividad neuronal y mejora el tono colinérgico.
- Moduladores de los receptores glutamatérgicos ácido N-metil-D-aspartico (NMDA): La descarga excesiva de glutamato está relacionada con procesos neurodegenerativos (excitotoxicidad del glutamato y posterior desequilibrio de la homeostasis del calcio). El clorhidrato de memantina es un fármaco antagonista no competitivo del receptor NMDA y actúa como modulador de la transmisión glutamatérgica. Es el único compuesto que ha sido aprobado para su uso en la etapa tardía de AE, ya que podría promover la conectividad de circuitos mediante la preservación de la integridad sináptica. Además contrarresta los efectos de los circuitos excitatorios hiperactivos y previene altos niveles de glutamato debilitando la fuerza de la sinapsis.

Mientras que en EE.UU. estos fármacos se utilizan en pacientes en etapas de pre-demencia, en Europa no se autorizan medicamentos para la EA preclínica, prodrómica o el DCL, ni para prevención en grupos de riesgo.

Como estos medicamentos ya están disponibles como genéricos el precio ha disminuido sustancialmente: el precio del donepezilo se ha reducido aproximadamente en un 90% en países como Suecia, Reino Unido y Alemania. Las formulaciones patentadas de dosis más alta se comercializan en Europa para competir con los genéricos, a pesar de la ausencia de evidencia de que dosis más altas de fármacos patentados sean más eficaces que las dosis más bajas recomendadas.

Eficacia de los medicamentos

Se basa en la función cognitiva. No abordan otros trastornos, como el deterioro cognitivo debido a EA mixta o la demencia con cuerpos de Lewy.

Los efectos de los inhibidores de la acetilcolinesterasa han sido estadísticamente pequeños, y aún se desconoce hasta qué punto son eficaces y rentables. Aunque mejoran temporalmente los síntomas, los pacientes siguen experimentando deterioro progresivo en la capacidad cognitiva, psicosis, agitación, depresión y trastornos del sueño.

Los ensayos clínicos llevados a cabo no permiten evaluaciones económicas ya que su duración ha sido corta. De hecho, los ensayos clínicos de fármacos en desarrollo para la demencia leve o la EA prodrómica son de 18 a 24 meses de duración para mostrar los efectos a largo plazo. Por lo tanto, se han utilizado varios enfoques de simulación, patrocinados en gran parte por las compañías farmacéuticas, que aseguran que el tratamiento es coste- efectivo.

6.1. Desarrollo terapéutico

Agentes farmacológicos ya aprobados para la EA se presentan a continuación por tipo de intervención y en el orden en que las intervenciones se probaron por primera vez:

Primero aparecieron los *tratamientos antihipertensivos* que pretendían proteger contra la EA disminuyendo la presión arterial. Se utilizaron la nitrendipina (enalapril y/o hidroclorotiazida), el candesartán, y el perindopril entre otros. Posteriormente, la *terapia de reemplazo hormonal* fue sugerida como una intervención preventiva ya que después de los 70 años las mujeres tienen un mayor riesgo de demencia, tal vez debido a la disminución de los niveles de estrógenos después de la menopausia. También se utilizaron *fármacos antiinflamatorios no esteroideos* ya que los mecanismos inflamatorios juegan un papel importante en la neuropatología de la EA. La *pioglitazona*, agonista del receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR γ), y las *estatinas* también se han sugerido como tratamiento preventivo. Otros, como el *extracto de Ginkgo biloba*, está aprobado para el tratamiento de la demencia en algunos países europeos. La suplementación dietética con algunas *vitaminas B* o con *vitamina D*, e incluso *vitamina E* y *selenio* se están probando actualmente, pero los ensayos en curso no han mostrado pruebas concluyentes sobre su eficacia.

Además de estas intervenciones farmacológicas y nutricionales, existen otras relacionadas con el ejercicio físico y el entrenamiento cognitivo. En vista de las causas multifactoriales de la enfermedad, las intervenciones multidominio (combinación de dos o más tipos de intervención) podrían tener efectos aditivos o sinérgicos en comparación con las

intervenciones de dominio único: Por ejemplo, en un estudio donde los pacientes reciben orientación de estilo de vida multidominio (a nivel nutricional, de actividad física individual, entrenamiento cognitivo y monitorización de los factores de riesgo vascular y metabólico) la función cognitiva mejoró significativamente durante el tiempo de intervención.

En general, los ensayos no han proporcionado evidencias consistentes de eficacia para ninguna intervención específica: Los períodos de seguimiento fueron generalmente cortos por lo que no hubo ningún ensayo con un resultado positivo claro. Por otra parte, la variabilidad en el diseño del ensayo también puede dificultar la obtención de conclusiones sobre la eficacia de un determinado tipo de intervención. Ha habido mucha heterogeneidad entre los ensayos en términos de naturaleza de la intervención, intensidad o dosis. Además, los estudios tenían poblaciones objetivo muy diversas: individuos seleccionados puramente en base a la edad, individuos seleccionados por tener al menos un factor de riesgo distinto de la edad e individuos específicamente seleccionados por tener algún grado de deterioro cognitivo (*Andrieu et al., 2015*). Aunque probar intervenciones preventivas en diferentes tipos de población objetivo es muy útil, estas poblaciones deben estar bien caracterizadas, tanto en términos clínicos como en biomarcadores para poder establecer específicamente en qué individuos y en qué etapa del proceso de la enfermedad la intervención es (o no es) eficaz. Los participantes reclutados son generalmente una muestra altamente seleccionada de la población objetivo, a menudo en mejor estado de salud y con niveles de educación más altos que el resto de la población, lo que puede conducir a una disminución de las tasas esperadas de demencia. Para evitar un sesgo de participante saludable durante el reclutamiento, se debe reducir la llamada autoelección de los participantes del ensayo, evitando estrategias de reclutamiento basadas en campañas publicitarias o de masas. El reclutamiento de los participantes a través de médicos de familia o la focalización de individuos con factores de riesgo específicos de registros de población podría ayudar a reclutar las poblaciones más representativas posibles de la población objetivo real.

6.2. Fármacos en desarrollo

Encontramos diversas líneas de investigación abiertas: Por un lado, intervenciones para reducir la cantidad de A β , como la inmunoterapia (para dificultar la agregación del péptido), inhibidores/moduladores de las secretasas y la activación de enzimas degradadoras de A β . Otra vía de actuación son los tratamientos basados en la patología tau, entre los que se encuentran la prevención de la fosforilación de la proteína inhibiendo las quinasas que

intervienen (por ejemplo, GSK3); la prevención de la agregación de tau para evitar la formación de los ovillos neurofibrilares y la inmunoterapia, que reduce los niveles de tau.

6.2.1. Contra tau

Se están desarrollando fármacos que reducen la hiperfosforilación patológica de la proteína como son los Inhibidores de GSK3 β quinasa: La GSK3 es una serin-treonin quinasa que media la adición de moléculas de fosfato en residuos de serina y treonina. Presenta un papel crucial a nivel de desarrollo neuronal al estar involucrada en el control de la morfogénesis, sinaptogénesis y polaridad axonal. Se encuentra codificada por dos genes independientes que dan lugar a las isoenzimas GSK3 α y GSK3 β , que presentan características bioquímicas y de sustrato muy similares, hasta tal punto de compartir el 85% de su secuencia global y el 98% de su secuencia de aminoácidos dentro de sus bolsillos de unión a ATP. Este hecho da lugar a que la discriminación de ambas isoformas para la elaboración de fármacos inhibidores basados en la estructura de ATP sea muy difícil. El impacto de estas dos isoformas con respecto a la función cerebral es diferente dependiendo de la isoforma implicada. De esta manera la sobreexpresión de GSK3 β se ha propuesto como modelo en enfermedades mentales de tipo maniaco neurodegenerativas tau-dependiente, como es la EA.

Tras observarse que los ovillos neurofibrilares estaban principalmente compuestos por formas hiperfosforiladas de la proteína tau, se decidió investigar aquellas quinasas y fosfatasas con mayor relevancia que pudieran participar en la fosforilación, lo que dio lugar a la identificación de GSK3 β como una de las quinasas principalmente involucradas en el control postraducciona l de tau. De hecho, de los 85 sitios de fosforilación (40 han sido relacionados con la EA), 23 de ellos son fosforilados por GSK3 β . (*Menéndez y Pascual, 2016*).

El *cloruro de litio* fue el primer inhibidor de la GSK3 descubierto pero se ha excluido del tratamiento de EA debido a su estrecho margen terapéutico y a las numerosas dianas biológicas en las que puede intervenir. Posteriormente surgieron los *compuestos ATP-competitivos*: Existen de origen natural como los derivados del indol (meridianinas), análogos de la indirrubina (6-bromoindirrubina3'-oxima o 6-BIO), los alcaloides dibromohimendaldisina (DBH) y himendaldisina (HD) y la estaurosporina; y de origen sintético como los análogos de las purinas (CHIR98014, CHIR98023 y CHIR99021), los derivados de Paullone (kenpaullone y alsterpaullone) y las arilindolmaleimidias (SB-216763 y SB-415286). Muchos de estos compuestos no se han podido desarrollar más allá de los análisis preclínicos debido a su elevada toxicidad. Por último se desarrollaron compuestos *no competidores de ATP*, que

pueden ser de origen natural como la manzamina A, sintéticos como el Tideglusib (de la familia de las tiadiazolidinonas heterocíclicas) y peptidomiméticos como L803-mts.

El punto débil de este grupo de fármacos es la falta de selectividad sobre la quinasa en la que actúan, debido a la gran semejanza que presentan los bucles de unión al ATP entre las diferentes isoformas, provocando la aparición de efectos adversos derivados de la inhibición de otras vías no patológicas en las que interviene la enzima, por lo que muchos de los inhibidores no han conseguido desarrollarse más allá de la fase preclínica. A día de hoy, el compuesto con mayor desarrollo clínico ha sido el tideglusib, aunque los estudios no han mostrado ningún resultado satisfactorio por el momento.

Se están llevando a cabo diversos ensayos con el fin de justificar la eficacia de compuestos como el azul de metileno (TRx0237) que pretende deshacer los ovillos de la proteína, la exenatida y la liralutida que actúan como agonistas del receptor GLP1 restaurando el transporte intracelular de tau y la vacuna anti-tau basada en liposomas ACI-35 y AADvac1.

6.2.2. Conta A β

Se basa en estrategias que apuntan a los dos determinantes de la carga amiloide: la excesiva generación de A β y los mecanismos de depuración defectuosos. Los nuevos fármacos incluyen vacunas y anticuerpos contra A β e inhibidores y moduladores de β -secretasa y γ -secretasa.

6.2.2.1. Inhibición enzimática

La inhibición de la β y γ -secretasa es un objetivo atractivo, pero debido a que tienen muchos sustratos además de la APP, la selectividad se convierte en todo desafío.

La γ -secretasa procesa APP intracelularmente para producir fragmentos A β , por lo que se consideró como un objetivo terapéutico válido. No obstante, los ensayos clínicos de los inhibidores avagacestat y semagacestat fracasaron con un grado inesperado de toxicidad y empeoramiento de la cognición. El único compuesto que alcanzó la fase III fue semagacestat, pero el ensayo se terminó después de 12 meses de dosificación debido a los eventos adversos: aumento del riesgo de cáncer de piel, síntomas gastrointestinales (disminución del apetito, náuseas, vómitos), hipopigmentación de cabellos y pestañas, erupciones cutáneas, alopecia, infecciones y alteraciones hepatocelulares. Esto puede explicarse por su bajo índice terapéutico: la CI_{50} para la escisión de la proteína Notch fue sólo de dos a tres veces mayor que la de la escisión de la APP (Selkoe y Hardy, 2016). Los estudios sobre la vía de señalización Notch han revelado la importancia de su función al estar implicada en la neurogénesis, hematopoyesis y vasculogénesis. En el sistema inmune, Notch participa en la maduración de

las células T en el timo que expresarán los receptores CD4 o CD8, además del receptor TCR. Notch-1 desempeña un papel clave en la determinación del linaje CD4/CD8, en la determinación de la expresión del receptor TCR, y en la regulación de la muerte de células T. Como el mecanismo catalítico γ -secretasa no se entiende completamente, se necesitan más investigaciones sobre su inhibición selectiva. Los nuevos ensayos se enfocan hacia moduladores que desplazan la escisión del enlace peptídico 3-4 residuos N-terminal al sitio A β 42 sin bloquear la proteólisis.

La β -secretasa, procesa APP en el dominio extracelular para producir péptidos A β . Los inhibidores de la β -secretasa llegaron más tarde que los de la γ -secretasa, debido a la dificultad que supone tener que bloquear el sitio activo tan grande de esta aspartil proteasa en neuronas intactas. El desarrollo de inhibidores de BACE1 incluye E2609 (Eisa), que redujo los niveles de A β en LCR hasta en 80% en un estudio de Fase I (Folch et al., 2017); AZD3293 (AstraZeneca), HPP854 (High Point Pharmaceuticals) y LY3202626 (Eli Lilly), entre otros. El más avanzado es el verubecestat (MK-8931, Merck), que está en Fase III tanto para la EA prodrómica como para la demencia leve-moderada. En un estudio de Fase I, redujo los niveles de A β en el LCR hasta un 90%. Los ensayos de fase III incluyen alrededor de 1.800 participantes, tratados durante 18-24 meses. A finales de 2016 suspendieron dicho ensayo debido a la ausencia de mejoras significativas en los pacientes. Científicamente, no es sorprendente que verubecestat no tuviera un efecto positivo, dado que la población de pacientes diana ya estaba en una etapa avanzada de la enfermedad. Este hecho refuerza la necesidad de probar los inhibidores de BACE tan pronto como sea posible.

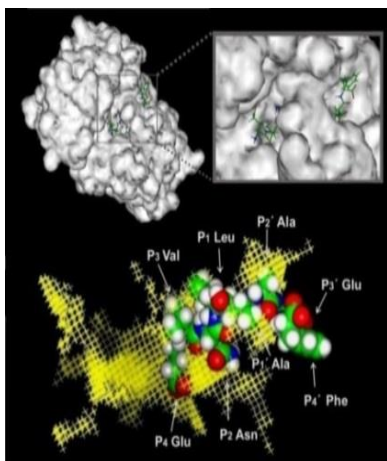


Ilustración 15. Representaciones de la estructura del complejo de la β -secretasa

En la parte superior se representa la superficie de la enzima mientras que en la parte inferior aparece representado el molde del sitio activo calculado para este enzima, en forma de una malla amarilla superpuesta al inhibidor. Se ha utilizado CM99-2 como inhibidor (método basado en sustrato como punto de partida para el desarrollo de inhibidores).

6.2.2.2. Inmunoterapia

Se basa en la identificación inmunológica de una autoproteína, por lo que los beneficios deben compararse con los riesgos que supone la estimulación de la respuesta inflamatoria autoinmune excesiva.

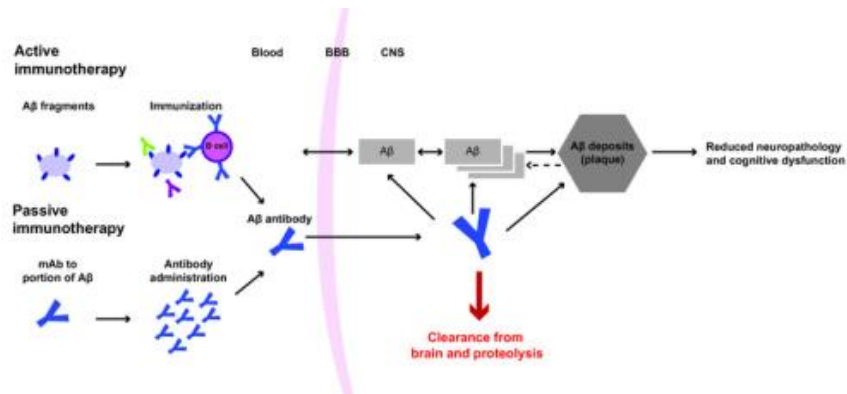


Ilustración 16. Esquema del enfoque inmunoterapéutico para el aclaramiento de β-amiloide

La *vacunación activa* comenzó con un ensayo utilizando la vacuna AN-1792, compuesta por el péptido Aβ42 pre-agregado y QS21 como adyuvante (un fuerte inductor de linfocitos Th-1). Se terminó después de 2-3 dosis debido que el 6% de los pacientes murieron por el desarrollo de meningoencefalitis (inflamación meníngea mediada por células T). Sin embargo, los análisis neuropatológicos cuantitativos de cerebros de pacientes que habían muerto años después del ensayo revelaron una disminución de la carga amiloide, de la distrofia neurítica y de los déficits sinápticos, en comparación con lo que se esperaría en pacientes avanzados de EA. En algunas placas, se observó una reacción de células T alrededor de algunos vasos cerebrales, lo cual hizo pensar que los posibles efectos beneficiosos de la vacuna estaban siendo contrarrestados por una respuesta deletérea de células T auto-tóxicas. Los epítomos de las células T están situados en la región central y en el extremo C-terminal de Aβ, por lo que, con el fin de evitar efectos inflamatorios indeseables, se pasó a utilizar el extremo N-terminal, en el que se localizaron los epítomos de células B, como antígeno objetivo. Destacamos CAD106 (Novartis), diseñada para

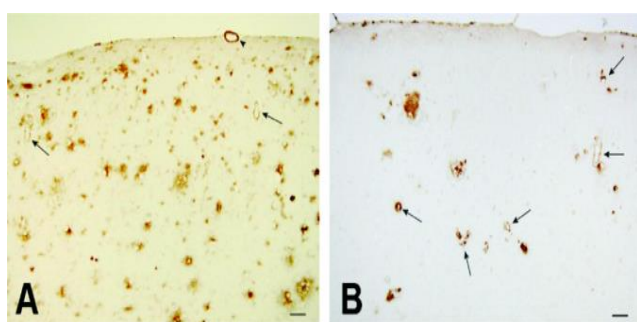


Ilustración 17. Depósito amiloide en el neocórtex de ratones APP24 después del tratamiento con CAD106. Antes (A) y después (B)

dirigirse sólo a un epítomo de células B, junto con un portador adyuvante que se deriva de múltiples copias de una proteína de la cubierta del bacteriófago QB. Los ensayos de fase II han demostrado que las respuestas inmunes inducidas podrían ser terapéuticas en la EA leve. Otros ensayos en fase II son ACC-001

(Janssen y Pfizer), que utiliza el mismo fragmento Aβ acoplado a una proteína portadora y el adyuvante QS-21 de saponina activo en superficie; y ACI-24 (AC Immune), una vacuna liposomal que funciona generando una respuesta inmune humoral hacia la conformación hoja β de Aβ.

Estas estrategias de inmunización activa fueron diseñadas para dirigirse específicamente a las conformaciones patológicas de A β por lo que se espera disminuir las posibilidades de toxicidad autoinmune. Sin embargo, como los inmunógenos todavía derivan de la secuencia A β , es de esperar algún elemento de reactividad cruzada con péptidos A β “normales”, lo que supone riesgo de toxicidad inflamatoria.

Se ha debatido si el objetivo A β sería suficiente para una terapia inmunológica. De hecho, que los resultados generados en modelos animales no se hayan reproducido en los ensayos clínicos sugiere que el A β podría no ser el único antígeno diana para la inmunización activa. El descubrimiento de que la proteína tau podría desempeñar un papel como un antígeno diana para el control de la AE añade nuevas expectativas con respecto a nuevas formulaciones de vacunas con un mejor rendimiento en seres humanos.

Actualmente, la *inmunoterapia pasiva* ha tomado la iniciativa entre las terapias putativas modificadoras de la enfermedad. Diversos trabajos preliminares revelaron que los anticuerpos monoclonales anti-A β (mAbs) eran capaces de prevenir la fibrilación de péptidos A β , interrumpiendo la formación de fibrillas e impidiendo la neurotoxicidad dependiente las mismas. Gracias a diversos ensayos se identificaron los primeros 15 aminoácidos del péptido A β como epítipo principal y también revelaron que los anticuerpos generados en ratones hacia A β pueden marcar las placas amiloides en las secciones cerebrales humanas, facilitando dicha intervención inmune en humanos. Se ha visto que las inyecciones periféricas de mAbs podrían reducir la carga y el comportamiento de la placa, mediante la generación de una respuesta humoral. Existe cierto debate sobre el tipo de respuesta inmune implicada en la mediación de los efectos beneficiosos por estos péptidos: Además de pensar que el A β fibrilar (junto con un fuerte adyuvante) era el inmunógeno apropiado, se especuló que el uso de péptidos homólogos A β (no fibrillogénicos y no tóxicos) junto con adyuvantes que activan principalmente la respuesta humoral Th-2 podría ser más eficaz y menos tóxico (Wisniewski y Goñi, 2015).

Por lo que respecta a la generación de mAbs, se formulan tres hipótesis para explicar los efectos de la eliminación del exceso A β del cerebro. 1) Unión de los anticuerpos a los péptidos en la placa senil, desestabilizando las interacciones de A β . 2) Unión de los anticuerpos a la placa promoviendo su fagocitosis mediante células microgliales mediadas por receptores Fc. 3) Los anticuerpos se unen a moléculas de A β circulantes presentes en el plasma (no atraviesan la BHE), lo que da lugar a un gradiente de concentración que resulta en un flujo de A β desde el

cerebro hacia la sangre. Este proceso es conocido como “peripheral sink effect” o “sumidero periférico”.

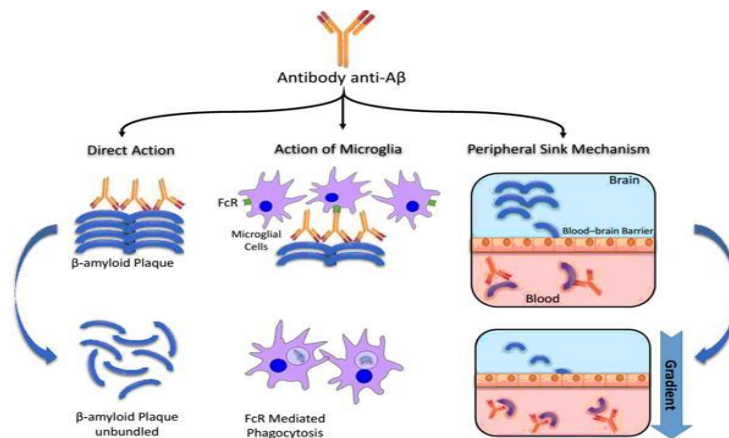


Ilustración 18. Mecanismo de eliminación de β -amiloide mediante anticuerpos específicos. (Se incluyen las tres hipótesis)

Se están llevando a cabo ensayos con anticuerpos monoclonales: solanezumab (Eli Lilly), bapineuzumab (Pfizer Inc), gantenerumab (Hoff mann-LaRoche), crenezumab (Genentech), y aducanumab (Biogen). Los más avanzados son Bapineuzumab y Solanezumab (fase III): Bapineuzumab es una versión humanizada del mAb 3D6 de ratón, que tiene un epítipo de residuos 1-5 de A β . 3D6 atraviesa la BHE, se une a placas en el cerebro y provoca la fagocitosis microglial mediada por el receptor Fc. Los sujetos tratados mostraron una reducción en los depósitos amiloides fibrilares corticales en comparación con las mediciones basales y los controles evaluados mediante PET (11C-PiB). Se ha observado la aparición de lesiones en materia blanca con o sin evidencia de edema cerebral, denominadas anomalías de imagen relacionadas con amiloide (ARIA), que se asocia con el aumento de la dosis y la presencia del alelo $\epsilon 4$ por lo que se ha decidido detener el desarrollo clínico del fármaco. Sin embargo, AAB-003, una versión humanizada del Bapineuzumab, con mutaciones en el dominio Fc se encuentra en ahora en fase I. Solanezumab tiene un epítipo en la región media de A β (16-24) y se une a monómeros solubles disminuyendo así la patología amiloide mientras aumenta los niveles totales de sA β en el plasma. En la Conferencia Internacional de la Asociación de Alzheimer de 2015, se sugirió un mayor efecto del fármaco sobre la cognición en los pacientes que comenzaron el tratamiento en la fase leve de la enfermedad que en los que comenzaron más tarde, indicando que el tratamiento es más efectivo cuando se inicia de forma temprana. Solanezumab se utilizará en dos ensayos de tratamiento preventivo: El ensayo DIAN (dirigido a adultos en familias con mutaciones conocidas y un diagnóstico de EA familiar) y A4 (Tratamiento Anti-Amyloide para la Enfermedad de Alzheimer Asintomática).

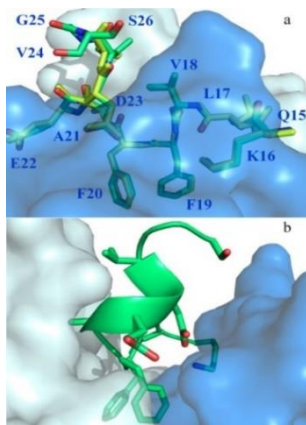


Ilustración 19. Estructura de la región media del péptido Aβ unido a solanezumab
 Se muestra Aβ en la superficie de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la región variable del anticuerpo (Fab). Solanezumab se muestra como una superficie transparente, azul claro (cadena ligera) y azul más oscuro (cadena pesada). (A) Ambas copias del péptido en la unidad asimétrica se muestran en palos de color verde y amarillo. Se observa la conformación general de Aβ según se reconoce por solanezumab (los aminoácidos del epítipo Aβ están marcados). (B) Conformación helicoidal adoptada por los restos Aβ C-terminal al péptido enterrado Phe19-Phe20.

Gantenerumab se une a un epítipo en el extremo N-terminal de Aβ y puede unirse a la forma oligomérica y fibrilar. Los últimos resultados muestran una reducción significativa de los niveles de tau en LCR, pero no de los de Aβ. Crenezumab se une a diferentes formas de Aβ (monómeros, oligómeros y fibrillas) y produjo signos similares de disminución moderada del deterioro cognitivo en pacientes con EA leve. Sin embargo, aducanumab es el agente anti-amiloide con mayor potencial beneficioso debido a que sólo se dirige a las formas agregadas de Aβ.

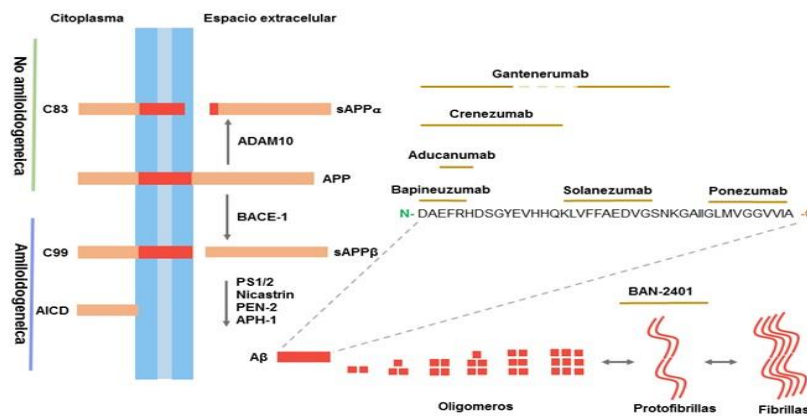


Ilustración 20. Procesamiento de APP y epítipes de mAbs en Aβ

Se muestra la región del epítipo dentro de la secuencia de Aβ reconocida por mAb derivados de secuencia.

Muy recientemente (Nature, 2016) el estudio PRIME, en el cual se ensaya la eficacia de este último mAb se pone de manifiesto no sólo su capacidad para disminuir el Aβ en pacientes con EA de una manera dependiente del tiempo y de la dosis (Sevigny et al., 2016) sino que por primera vez en ensayos similares de vacunación pasiva, el tratamiento con este anticuerpo resulta en una detención en la progresión de la patología neurológica de los pacientes, de forma dependiente de la dosis (ver figura 20). Aunque el estudio ha sido realizado en un número muy limitado de pacientes (25-30 por grupo aprox.), es el primer éxito en, aparte de

retirar A β , detener la progresión de la patología desde sus rasgos neurológicos. El único evento adverso significativo fue ARIA-E. Ha sido avanzado a dos ensayos de Fase III (EMERGE y ENGAGE) para investigar más su eficacia y seguridad.

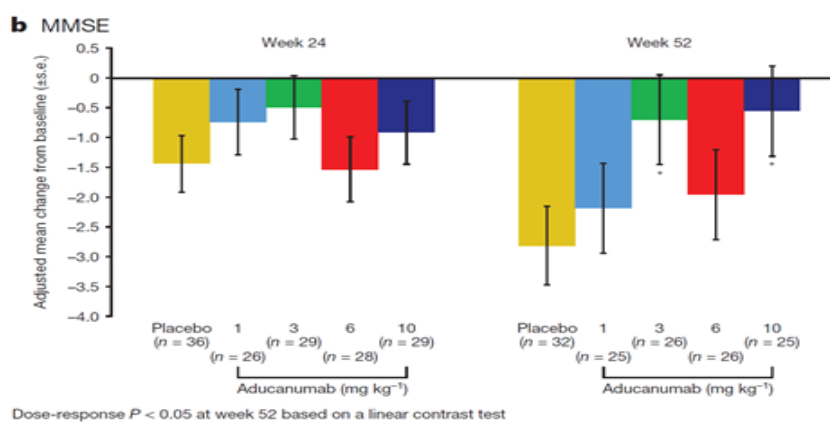


Ilustración 21. Efecto de Aducanumab sobre CDR-SB y MMSE

Efecto de Aducanumab sobre CDR-SB (Clasificación de Demencia Clínica-Suma de Cajas) (a) y MMSE (b). (* $P < 0,05$ versus placebo).

Especificidad de los anticuerpos

Principalmente existen 3 epítomos en el A β frente a los que se dirigen los anticuerpos: a) epítomo N-terminal (aminoácidos 1-6) que provoca la unión de los anticuerpos a los péptidos A β agregados in vitro así como a los depósitos cerebrales y vasculares in vivo y a la APP; b) epítomo de la región central (aminoácidos 12-25) que provoca la unión de los anticuerpos de la APP pero no al A β agregado in vitro, placas amiloides o depósitos vasculares; c) región C-terminal cuyos anticuerpos específicos parecen estimular los linfocitos T. Las placas A β y algunos de sus agregados, contienen un neoepítomo que no se encuentra en la APP ni en sus derivados solubles. La estructura de los agregados A β es en forma de hoja β mientras que el A β soluble no, por lo que este cambio conformacional podría ser el responsable de estimular la respuesta de linfocitos T (Menéndez et al., 2005). Es posible que las diferencias en los resultados entre los distintos tratamientos (ningun efecto neurológico-detención de la progresión de la patología) puedan ser debido a la distinta especificidad de los mAbs y, en consecuencia, de las distintas formas de A β que reconoce y “bloquea”. El beneficio clínico aparente observado en PRIME puede explicarse por la unión de aducanumab a formas oligoméricas de A β , que son las especies tóxicas primarias y no son detectadas directamente por PET.

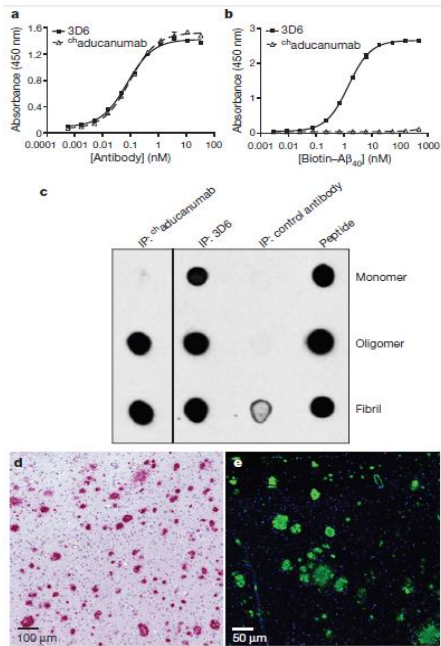


Ilustración 22. Unión selectiva del aducanumab a las formas fibrilares y oligoméricas de Aβ agregado
a) Unión de aducanumab/3D6 a Aβ42 fibrilar inmovilizado. b) Captura de Aβ40 monomérico soluble con aducanumab inmovilizado/3D6. c) Puntos de monómero Aβ42, oligómeros solubles, o fibrillas insolubles inmunoprecipitadas con aducanumab, 3D, o anticuerpos control. d) inmunotinción de Aβ en tejido cerebral de un paciente con AE en tratamiento con aducanumab (0,2 μg ml⁻¹). e) inmunotinción de Aβ en tejido cerebral de raton Tg2576 de 22 meses tratado con aducanumab (60 ng ml⁻¹).

El fracaso de estos primeros intentos de inmunización pasiva se ha querido explicar de dos maneras: poniendo en entredicho la teoría de la cascada amiloide como factor desencadenante de la EA y

criticando la selección de los participantes en el estudio, cuya enfermedad se hallaba demasiado avanzada cuando se incluyeron en el ensayo.

7. CONCLUSIONES

Es evidente que el desarrollo de fármacos para la EA ha sido decepcionante. Una de las principales razones a tener en cuenta es que varios ensayos fueron mal diseñados en términos de selección de pacientes, elección del agente, dosis o tuvieron que detenerse debido a los efectos secundarios. Está claro que necesitamos alejarnos de la cascada amiloide. Aunque está claro que Aβ desempeña un papel importante en el proceso neurodegenerativo, diversos hallazgos, como la abundante presencia de placas en individuos ancianos cognitivamente normales o el escaso éxito de aproximaciones terapéuticas dirigidas únicamente contra este péptido, hacen dudar de que sea el único responsable. La toxicidad de Aβ es sólo una parte de una serie de desencadenantes, por lo que la investigación clínica se debe dirigir más ampliamente.

Otro problema en el desarrollo de fármacos para la EA es la naturaleza multifactorial de la misma (sobre todo en ancianos), incluyendo la demencia vascular concurrente y diferentes tipos de lesiones neurodegenerativas. La comorbilidad física también es frecuente en la edad avanzada, generalmente acompañada de polifarmacoterapia, con un uso no óptimo de fármacos para los pacientes con EA (por ejemplo, los efectos anticolinérgicos y sedantes son comunes e indeseables en pacientes geriátricos con EA). El beneficio real de los fármacos anti-

EA para pacientes ancianos debe establecerse en ensayos clínicos que tengan en cuenta todos estos factores.

Por otro lado, el desarrollo de fármacos se debe considerar en etapas más tempranas de la enfermedad (EA preclínica y prodrómica). Estos desafíos ponen de manifiesto la importancia de ofrecer una evaluación geriátrica integral a todos los pacientes de edad avanzada, un proceso de diagnóstico y tratamiento que pueda identificar las limitaciones médicas, psicosociales y funcionales de una persona anciana con el objetivo de desarrollar un plan de salud con el envejecimiento. La evaluación geriátrica integral puede apoyar la evaluación y el manejo de las personas con demencia, mejorando las decisiones de tratamiento farmacológico.

Pese a los importantes avances registrados en la última década, todavía hay que afrontar desafíos muy importantes tanto en el terreno del diagnóstico. Uno de ellos es el descubrimiento de biomarcadores de diagnóstico, progresión y respuesta terapéutica. Los campos más explorados en este sentido son la neuroimagen funcional y las determinaciones bioquímicas en el LCR de A β y tau, pero ambos tipos de pruebas tienen en común la dificultad de su aplicación en un entorno clínico habitual, y su uso parece limitado a centros especializados o de investigación.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abbott A, Dolgin E. Leading Alzheimer's theory survives drug failure. *Nature* 2016; 540: 15.

Alves RP, Yang MJ, Batista MT, Ferreira LC. Alzheimer's disease: is a vaccine possible?. *Braz J Med Biol Res* 2014; 47(6): 438-444.

Andersen OM, Willnow TE. Lipoprotein receptors in Alzheimer's disease. *TRENDS in Neurosciences*, Elsevier 2006; 29 (12): 687-694.

Andrieu S, Coley N, Lovestone S, Aisen PS, Vellas B. Prevention of sporadic Alzheimer's disease: lessons learned from clinical trials and future directions. *Lancet Neurol* 2015; 14: 926-44.

Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2010; 23(4): 213-227.

Canter RG, Penney J, Tsai LH. The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease. *Nature* 2016; 539: 187-196.

Carrillo P, Mena FJ, Navarrete H. Estado actual de las terapias modificadoras de la enfermedad de Alzheimer. Rev Mex Neuroci 2013; 14(4): 201-214.

Castañeda MM. Análisis de Polimorfismos en los genes ADAM10, BACE1, NCSTN y APOE en pacientes con enfermedad de Alzheimer de tipo esporádico en Antioquia (2011-2013). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina 2013.

Doody RS, Raman R, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S et al. A Phase 3 Trial of Semagecestat for Treatment of Alzheimer's Disease. N Engl J Med 2013; 369: 341-50.

Drummond E, Wisniewski T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. Acta Neuropathol 2017; 133: 155-175.

Estado del arte de la enfermedad de Alzheimer en España. 2012. [Consultado en Abril de 2017]. Disponible en: <http://www.lilly.es/global/img/ES/PDF/ESTADO-DEL-ARTE-SOBRE-LA-ENFERMEDAD-DE-ALZHEIMER.pdf>

Estrategia en Enfermedades Neurodegenerativas del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad 2016. [Consultado en Abril de 2017]. Disponible en: https://www.ceafa.es/files/2016/07/estrategia_enfermedades_neurodegenerativas_del_sns-2.pdf

Folch J, Ettchetoc M, Petrovc D, Abad S, Pedrosa I, Madrind S et al. Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating. Nrleng 2017; 744: 1-2.

Gibeny E. Bonus fund excite UK scientists. Nature 2016; 540: 16.

Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad 2010. [Consultado en Abril de 2017] Disponible en: http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_484_Alzheimer_AIAQS_compl.pdf

Gutiérrez A, Moreno I. Estudio del proceso neurodegenerativo en la corteza entorrinal del modelo transgénico murino ps1m146lxapp751sl de la enfermedad de Alzheimer. Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología Área de Biología Celular. Facultad de Málaga 2009.

Karlsson IK, Bennet AM, Ploner A, Andersson TML, Reynolds CA, Gatz M et al. Apolipoprotein E ϵ 4 genotype and the temporal relationship between depression and dementia. Neurobiol Aging 2015; 1-6.

Kennedy ME, Stamford AW, Chen X, Cox K, Cumming JN, Dockendorf MF et al. The BACE1 inhibitor verubecestat (MK-8931) reduces CNS B-amyloid in animal models and in Alzheimer's disease patients. *Sci Transl Med* 2016; 8: 363-150.

Luo X, Yan R. Inhibition of BACE1 for therapeutic use in Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol* 2010; 3(6): 618-628.

Martínez JM. Alzheimer: diez años de progreso. *Ars Medica. Revista de Humanidades* 2002; 2:203-213.

Menéndez JC, Pascual CJ. Inhibidores de la quinasa GSK3 β en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Universidad Complutense de Madrid, 2016.

Menéndez M, Pérez P, Calatayud MT, Blázquez B. Inmunoterapia para la Enfermedad de Alzheimer. Madrid: Archivos de Medicina; 2005.

Mucke L, Huang Y. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Cell* 2012; 148(6): 1204–1222.

Qian X, Hamad B, Dias-Ialcaca G. The Alzheimer disease market. *Nat Rev* 2015; 14: 675-676.

Sanders CR. How γ -secretase hits a moving target. *ELife* 2016; 5: 1-4.

Santos L, León-Galván MF, Marino-Marmolejo EN. Vía de señalización Notch y nuevas estrategias para el tratamiento de cáncer. *Salud Publica Mex* 2006; 48: 155-165.

Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med* 2016; 8: 595–608.

Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M et al. The antibody aducanumab reduces AB plaques in Alzheimer's disease. *Nature* 2016; 537: 50-56.

Thinakaran G, Sisodia SS. Presenilins and Alzheimer disease: the calcium conspiracy. *Nature Neurosci* 2006; 11: 1354-1355.

Winblad B, Amouyel P, Andriu S, Ballard C, Brayne C, Brodaty H et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol* 2016; 15: 455-532.

Wisniewski T, Goñi F. Immunotherapeutic Approaches for Alzheimer's Disease. *Neuron* 2015; 85: 1162-1176.