



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## **Efecto del síndrome metabólico provocado por una dieta rica en grasa en ratones APPswe/PS1dE9, modelo experimental de la enfermedad de Alzheimer, y posibles terapias farmacológicas**

Miren Ettcheto Arriola

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# **INTRODUCCIÓN**



# **INTRODUCCIÓN**

La demencia, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define como un síndrome, generalmente de naturaleza crónica o progresiva, caracterizado por el deterioro de la función cognitiva, más allá de lo que se podría considerar una consecuencia del envejecimiento fisiológico. Este deterioro suele ir acompañado por alteraciones en el control emocional, el comportamiento social o la motivación (OMS, 2017).

Las demencias se pueden clasificar en base a diferentes criterios, pero hoy en día el más utilizado se focaliza en las estructuras cerebrales afectadas. Por lo que, en primer lugar, se dividen en demencias localizadas y globales. De este primer grupo subyacen dos subgrupos; las demencias corticales, en la cual está incluida la enfermedad de Alzheimer (EA), y las demencias subcorticales (Whitehouse et al., 1986).

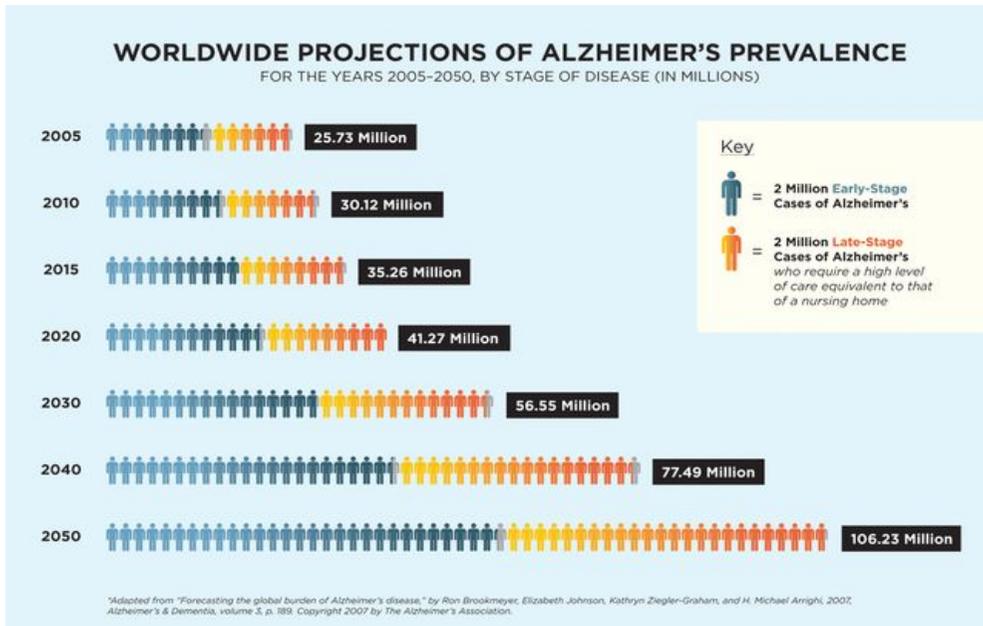
## **1. LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

La EA es la forma más común de demencia progresiva (Terry & Davies, 1980). Aunque médicos griegos y romanos ya habían asociado la vejez con la demencia, no fue hasta 1907 cuando el psiquiatra alemán Alois Alzheimer identificó el primer caso de lo que hoy en día se conoce la EA en una mujer de 55 años llamada Auguste Deter. La paciente había sido ingresada en un centro psiquiátrico 4 años antes, momento en el que empezó a desarrollar un fuerte sentimiento de celos hacia su marido, acompañado de alteraciones en la memoria, incluso comportamiento alucinatorio. Tras la muerte de la paciente, Alois Alzheimer realizó la autopsia del cerebro mediante la cual observó la presencia de una atrofia generalizada acompañada de una pérdida neuronal

importante, así como unas estructuras neurofibrilares y depósitos de una sustancia que no supieron identificar y que hoy en día se conocen como ovillos neurofibrilares (ONF) y placas seniles (PS), principales características de la enfermedad (Khachaturian, 1985; Small & Cappai, 2006; Holtzman et al., 2011).

## **1.1 Epidemiología**

Actualmente, la EA se calcula que afecta al 5-10% de la población por encima de los 65 años y alrededor del 30% de los mayores de 80. Durante el año 2015, alrededor de 36 millones de personas en todo el mundo fueron diagnosticadas con esta enfermedad, cifra que se prevé casi duplicar en menos de 20 años, alcanzando los 56,55 millones en el 2030 y los 106,23 millones en el 2050. Cada año se diagnostican más de 9,9 millones de nuevos casos de demencia en el mundo, lo que supone un nuevo caso cada 3,2 segundos (Brookmeyer et al., 2007). La ausencia de tratamientos efectivos y el aumento de la esperanza de vida convertirán a esta enfermedad en la epidemia del siglo XXI (Román, 2003) (Figura 1).

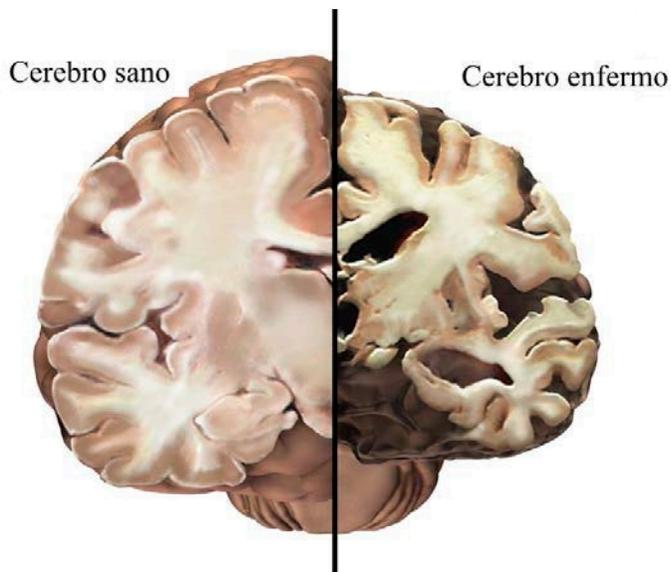


**Figura 1.** Proyección mundial de la prevalencia de la enfermedad de Alzheimer desde el año 2005 hasta el 2050. Fuente: UCLA Fielding School of Public Health (2015). Sounding the alarm on a looming public health threat | Jonathan and Karin fielding school of public health. *UCLA Fielding School of Public Health Magazine* (Figura). Disponible en <http://ph.ucla.edu/news/magazine/2015/autumnwinter/article/sounding-alarm-looming-public-health-threat>. Brookmeyer et al, 2007 (Adaptado)

En consecuencia, esta situación ha generado un incremento desmesurado de los costes globales en salud. La *Alzheimer's Association* indicó en el 2004 que el tratamiento de cada paciente costaba alrededor de unos 30 000 euros anuales, por lo que se espera un incremento del impacto económico en los próximos años debido al aumento de nuevos casos, volviéndose una situación cada vez más insostenible tanto a nivel socioeconómico como a nivel sanitario. De esta manera, surge una gran necesidad de encontrar un tratamiento eficaz contra esta patología.

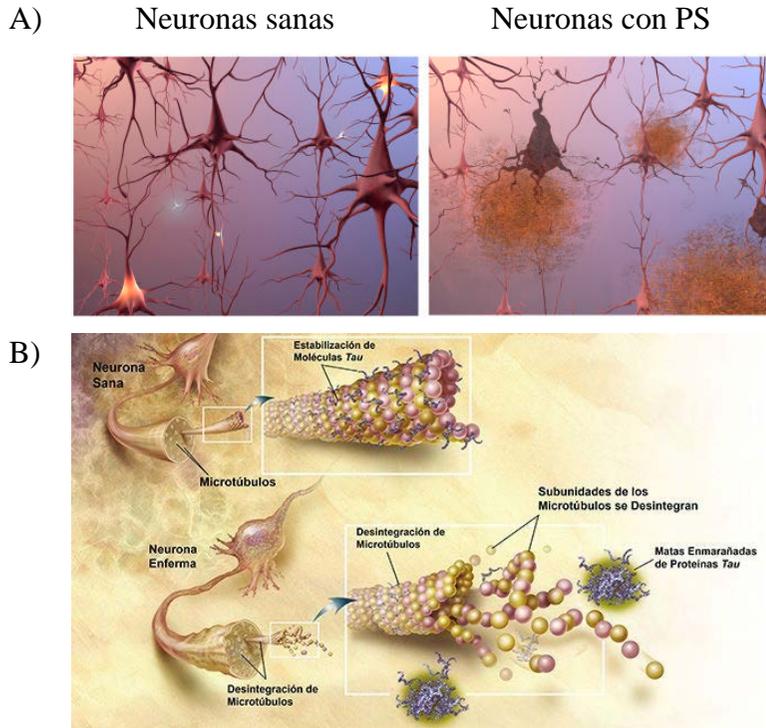
## 1.2 Neuropatología

A nivel anatómico, en la EA generalmente se produce una atrofia progresiva, bilateral y difusa de los giros cerebrales, en la que se evidencia una disminución del espesor de las circunvoluciones, un aumento de la profundidad de los surcos, una dilatación del sistema ventricular (característica conocida como hidrocefalia *ex vacuo*) así como el adelgazamiento de la lámina cortical. Además, se ha observado la presencia de atrofia hipocampal y disminución del peso y volumen cerebral, existiendo una correlación negativa entre el peso del encéfalo y el tiempo de evolución de la enfermedad (Guimerà et al., 2002) (Figura 2).



**Figura 2.** Comparación de un cerebro sano respecto a un cerebro de paciente con EA. Fuente: Marsa, L. (2015) Cracking the Alzheimer's Code. Are we close to conquering one of the most puzzling disease of our time? (adaptada). Recuperado de: <http://discovermagazine.com/2015/march/16-cracking-the-alzheimers-code>

Respecto a las lesiones microscópicas, la EA se caracteriza principalmente por la formación de dos tipos de agregados proteicos: PS (Figura 3A) y ONF (Figura 3B). Las PS son lesiones multicelulares esféricas constituidas por depósitos extracelulares de un péptido de 40-43 aminoácidos denominado  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A). Estas placas son rodeadas por astrocitos activos, microglía y neuritas distróficas (tanto axones como dendritas) (Selkoe, 2011). Hoy en día no está claro si estas células gliales tienen un papel activo en la cascada patogénica que lleva a cabo la formación de las PS, o por el contrario aparecen de forma reactiva en respuesta a una lesión previa. Por el contrario, los ONF consisten en una red filamentosa compacta formada por fibrillas pareadas que se disponen de manera helicoidal, las cuales constituyen agregados de la proteína TAU hiperfosforilada (Selkoe, 2011).



**Figura 3.** Lesiones microscópicas de la EA. **A)** Acumulación de  $\beta$ A en neuronas.

Fuente: Albuquerque Journal (Courtesy of Alzheimer's association/illustration by Stacy Janis (2015) (Adaptado). Recuperado

de: <https://www.abqjournal.com/625597/unm-researchers-may-be-closing-in-on-a-cure.html>

**B)** Desintegración de microtúbulos y formación de ONF en la EA. Fuente:

ADEAR: Alzheimer's Disease Education and Referral Center, a service of the National Institute on Aging. Recuperado de

[http://www.nia.nih.gov/NR/rdonlyres/A01D12CE-17E3-4D3D-BCEF-](http://www.nia.nih.gov/NR/rdonlyres/A01D12CE-17E3-4D3D-BCEF-9ABC4FF91900/0/TANGLES_HIGH.JPG)

[9ABC4FF91900/0/TANGLES\\_HIGH.JPG](http://www.nia.nih.gov/NR/rdonlyres/A01D12CE-17E3-4D3D-BCEF-9ABC4FF91900/0/TANGLES_HIGH.JPG)

Cabe destacar que ninguna de las lesiones histológicas características de la EA es considerada patognomónica debido a que se pueden encontrar también en cerebros de personas con la función cognitiva intacta (Morris et al., 2014). Se ha sugerido que lo que en realidad marca el diagnóstico histológico es la densidad y el patrón de distribución de estas lesiones en el parénquima

cerebral, correlacionándose su número y densidad con la intensidad de la demencia (Arraigada et al., 1992). Sin embargo, existe cierta controversia debido a que diversos estudios más recientes atribuyen la progresión del deterioro cognitivo principalmente a la pérdida de sinapsis, demostrando que no hay correlación entre el número de placas y el deterioro cognitivo presente en esta patología en humanos (Edison et al., 2007; Li et al., 2008).

### **1.3 Clasificación de la enfermedad**

La EA se puede clasificar en función de la edad a la que se manifiestan los primeros síntomas o dependiendo del patrón de herencia que presenta. Según la edad de inicio, se diferencia entre la forma temprana o presenil (antes de los 65 años) o tardía o senil (inicio después de los 65 años). Respecto a la clasificación según la implicación del factor genético, se distinguen la forma familiar y la esporádica.

#### *1.3.1 Enfermedad de Alzheimer familiar*

La enfermedad de Alzheimer familiar (EAF) aparece mayoritariamente a edad temprana, en personas de entre 30 y de 65 años, aunque también se han descrito casos en personas de edad más avanzada (Bekris et al., 2010). Es una forma poco frecuente que representa alrededor del 5% de los casos totales de EA (Kowalska et al., 2004). Aunque clínicamente parece no presentar diferencias respecto a la forma esporádica, se asocia a una rápida progresión de la enfermedad. Puede ser causado por la presencia de alteraciones en 3 genes principalmente; en el gen que codifica para la proteína precursora amiloide (*APP*), Presenilina 1 (*PSENI*) y Presenilina 2 (*PSEN 2*) situados en los cromosomas 21, 14 y 1, respectivamente. Todos ellos están involucrados en el

procesamiento de APP y la generación de placas  $\beta$ A y presentan un patrón de herencia mendeliana autosómica dominante (Piaceri et al., 2013).

### *1.3.2 Enfermedad de Alzheimer esporádica*

Alrededor del 95% de los casos de la EA pertenecen a la forma esporádica (EAe). Generalmente, se manifiesta a partir de los 65 años y está determinada por una genética compleja con múltiples factores de susceptibilidad junto con la interacción de factores de riesgo exógenos o ambientales (Rocchi et al., 2009).

## **1.4 Factores de riesgo**

### *1.4.1 Factores de riesgo genéticos*

Entre los numerosos polimorfismos genéticos que han sido asociados a un mayor riesgo a desarrollar la EAe, el gen que codifica para la isoforma  $\epsilon$ 4 de la apolipoproteína E (*APOE4*) es considerado como el factor de riesgo genético más importante (Strittmatter et al., 1996), encontrándose presente en más del 50% de los casos de EA y, sin embargo, en sólo alrededor del 15% de pacientes sanos (Ward et al., 2012).

### *1.4.2 Factores de riesgo exógenos o ambientales*

#### **Edad**

Se considera el principal factor de riesgo exógeno ya que la prevalencia e incidencia de la enfermedad se duplica cada cinco años a partir de los 65 (van der Flier et al., 2011). Cuando un individuo envejece y por lo tanto sus células,

se produce una acumulación progresiva de lesiones en las estructuras celulares que pueden conducir a la muerte celular, o al menos, a una disminución de la capacidad de la célula a responder a la lesión, generando estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, entre otras alteraciones. Esta situación a la larga provoca la muerte celular, hecho que cuando se produce en el cerebro, desencadena la muerte neuronal (Paradies et al., 2011).

### **Sexo**

Diversos estudios epidemiológicos indican que las mujeres presentan una mayor predisposición a padecer la EA que los hombres (Farrer et al., 1997; Carter et al., 2012), además de presentar un mayor grado de severidad respecto al déficit cognitivo (Irvine et al., 2012). Sin embargo, esta teoría ha generado cierta controversia debido a que la esperanza de vida en mujeres es mayor que la de los hombres, aunque hay estudios que teniendo en cuenta esta variable siguen apoyando la predisposición de esta enfermedad en mujeres (Maynard et al., 2006; Fernández Martínez et al., 2008). Por otro lado, cabe destacar que se hay autores que sugieren que los cambios fisiológicos observados en mujeres de edad avanzada, los cuales incrementan el riesgo de desarrollar la EA, podrían estar mediados por la transición de estados endocrinos como la menopausia (Carrot et al., Brinton et al., 2015).

### **Traumatismo craneoencefálico**

Una lesión que resulta en la pérdida de conocimiento o amnesia durante 30 minutos o más es considerada una lesión cerebral traumática y ha sido asociada al desarrollo de la EA (Lye & Shores, 2000). Dependiendo de la gravedad de la lesión y de la edad a la que se produce incrementa el riesgo de padecer la enfermedad. Sin embargo, aunque hay estudios que apoyan la relación entre

esta enfermedad y el traumatismo craneoencefálico, el mecanismo que los relaciona permanece sin esclarecerse (Jellinger, 2004; Weiner et al., 2017).

## **Dieta**

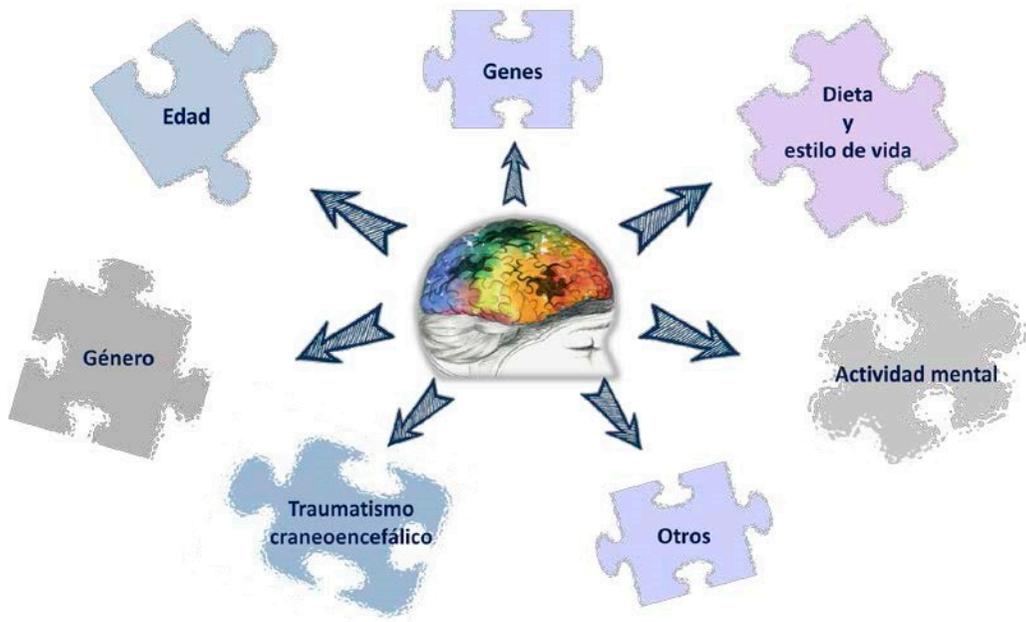
En los últimos años se han publicado diversos estudios que relacionan la ingesta calórica con el posterior desarrollo de la EA (Kalmijn et al., 1997; Luchsinger et al., 2002;), sugiriendo que la ingesta de dieta rica en grasa provoca obesidad y, en consecuencia, déficit cognitivo (Smith et al., 2011).

Por el contrario, la restricción calórica moderada ha sido asociada a la mejora cognitiva y, a su vez, al incremento de la esperanza de vida (Weindruch et al., 1986; Bruce-Keller et al., 1999; Witte et al., 2009). Asimismo, estudios epidemiológicos en los cuales se ha analizado la incidencia de la EA con relación a la ingesta calórica diaria indican que, en países como China y Japón, donde la ingesta de calorías es baja comparado con países como Estados Unidos, la incidencia de EA es menor que en países donde se ingiere mayor cantidad de calorías (Mattson, 2000). Además, el consumo semanal de pescado y otras fuentes alimenticias de ácidos grasos omega 3 han sido asociados a una reducción de riesgo de padecer la enfermedad (Friedland, 2003).

Por consiguiente, el estudio de la interacción entre el metabolismo y la EA ha cobrado gran interés en los últimos años debido a que el incremento de la ingesta calórica a causa de dietas ricas en grasas saturadas en una costumbre cada vez más evidente en los países desarrollados. Este tipo de dietas se han asociado a un gran número de desórdenes metabólicos como la obesidad, resistencia a la insulina, síndrome metabólico y diabetes mellitus del tipo 2 (DMT2) (Li et al., 2015), además de relacionarse con la inflamación, estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, mecanismos involucrados en el desarrollo de la EA (Nuzzo et al., 2015).

## Enfermedades cardiovasculares

Los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares, muchas de ellas asociadas a la ingesta de dieta calórica, tales como la hipertensión, hipercolesterolemia, aterosclerosis, entre otros, han sido estrechamente relacionadas con el desarrollo de la EA (Luchsinger et al., 2005) (Figura 4).



**Figura 4.** Esquema de los factores de riesgo asociados con el desarrollo de la EA.

### 1.5 Patogénesis

Durante las siguientes décadas después del descubrimiento de la EA, no se realizaron progresos significativos en cuanto a la etiología de la enfermedad hasta finales de los 1970 y principios de los 80. En esta época, numerosas teorías fueron propuestas, relacionando conceptos tales como la autoinmunidad, toxicidad por aluminio o infección por virus (Deakin, 1983),

sin embargo, ninguna de ellas se pudo aplicar a todos los casos de pacientes con la EA.

Debido a la intensa investigación llevada a cabo en los últimos años y la falta de respuesta, se han postulado numerosas hipótesis sobre la etiología de esta compleja enfermedad neurodegenerativa.

### *1.5.1 Hipótesis de la cascada $\beta$ -amiloide*

Esta teoría fue formulada por los investigadores Hardy y Higgins en 1992 a partir del descubrimiento del  $\beta$ A como el constituyente molecular más importante de las PS (Glennner & Wong, 1984). Se basa en que la sobreproducción y acumulación de los péptidos  $\beta$ A, es el causante de desencadenar los cambios neuropatológicos presentes en la EA como la presencia de ONF, pérdida de sinapsis entre neuronas, daño vascular y demencia (Hardy & Allsop, 1991; Hardy & Higgins, 1992; Hardy & Selkoe, 2002).

Los péptidos  $\beta$ A se forman a partir de la proteólisis de la proteína APP por escisión secuencial mediante diferentes complejos enzimáticos (Zhang et al., 2011). La proteína APP es una proteína transmembrana tipo I expresada tanto en células cerebrales, incluyendo neuronas, astrocitos y microglía, como en tejidos y órganos periféricos, tales como riñones, corazón, hígado, páncreas y bazo, entre otros (Yankner et al., 1991; Roher et al., 2009). Esta proteína está codificada por el gen *APP* situado en el cromosoma 21, dato que concuerda con el incremento de deposiciones de  $\beta$ A observado en el cerebro de las personas con síndrome de Down (Tcw & Goate, 2017). A pesar de haber sido objeto de numerosos estudios tras su identificación, su función fisiológica aún no se conoce con exactitud, aunque se ha relacionado con diferentes procesos

tales como sinaptogénesis (Turner et al., 2003), transducción de señales transmembrana, tráfico axonal de proteínas neuronales (Liu et al., 2009) o adhesión celular (Thinakaran & Koo, 2008).

La APP es procesada por dos vías diferentes, la vía no-amiloidogénica y la vía amiloidogénica, las cuales son clave a la hora de formar los péptidos  $\beta$ A y posteriormente las PS (Zhang et al., 2011).

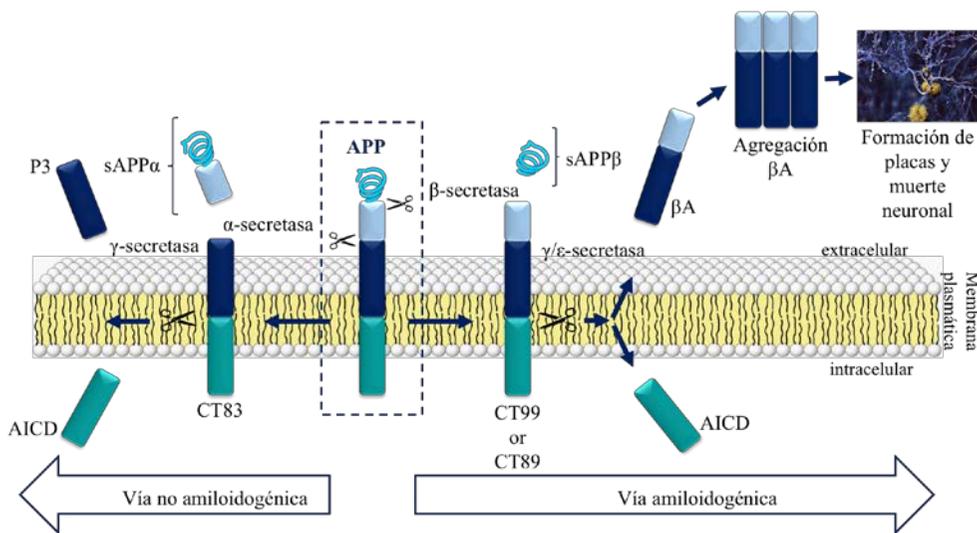
### **Vía no-amiloidogénica**

En esta vía, la escisión del APP se lleva a cabo mediante la  $\alpha$ -secretasa (ADAM10), proteasa que corta entre los residuos Lys 16 y Lys 17 situados en el dominio  $\beta$ A, evitando la formación del péptido  $\beta$ A. Como consecuencia, se libera el ectodominio amino-terminal soluble del APP (sAPP $\alpha$ ) al lumen extracelular, mientras que el fragmento resultante de 83 aminoácidos (CTF $\alpha$ ) queda anclado en la membrana plasmática, para ser seccionado seguidamente por la  $\gamma$ -secretasa. Como resultado, se produce la liberación del péptido p3 y del fragmento C-terminal intracelular del APP (AICD) (Zhang et al., 2011).

### **Vía amiloidogénica**

La vía amiloidogénica es considerada la vía alternativa de procesamiento del APP, la cual es responsable de la formación de los péptidos  $\beta$ A. En este caso, el procesamiento del APP se lleva a cabo mediante la actividad de la  $\beta$ -secretasa (BACE1), el cual forma un ectodominio N-terminal soluble del APP, llamado sAPP $\beta$ , y un fragmento C-terminal unido a la membrana (CTF $\beta$ ) compuesto por 99 aminoácidos. Posteriormente, actúa la  $\gamma$ -secretasa entre los residuos 38-43, generando AICD y a su vez, un fragmento N-terminal soluble, el péptido  $\beta$ A. Dependiendo del punto exacto en el que corta la enzima, se

producen 3 principales formas;  $\beta A_{38}$ ,  $\beta A_{40}$  y  $\beta A_{42}$  de 38, 40 y 42 residuos aminoacídicos respectivamente. Finalmente, estos péptidos son secretados al espacio extracelular donde tienden a agregarse formando tanto complejos multiméricos solubles (dímeros y trímeros) como insolubles (fibrillas y protofibrillas). La forma  $\beta A_{42}$  es la más hidrofóbica y la más propensa a la formación de fibrillas, siendo la predominante en las PS (Jarrett et al., 1993; Maccioni et al., 2001; Zhang et al., 2011) (Figura 5).

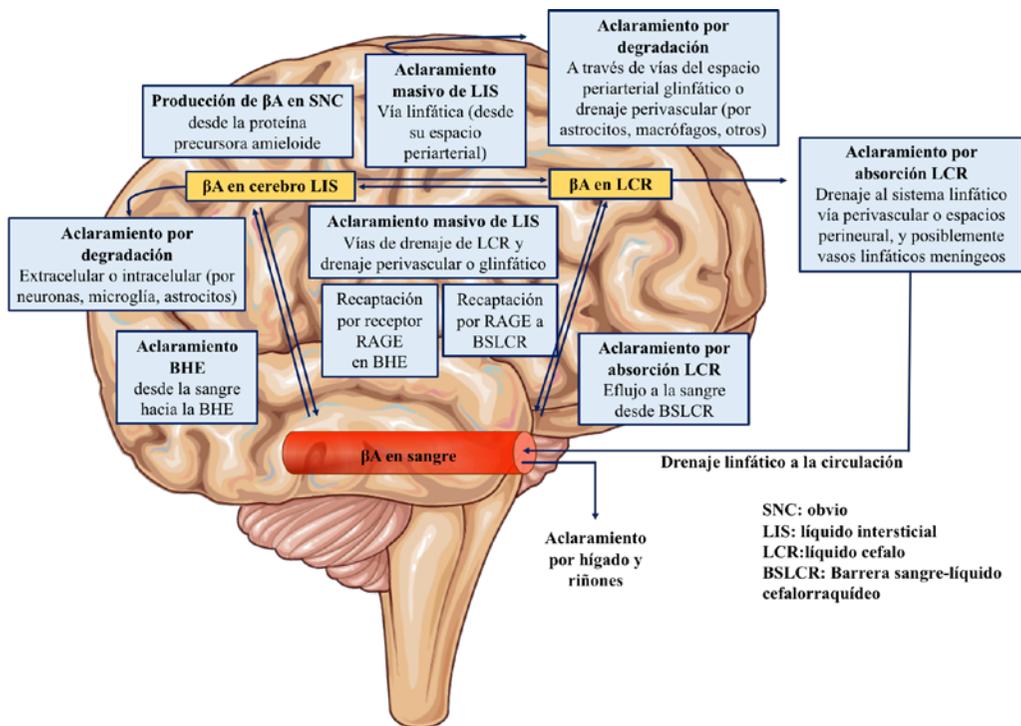


**Figura 5.** Esquema del procesamiento de APP, tanto de la vía amiloidogénica como de la no amiloidogénica. Fuente: Cárdenas-Aguayo, M. del C., 2014 (Adaptado).

En condiciones fisiológicas, la producción de  $\beta A$  se equilibra mediante su eliminación a través del drenaje perivascular (Weller et al., 2008), el transporte mediado por receptor a través de la barrera hematoencefálica (BHE) (Deane et al., 2008) y la degradación enzimática (Carson & Turner, 2002; Turner et al., 2004), entre otros procesos. Sin embargo, en condiciones patológicas, a pesar de que el mecanismo por el cual se produce la acumulación no está claro,

diversas publicaciones han demostrado una disminución tanto de la expresión como de la actividad de ambas enzimas, la neprilisina (NEP) y la enzima degradadora de insulina (EDI), en cerebros *post mortem* de pacientes con EA (Minners et al., 2006; Zhao et al., 2007). Asimismo, estudios recientes han confirmado la mejora cognitiva en modelos animales a través de estrategias focalizadas en el aclaramiento del  $\beta$ A (Mori et al., 2014; Pujadas et al., 2014).

Se han descrito diversos mecanismos de aclaramiento los cuales se han detallado a continuación (Figura 6).



**Figura 6.** Mecanismos de aclaramiento del  $\beta$ A. Fuente: Tarasoff-Conway et al., 2015 (Adaptado)

Cabe destacar que los fármacos diseñados con el propósito de inhibir las PS no han sido capaces de frenar la EA. De hecho, se han descrito casos de pacientes con muy baja densidad de PS en cerebros *post mortem*. Actualmente está

tomando relevancia el hecho que sugiere que los oligómeros de  $\beta$ A (O $\beta$ As) o ligandos difusibles derivados del  $\beta$ A (ADDL) podrían ser la causa de la pérdida de memoria, sobre todo en etapas tempranas de la enfermedad, jugando un papel esencial en la disfunción sináptica (Han & Li, 2010; De Felice et al., 2014). Además, los O $\beta$ A son consideradas las especies más tóxicas, concretamente la forma  $\beta_{42}$  (Rigacci et al., 2011).

Durante años, es indiscutible la gran inversión económica y el esfuerzo llevado a cabo tanto por parte de los laboratorios como por parte de las empresas farmacéuticas para crear fármacos focalizados en la eliminación de los depósitos de  $\beta$ A, basándose principalmente en la hipótesis  $\beta$ A. Desgraciadamente, ninguna de las moléculas estudiadas, aunque algunas de ellas han logrado llegar a la fase II y III en ensayos clínicos, han demostrado producir una mejora en el avance de la enfermedad respecto al placebo, hecho que ha llevado a plantear nuevas hipótesis sobre su etiología (Schneider et al. 2014).

### *1.5.2 EA como Taupatía*

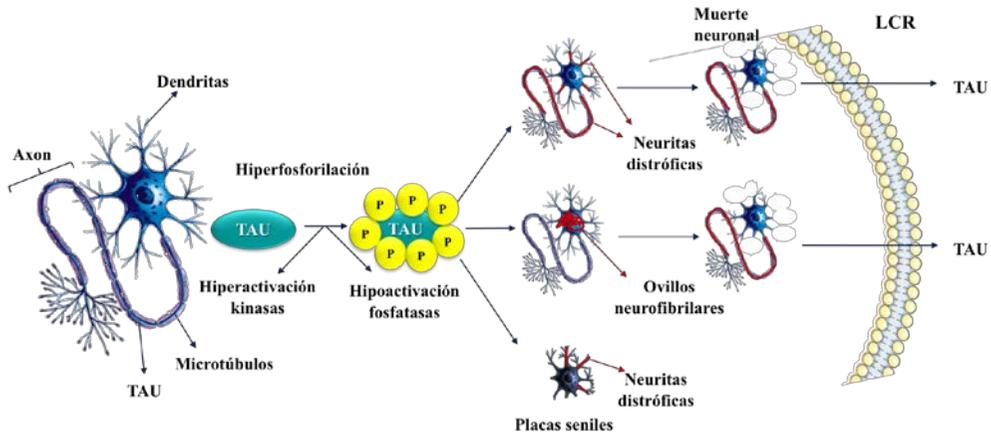
Las taupatías son una clase de enfermedades neurodegenerativas que se asocian a la agregación patológica de la proteína TAU, teoría que postula que el proceso neurodegenerativo se produce a causa de la presencia de alteraciones en el transporte intraneuronal, comprometiendo de esta manera la función y viabilidad de las células (Trojanowski & Lee, 2005).

La proteína TAU pertenece al grupo de proteínas asociadas a microtúbulos (MAPs) y se ha sugerido que actúa como mayor regulador de la formación de microtúbulos (Weingarten et al., 1975). Los microtúbulos son componentes

esenciales del citoesqueleto, los cuales presentan una gran importancia en la formación de dendritas, axones y contactos específicos.

TAU presenta 85 dominios fosforilables viéndose disminuída su capacidad de unión a microtúbulos cuando sucede este proceso (Sergeant et al., 2005; Schraen-Maschke et al., 2008). La hiperfosforilación de TAU causa la agregación de filamentos cruzados helicoidalmente, componentes principales de los ONF, los cuales son altamente insolubles y difíciles de degradar. Estas estructuras se encuentran principalmente en neuronas piramidales del hipocampo, corteza entorrinal y parahipocampal y núcleos del tronco en fases más tempranas de la enfermedad y se extienden a diversas zonas del neocórtex durante las fases más avanzadas (Corder et al., 2000), siendo uno de los principales marcadores de la EA junto con la PS. Además, se ha sugerido que su presencia está correlacionada con el grado de demencia presente en pacientes con EA (Gómez-Isla et al., 1997). Por lo tanto, los expertos que defienden que el origen de la enfermedad tiene como inicio la proteína TAU proponen que los cambios conformacionales tempranos en la estructura de esta proteína desencadenan todo el proceso patológico de la EA e incluso la posterior agregación de ésta para formar la adhesión de los filamentos helicoidales y los ONF (Delacourte & Defossez, 1986). Además, se ha descrito que la reducción de TAU permite paliar las alteraciones cognitivas inducidas por  $\beta$ A en un modelo animal de la EA (Robertson et al., 2007).

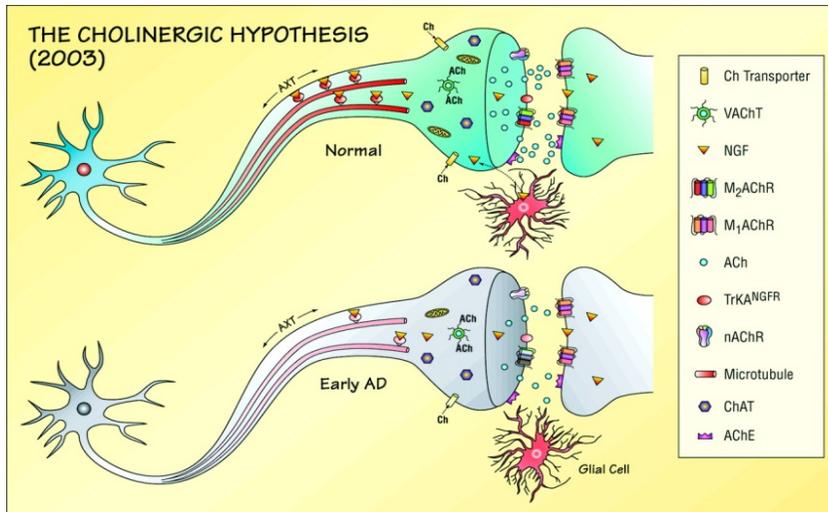
Sin embargo, recientes estudios han puesto de manifiesto que los oligómeros solubles de  $\beta$ A son capaces de acelerar la hiperfosforilación de TAU (Zempel et al., 2010; Jin et al, 2011) entre otros procesos patológicos, por lo que, aunque los dos marcadores neuropatológicos están estrechamente relacionados, aún no está claro cuál es el mecanismo que relaciona ambas teorías.



**Figura 7.** La hiperfosforilación de TAU como origen de la EA. Fuente: Trojanowski & Lee, 2005 (Adaptado).

### 1.5.3 Hipótesis colinérgica

Esta teoría postula que la alteración de la memoria es debida a una pérdida del funcionamiento colinérgico neuronal (Bartus et al., 1982). Las neuronas colinérgicas proyectan a la corteza (principalmente frontal y parietal), tálamo, amígdala e hipocampo; especialmente áreas implicadas en cognición y memoria. Durante más de 20 años, numerosos estudios han demostrado alteraciones relacionadas con la transmisión colinérgica, tanto a causa de una disminución de neuronas en cerebros *post mortem* de pacientes con EA (Whitehouse et al., 1982) como a nivel molecular, concretamente, en la absorción de la colina, liberación de la acetilcolina, receptores nicotínicos y muscarínicos, así como en el transporte axonal, entre otros (Mesulam, 2004; Wenk, 2006). Por lo tanto, la correlación encontrada entre el déficit colinérgico y la pérdida de las capacidades cognitivas ha motivado la intensa investigación en este punto, siendo una de las teorías terapéuticas más explotadas y desarrolladas en los últimos años (Figura 8).



**Figura 8.** Hipótesis colinérgica. Representación esquemática de las alteraciones que se producen en una neurona con la EA en comparación con una neurona sana. Fuente: Terry et al., 2003 (Adaptado).

Asimismo, se ha establecido una clara relación entre el sistema colinérgico y el procesamiento de APP. Nitsch y colaboradores fueron los primeros en demostrar la regulación colinérgica del procesamiento de APP en líneas celulares embrionarias de riñón humano (Nitsch et al., 1992). Del mismo modo, se ha observado que la activación de receptores muscarínicos potencia la secreción de sAPP $\alpha$  sino que también reduce la formación de  $\beta$ A (Pittel et al., 1996). En línea con esta teoría, Ni y colaboradores evidenciaron que el  $\beta$ A interacciona con los receptores colinérgicos afectando a su función (Ni et al., 2013).

Sin embargo, pese a todo ello, los fármacos utilizados en pacientes con la EA basados en esta hipótesis no han conseguido frenar el desarrollo de la enfermedad. Investigaciones en paralelo precisaron esta teoría, demostrando que los déficits colinérgicos no están presentes en pacientes que se encuentran en fases tempranas de la enfermedad (Terry & Buccafusco, 2003).

### *1.5.4 Hipótesis glutamatérgica/excitotóxica*

De acuerdo con la hipótesis excitotóxica, la sobreactivación de la transmisión glutamatérgica, sobretodo de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDAR), conduce a una entrada masiva de  $\text{Ca}^{2+}$ . Como resultado de este aumento desmesurado, se induce la activación de una gran variedad de factores neurotóxicos que alteran y disminuyen la viabilidad neuronal, conduciendo a la muerte neuronal (Olney et al., 1997).

El glutamato interviene en la mayoría de las transmisiones sinápticas excitatorias del cerebro desempeñando un papel crucial en procesos fisiológicos tan diversos como la proliferación celular y supervivencia celular, aprendizaje y memoria, así como en enfermedades neurodegenerativas como la EA (Butterfield & Pocernich, 2003; Riedel et al., 2003; Suzuki et al., 2006).

Existen dos grandes grupos de receptores glutamatérgicos: los receptores ionotrópicos (iGluR) y los receptores metabotrópicos (mGluR). Los primeros son tetrámeros que forman un canal iónico y se encargan de regular el paso de los iones a través de la membrana plasmática. Se clasifican principalmente en 3 familias: receptores ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), receptores Kainato y NMDAR. Los mGluR, sin embargo, son receptores acoplados a proteínas G que modifican la respuesta de los canales de membrana dando lugar a la activación de cascadas de señalización intracelular mediante segundos mensajeros como el diacilglicerol (DAG) o el adenosín monofosfato cíclico (AMPc) (Kew & Kemp, 2005).

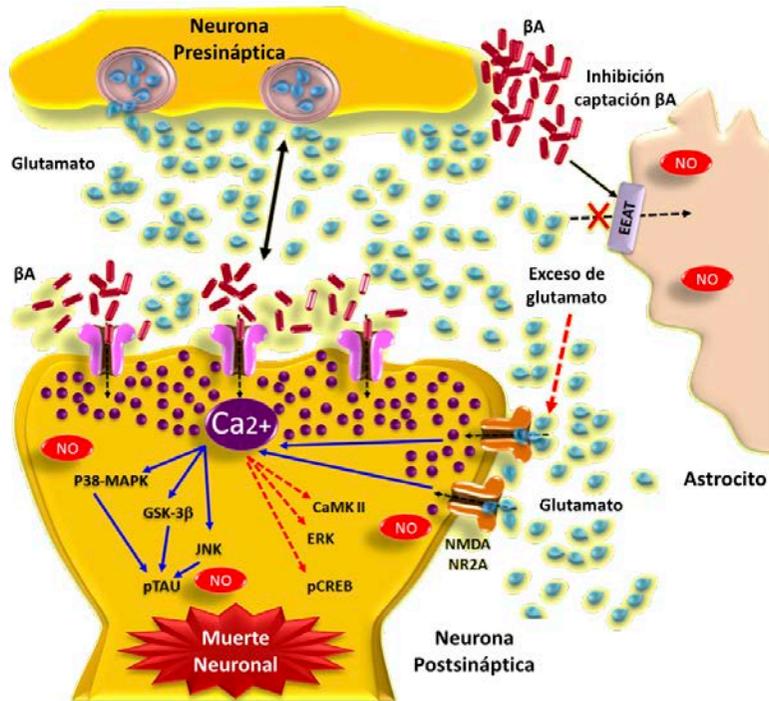
En condiciones fisiológicas, el glutamato se une tanto a los receptores AMPA/Kainato como a los NMDAR, el cual se encuentra bloqueado por el  $\text{Mg}^{2+}$  para evitar el continuo flujo de iones dentro de la célula, principalmente

del  $\text{Ca}^{2+}$ . Cuando se produce la unión del glutamato a los receptores AMPA/Kainato, comienza el flujo de iones de  $\text{Na}^+$  hacia el espacio intracelular, cambiando el potencial de membrana. Cuando la membrana se despolariza, el ion de  $\text{Mg}^{2+}$  se desprende del canal de NMDAR facilitando el paso del  $\text{Ca}^{2+}$ . Además, este receptor requiere de la unión de la glicina para su activación, el cual se considera un agonista del NMDAR (Segovia et al., 2001) (Figura 9).

Los NMDAR presentan una gran distribución por todo el cerebro, principalmente en el hipocampo (Greenamyre & Porter, 1994). Dependiendo de la localización de NMDAR en la neurona, se han clasificado en dos grupos: los NMDAR sinápticos y los extrasinápticos. Los primeros presentan tanto localización presináptica como postsináptica en la neurona (Rush & Buisson, 2014). Con relación a los receptores presinápticos se ha descrito que juegan un papel esencial en la transmisión sináptica y en vías de plasticidad neuronal, mientras que los postsinápticos están involucrados en el control de la plasticidad (Bordji et al., 2011). Además, ambos tipos se han relacionado con la activación de genes encargados de la supervivencia y protección neuronal (Rush & Buisson, 2014). En referencia a los receptores extrasinápticos, estos se localizan en las dendritas y requieren elevadas cantidades de glutamato para ser activadas (Léveillé et al., 2008). Estos se caracterizan porque cuando la subunidad NR2B es estimulada excesivamente, contribuye a la neurotoxicidad y control de la muerte neuronal (Folch et al., 2018). Además, los NMDAR se ha descrito que están involucrados en la regulación de la producción de  $\beta\text{A}$  y, por lo tanto, en la neuropatología de la EA (Léveillé et al., 2008; Paoletti et al., 2013).

Asimismo, Snyder y colaboradores han demostrado que el  $\beta\text{A}$  provoca un incremento de la endocitosis de los NMDAR en neuronas corticales,

disminuyendo su expresión en la membrana. Esto conduce a una reducción de la transmisión glutamatérgica y por lo tanto a la inhibición de la plasticidad sináptica (Snyder et al., 2005).



**Figura 9.** Representación de la hipótesis glutamatérgica. Fuente: Campos-Peña & Meraz-Ríos, 2014 (Adaptado)

### 1.5.5 Paradigma de la APOE

El gen que codifica para la apolipoproteína E (APOE) está situado en el cromosoma 19 y en humanos se conocen 3 alelos principalmente  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  y  $\epsilon_4$  que codifican para las diferentes isoformas APO  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  y  $\epsilon_4$  respectivamente, siendo la  $\epsilon_3$  la forma más común mientras que las otras se consideran variantes. La APO  $\epsilon_4$  ha sido estrechamente relacionada con una mayor prevalencia y un desarrollo más temprano de la EA, tanto cuando se presenta en homocigosis como en heterocigosis (Corder et al., 1993). Por el contrario, el alelo  $\epsilon_2$  ha sido

atribuido a un papel neuroprotector frente a la enfermedad (Corder et al., 1994).

Las apolipoproteínas (APO) son heteroproteínas anfipáticas que forman parte de las lipoproteínas, las cuales se encargan del transporte y metabolismo de los lípidos, incluyendo colesterol y fosfolípidos a través del organismo (Mahley, 1988). Las APO son las responsables de la unión de estas macromoléculas a receptores celulares de diferentes tejidos, las cuales activan la función enzimática, permitiendo la degradación de los lípidos contenidos en la lipoproteína. Existen diferentes tipos, entre ellas la APOE, la cual interacciona con el receptor de lipoproteína de baja densidad (*low density lipoprotein receptor*; LDLR) (Innerarity et al., 1986). Aunque la relación de la isoforma APO  $\epsilon$ 4 en la predisposición de la EAe está claramente establecida, el mecanismo por el cual actúa en su patogénesis no se ha esclarecido todavía.

En el sistema nervioso central (SNC), APOE es producida principalmente por astrocitos, aunque también se ha demostrado su expresión en otros tipos celulares como las neuronas (Bu, 2009). Diversos estudios han sugerido que APOE, dependiendo del tejido celular del cual proviene, presenta diferentes funciones tanto en vías fisiológicas como patofisiológicas, incluyendo la EA. Por ejemplo, se ha descrito que la APOE4 generada en respuesta a una lesión podría estar relacionada con la disfunción mitocondrial y la formación de ONF (Brecht et al., 2004; Chang et al., 2005), sin embargo, la APOE4 en astrocitos podría ser la principal responsable de la formación de PS (Xu et al., 2006). Además, esta isoforma también ha sido asociada a la presencia de alteraciones en el aclaramiento del  $\beta$ A y posterior agregación, proceso que potencia la patología  $\beta$ A. Por otro lado, diversos estudios sugieren el papel diferencial de estas isoformas en la regulación de la señalización de la insulina y en el metabolismo de la glucosa (Peila et al., 2002; Reiman et al., 1996; Small et al.,

1995). Asimismo, Reiman y colaboradores han demostrado la disminución del metabolismo de la glucosa en personas que presentaban la isoforma APOE4 (Reiman et al., 1996; Reiman et al., 2005). Acorde con estos datos, ensayos clínicos recientes han indicado que los beneficios cognitivos observados en pacientes con la EA después de haber sido tratados con insulina intranasal son modulados por los genotipos de APOE (Claxton et al., 2013; Claxton et al., 2015). Asimismo, para confirmar el papel esencial que juega esta lipoproteína en la regulación tanto de la señalización de la insulina como del metabolismo de la glucosa, Liu y colaboradores llevaron a cabo la delección condicional en neuronas del lóbulo frontal del principal receptor de APOE, la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (en inglés, low density lipoprotein-related protein 1; LRP1), conduciendo a la presencia de alteraciones en la señalización de la insulina cerebral así como a la disminución de la capacidad de metabolizar glucosa (Liu et al., 2015). En relación a esta hipótesis y con el propósito de definir los mecanismos tanto moleculares como celulares que relacionan de manera diferencial las isoformas de APOE, en un artículo publicado recientemente, Zhao y colaboradores demostraron que los ratones en los cuales el *ApoE* murina se había sustituido por el *APOE4* humano exhibieron alteraciones en la señalización de la insulina además de resistencia en el cerebro dependiente de la edad, indicando que APOE4 interacciona con el receptor de la insulina (RI) alterando la señal. Asimismo, estos datos muestran que la respuesta fue exacerbada a causa de la ingesta de dieta rica en grasa (Zhao et al., 2017).

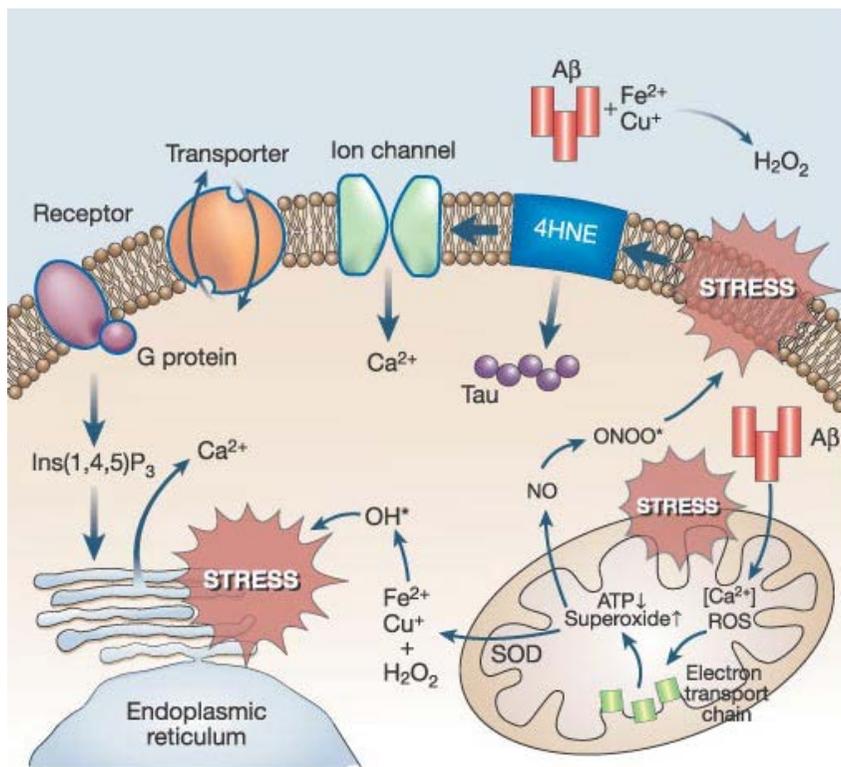
Además, se ha evidenciado la interacción sinérgica que existe entre la isoforma APOE4 y la DMT2, incrementando el riesgo de padecer la EA cuando ambas se combinan en el mismo individuo, hecho que refuerza la hipótesis metabólica la cual postula el papel clave de la DMT2 en el desarrollo de la EA, tal y como se comenta posteriormente en la presente tesis.

### *1.5.6 Hipótesis del estrés oxidativo*

Hay evidencias claras de que los radicales libres intervienen en diversas enfermedades neurológicas como la EA, de hecho, se ha demostrado la presencia de estrés oxidativo tanto en neuronas como en células periféricas en casos de EAe y EAf (Perry et al., 2002). El SNC es especialmente vulnerable al daño generado por los radicales libres como resultado del elevado consumo de oxígeno que presenta, su abundante contenido de lípidos y su relativamente baja cantidad de enzimas antioxidantes comparado con otros tejidos (Coyle & Puttfarcken, 1993). Por estos motivos se postuló que la acumulación del daño oxidativo a lo largo del tiempo podría ser responsable del inicio tardío y de la lenta progresión de este trastorno neurológico (Markesbery, 1997). Para sustentar esta teoría, Markebery y colaboradores se basaron en múltiples estudios, los cuales mostraban un incremento de metales como el Fe, Al y Hg en cerebros de pacientes con la EA, un incremento de la oxidación de lípidos, de carbohidratos, de proteínas y de ácido desoxirribonucleico (ADN), además de la presencia de productos del estrés oxidativo tanto en los ONFs como en las PS (Markesbery & Carney, 1999). Además, hay estudios que indican que el estrés oxidativo aparece en fases tempranas de la enfermedad, previo a la aparición de PS y ONFs (Nunomura et al., 2001).

Sin embargo, numerosas publicaciones han rebatido esta hipótesis, indicando la importancia del oligómero soluble del  $\beta$ A en la propagación de la EA (Tabner et al., 2005; Ferreira et al., 2007). Se ha sugerido que la interacción entre los oligómeros  $\beta$ A y el  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Cu}^+$  genera la formación de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Cuando esta agregación se produce en la membrana celular, se produce el estrés oxidativo asociado a membrana, el cual conduce a la peroxidación lipídica. Por consiguiente, se forma el 4-hidroxinonenal (4-HNE), un aldehído neurotóxico que modifica proteínas en diferentes residuos, entre ellas transportadores de

membranas, proteínas G y canales iónicos, además de modificar TAU promoviendo su agregación y, por lo tanto, la formación de ONFs. Asimismo, el  $\beta$ A también ha sido involucrada en procesos de estrés oxidativo mitocondrial y desregulación de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ , provocando alteraciones en la cadena transportadora de electrones y como resultado un incremento de los radicales de superóxido y una disminución de adenosín trifosfato (ATP) (Mattson, 2004) (Figura 10).



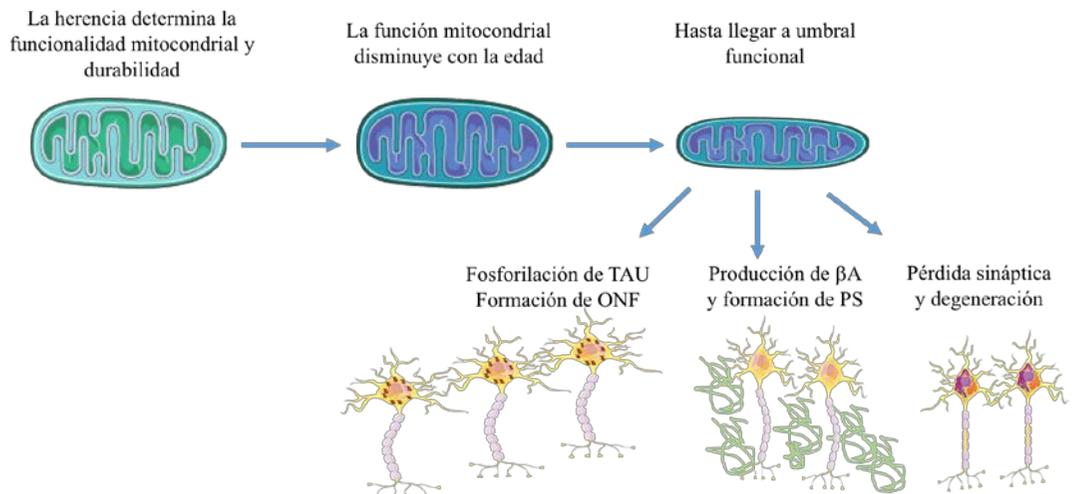
**Figura 10.** Hipótesis del estrés oxidativo. Fuente: Unzeta et al., 2016 (Adaptado).

### *1.5.7 Disfunción mitocondrial o hipótesis de la cascada mitocondrial*

La mitocondria es un orgánulo celular esencial en la producción de energía, detoxificación de oxígeno, mantenimiento del potencial redox celular, control de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ , además de ser clave en otros procesos metabólicos. El cerebro requiere gran cantidad de energía para la neurotransmisión por lo que los terminales axonales están altamente enriquecidos de mitocondrias para que se genere ATP (Rowland et al., 2000). Durante décadas, se ha demostrado que la morfología y función mitocondrial estaba alterada en cerebros con la EA, mostrando deficiencias en enzimas del ciclo de Krebs (Gibson et al., 1988; Sorbi et al., 1993) y en la actividad ciclooxigenasa (COX), también conocida como complejo IV de la cadena de transporte de electrones (Kish et al., 1992), entre otros. Debido a la gran influencia de estos trabajos, fue lanzada la hipótesis de la cascada mitocondrial por parte de Swerdlow y colaboradores para explicar la EAe y su origen tardío. Esta teoría se basa principalmente en 3 ideas. En primer lugar, postula que la hipótesis de la cascada mitocondrial mantiene una herencia genética como punto de partida para cada individuo respecto a la función mitocondrial. Por lo que ambos progenitores contribuyen en el riesgo de que una persona desarrolle la EA, siendo mayor la contribución por parte de la madre debido al ADN mitocondrial (ADNmt). En segundo lugar, la herencia y el ambiente son factores que determinan la edad a la cual se desarrollarán los cambios mitocondriales relacionados con el envejecimiento. Por último, defienden que la edad de inicio de las alteraciones en la función de la mitocondria determina el comienzo y desarrollo de la enfermedad (Swerdlow & Khan, 2004). Esta disfunción está asociada a múltiples alteraciones tales como el incremento de marcadores de estrés oxidativo, fosforilación de la proteína TAU (Szabados et al., 2004) y

expresión, procesamiento y acumulación de APP (Swerdlow et al., 2014) y plasticidad neuronal y respuesta neuronal (Atamna & Frey, 2007).

El  $\beta$ A está ampliamente relacionada con la disfunción mitocondrial. Múltiples publicaciones han demostrado la acumulación de esta proteína dentro de las mitocondrias en cerebros tanto de modelos de la EA murinos como en pacientes con la EA (Caspersen et al., 2005; Ready & Beal, 2008). Asimismo, se ha descrito que interacciona con numerosas proteínas mitocondriales como la ciclofilina D (CYPD), generando alteraciones mitocondriales y, por tanto, muerte neuronal y disfunción cerebral (Du et al, 2011; Eckert, 2011). Sin embargo, el mecanismo por el cual se produce la degeneración neuronal a causa del  $\beta$ A no se ha esclarecido todavía.



**Figura 11.** Hipótesis de la cascada mitocondrial. Fuente: Swerdlow et al. 2014 (Adaptado).

### *1.5.8 Hipótesis de la neuroinflamación*

La neuroinflamación se define como la activación del sistema inmune innato en el cerebro y su función principal es proteger el SNC contra agentes infecciosos, lesiones o enfermedades (Spencer et al., 2012). La activa participación de este proceso en las enfermedades neurológicas como la EA ha sido ampliamente establecida (Hensley, 2010), sin embargo, la cuestión principal que se ha planteado entre los expertos ha sido si este proceso es causa o consecuencia de la patología.

Evidencias emergentes han sugerido que la neuroinflamación juega un papel causal en la patogénesis de la enfermedad, contribuyendo tanto o más que las PS y la TAU fosforilada por sí solas (Zhang & Jiang, 2015). Este proceso se considera una respuesta compleja en la cual se produce la inducción de múltiples vías de señalización intracelulares, entre otros procesos, conduciendo a un exceso de mediadores inflamatorios y componentes neurotóxicos, los cuales podrían contribuir a la disfunción y muerte neuronal presente en la EA (McGeer & McGeer, 2010). Asimismo, numerosas investigaciones han indicado que la neuroinflamación es un proceso que se manifiesta al principio de la enfermedad y que se mantiene de manera continuada (Hoozemans et al., 2006; Eikelenboom et al., 2010).

Los astrocitos y la microglía son los principales tipos de células gliales del SNC cuya activación está estrechamente ligada con la neuroinflamación. Las células microgliales, también conocidas como los macrófagos del SNC, representan entre el 5-10% del total de las células del cerebro adulto (Czeh et al., 2011), distribuyéndose principalmente en el hipocampo, en los ganglios basales y en la sustancia negra (Lawson et al., 1990). Estas células juegan un papel fundamental en la defensa del organismo hospedador a través de la

destrucción de los patógenos invasores y la eliminación de desechos nocivos, además de promover la reparación tisular y homeostasis, proceso que a su vez afecta a los astrocitos y neuronas colindantes (Glass et al., 2010). En condiciones fisiológicas, la microglía presenta una morfología ramificada, asociada a una producción de factores antiinflamatorios y neurotróficos (Streit, 2002), estado celular el cual se denomina inactivado. Sin embargo, cuando se produce la invasión de algún patógeno o daño tisular, la microglía cambia su morfología, de ramificada a ameboide, y promueve la respuesta inflamatoria a través de la liberación de citocinas pro-inflamatorias (Block et al., 2007) con el fin de reparar el tejido dañado, siendo normalmente una respuesta limitada que finaliza una vez erradicada la infección o reparado el tejido.

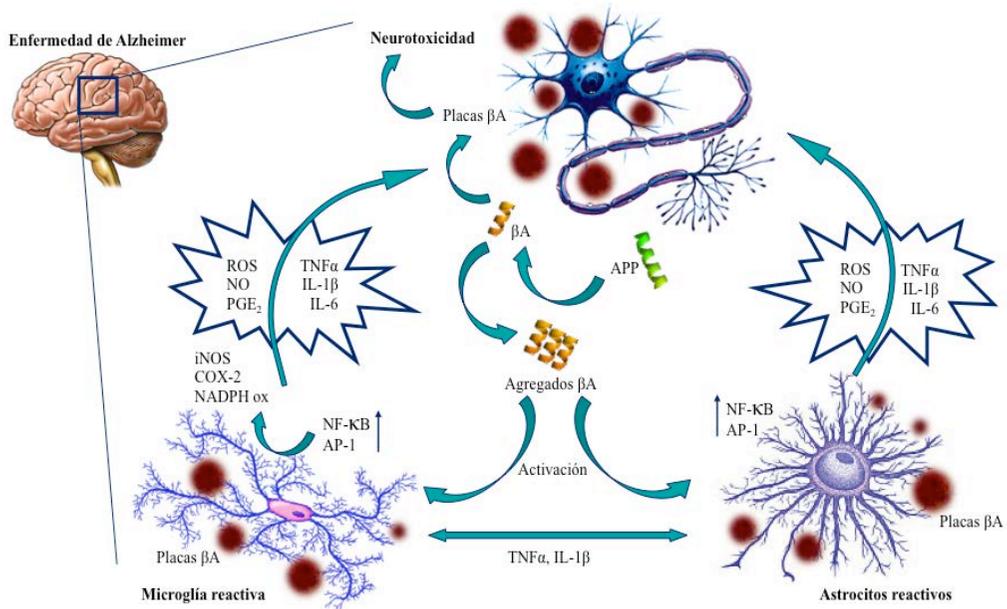
Aunque durante años la función de la microglía se ha atribuido a un papel neurotóxico debido a la activación de vías de señalización pro-inflamatorias, posteriormente ha sido demostrado que su activación es un proceso diverso, dependiente del tipo de estímulo, intensidad y contexto, el cual conlleva a que adquiera o bien una función neurotóxica o por el contrario, una función neuroprotectora (Schwartz et al., 2006; Hanisch & Kettenmann, 2007).

No cabe duda de que la activación microglial juega un papel fundamental en el desarrollo de la EA debido a su implicación en la muerte neuronal y en los déficits cognitivos, entre otros procesos (Zhang & Jiang, 2015). Sin embargo, ha sido descrito que este tipo celular también es responsable de secretar enzimas proteolíticas con el objetivo de degradar el  $\beta$ A, como EDI, metaloproteinasas de matriz y complejos de plasminógeno-plasmina (Leissring et al., 2003; Li et al., 2011), confiriendo cierta neuroprotección. Además, la microglía también es capaz de secretar diversos factores solubles al mismo tiempo como el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), el cual promueve la supervivencia de las neuronas (Liu & Hong, 2003). Sin

embargo, a pesar de la función neuroprotectora de la microglía, el  $\beta$ A continúa acumulándose y la enfermedad sigue avanzando sin cesar, sugiriendo como posible explicación o bien que la microglía no es capaz de hacer frente a la gran cantidad de  $\beta$ A formada de manera constante o bien que a medida que transcurre la EA el fenotipo de la microglía cambia de tal manera que genera una sobreproducción de citocinas pro-inflamatorias como la interleucina  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alpha (TNF $\alpha$ ), así como sustancias que se liberan a causa de la muerte neuronal, además de la activación de BACE1, entre otros. En consecuencia, disminuye la absorción y degradación del  $\beta$ A, incrementado la formación de los oligómeros (Hickman et al., 2008) y potenciando la neuroinflamación, de tal manera que se genera un círculo vicioso.

Por otro lado, los astrocitos son el tipo de glía más abundante en el SNC, los cuales juegan un papel esencial tanto en la organización como en el mantenimiento de la estructura y función cerebral (Maragakis and Rothstein, 2006). Aunque su activación proporciona neuroprotección a través de la liberación de factores neurotróficos, también participa en procesos inflamatorios mediante la producción de moléculas pro-inflamatorias como citosinas y quimiocinas (Farina et al., 2007). En consecuencia, su mal funcionamiento conlleva a la alteración de la homeostasis celular, proceso directamente relacionado con el desarrollo de la EA. De hecho, en tejido cerebral extraído a partir de individuos con esta enfermedad, la presencia de astrocitos activados está estrechamente asociada con las PS en la capa molecular de la corteza cerebral (Wisniewski and Wegiel, 1991). Asimismo, ha sido descrito que los factores pro-inflamatorios secretados por los astrocitos podrían contribuir a la presencia de alteraciones en los niveles de expresión de las secretasas, potenciando la formación de oligómeros de  $\beta$ A (Tang, 2009),

convirtiéndose así, en una importante fuente de formación de  $\beta$ A durante el proceso de neuroinflamación (Zhao et al., 2011).



**Figura 12:** Hipótesis de la neuroinflamación en la EA. Pan et al., 2010 (Adaptado)

## 1.6 Modelos experimentales de ratón para el estudio de la EA

La genética juega un papel esencial en el desarrollo de la EA aunque esté implicada sólo en el 5% de los casos. El descubrimiento de genes asociados a esta enfermedad ha sido la base del desarrollo de modelos animales para poder estudiarla, facilitando así su investigación con el objetivo de abordar nuevas terapias para la prevención y/o cura de la EA.

Es importante enfatizar que actualmente no existe ningún modelo de ratón que exhiba todas las características tanto clínicas como patológicas presentes en

esta enfermedad, tales como déficits cognitivos y conductuales, PS, gliosis, ONF, así como pérdida sináptica, axonopatía y neurodegeneración. Sin embargo, se han generado diversos ratones transgénicos sobreexpresando y/o combinando mutaciones involucradas en estas características patológicas a fin de aproximarse a la EA, basadas en la proteína APP humana, en TAU o en las presenilinas, entre otras (Hall & Roberson, 2012).

### *1.6.1 Modelo experimental APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> (APP/PS1)*

Se basa en un doble transgénico que expresa la mutación sueca (K594M/N595L) de la proteína APP quimera ratón/humano (mo/huAPP695swe), junto con la delección del exón 9 de la PS1, modelo generado a través de la co-inyección de ambos transgenes por lo que la descendencia la hereda como un único transgen (Hall & Roberson, 2012).

Estos ratones exhiben una variedad de síntomas clínicamente relevantes de la EA, entre ellos el incremento de los péptidos  $\beta$ A, tanto  $\beta_{40}$  como  $\beta_{42}$ , siendo más común este último, los cuales forman las PS, viéndose incrementadas tanto en número como en tamaño a medida que avanza la edad del animal. El patrón de deposición comienza en la corteza y en el hipocampo extendiéndose progresivamente a otras áreas del cerebro (García-Alloza et al., 2006). Otros síntomas presentes en este modelo de ratón son la inflamación, déficits en el sistema colinérgico e incluso déficits cognitivos (Jankowsky et al., 2004), considerándolo como un buen modelo de estudio de la EA.

### **Combinación de rica en grasa con modelo APP/PS1**

Por otro lado, como se ha explicado más detalladamente en el apartado de “Enfermedad de Alzheimer y Diabetes Mellitus”, la DMT2 es considerada uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la EA. La resistencia

a la insulina periférica ha sido ampliamente relacionada con alteraciones en la vía de la insulina (Dineley et al., 2014; Steen et al., 2005; Tanti & Jager 2009), la cual, en el SNC, ha sido asociada a la modulación de la memoria (Dineley et al., 2014; Watson & Craft, 2004). Además, numerosos estudios han demostrado que la ingesta de dieta rica en grasa incrementa significativamente las concentraciones de  $\beta$ A en el cerebro de modelos animales de APP (Ho et al., 2004; Maesako et al., 2013; Ramos-Rodriguez et al., 2014), evidenciando que la resistencia a la insulina y la DMT2 empeoran la EA (Haan, 2006; Ramos-Rodriguez et al., 2017)

Asimismo, se ha demostrado que la resistencia a la insulina inducida por la dieta exacerba la acumulación de  $\beta$ A, la fosforilación de TAU así como las alteraciones cognitivas, contribuyendo al desarrollo de la EA (Cao et al., 2007; Carvalho et al., 2012), datos que refuerzan la asociación entre las dos patologías. Sin embargo, no todos los pacientes diagnosticados con esta enfermedad neurodegenerativa presentan resistencia periférica a la insulina por lo que el mecanismo que une las dos patologías no se ha esclarecido actualmente.

Por ello, la combinación de dieta rica en grasa con un modelo animal que sobreexpresa APP genera el modelo diabético de EA, el cual se ha considerado apropiado para investigar el nexo entre la DMT2 y la EA observado en humanos (Vandal et al., 2015).

## 2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y DIABETES MELLITUS

Entre los factores de riesgo descritos para el desarrollo de la EAe, son muchos los autores que defienden el papel fundamental que juega la diabetes mellitus (DM) en este proceso, hipótesis que ha sido cada vez más estudiada en los últimos años. Aunque fue el Dr. Hoyer años atrás el primero en postular que la disfuncionalidad de la señalización de la insulina en el cerebro era responsable del desarrollo de la EA, retando las hipótesis basadas en TAU y  $\beta$ A establecidas como primera causa de esta patología (Morgen & Frölich, 2015).

Según la OMS, la DM se describe como una enfermedad crónica que se desarrolla cuando el páncreas no produce suficiente insulina o el organismo no es capaz de utilizarla de manera eficaz. La insulina es la hormona encargada en la regulación de la glucosa en la sangre por lo que su desregulación conlleva a la presencia de elevadas concentraciones de este monosacárido en sangre (<110 mg/dl), circunstancia denominada como hiperglucemia, que se mantienen de manera persistente o crónica, la cual representa una de las principales características de la patología (OMS, 2017). Las formas más comunes de esta patología son:

- DM del tipo 1 (DMT1) (también conocida como insulino dependiente): se caracteriza por la producción deficiente de insulina, generalmente producida por un proceso autoinmune en el cual los islotes de Langerhans de las células  $\beta$  del páncreas son destruidas, células encargadas de la producción de la insulina. Normalmente, suele ser diagnosticada durante la infancia o adolescencia y requiere la administración diaria de la hormona (Daneman, 2006).

- DMT2 (también llamada no insulino dependiente): representa entre un 90-95% de los casos de DM y se define como un grupo heterogéneo de enfermedades metabólicas caracterizado por un estado crónico de hiperglucemia, resistencia a la insulina y, en la mayoría de los casos obesidad, como resultado de la reducción en la secreción de la insulina por parte de las células  $\beta$  pancreáticas y/o la falta de acción de la insulina. Generalmente, se presenta en personas mayores de 40 años (Alberti & Zimmet, 1998).

Ambos tipos de DM muestran evidencias de lentitud mental y motora, además de un patrón similar de declive en funciones tales como memoria de trabajo y atención e incremento de atrofia cortical (Biessels et al., Strachan et al., 1997; Gispen et al., 2000). Además, ha sido descrito que los pacientes con DMT2 presentan déficits en procesos de aprendizaje y memoria y atrofia del hipocampo (2012Gold et al., 2007; McCrimmon et al.). Múltiples estudios epidemiológicos han confirmado que las personas con DMT2 presentan una mayor incidencia de desarrollar la EA, el cual ha sido denominado como “diabetes del tipo 3”, así como las personas con la EA de padecer DMT2 (Hokama et al., 2014; Profenno et al., 2010). Sin embargo, no todos los casos de DMT2 conducen a la EA ni viceversa. Algunos autores consideran la EA como una forma específica de DM en la cual se produce una deficiencia de insulina, así como el desarrollo de un mecanismo de resistencia a su acción en el cerebro (de la Monte, 2009). Por ello, se ha propuesto el término de diabetes tipo 3, previamente mencionado, para intentar dar una visión integradora de los posibles mecanismos patogénicos comunes entre la DMT2 y la EA.

## **2.1 Glucosa y función cognitiva**

El cerebro utiliza aproximadamente el 25% de la glucosa total utilizada en el cuerpo. Dado que este monosacárido es la principal fuente de energía de este órgano, su disponibilidad y transporte a través de la BHE y entre las propias células desempeña un papel clave en su función fisiológica y metabolismo. La absorción de glucosa por parte de las células viene determinada por la concentración extracelular de este monosacárido por lo que el cerebro es muy sensible a la concentración de glucosa en sangre (Zhao et al., 2008).

Asimismo, diversos estudios sugieren que la relación entre la DMT2 y problemas cognitivos podría deberse a la presencia de alteraciones en el metabolismo de la glucosa (Awad et al., 2004). La hiperglicemia presente en personas que desarrollan DM, provoca un incremento de los niveles de glucosa, el cual conduce al daño neuronal a causa del incremento del metabolismo intracelular, fenómeno denominado como la neurotoxicidad de la glucosa (Tomlinson & Gardiner, 2008).

Estudios epidemiológicos han demostrado que la presencia de niveles elevados de glucosa está asociada a un incremento del riesgo de demencia en la población, tanto en personas con DM como en personas que no padecen esta patología (Arterburn et al., 2004; Crane et al., 2013). Sin embargo, el mecanismo por el cual se lleva a cabo esta asociación en personas sanas permanece sin esclarecerse.

Además, el metabolismo de la glucosa evaluado a través de tomografía por positrón de electrones (PET) es comúnmente utilizado para el diagnóstico y seguimiento de la EA (Calsolaro & Edison, 2016).

## **2.2 Vía de la insulina**

### *2.2.1 La insulina en el SNC*

Durante décadas, el cerebro se ha considerado un tejido insensible a la insulina, sin embargo, hallazgos obtenidos en los últimos 30 años han sugerido que esta hormona es esencial para las funciones del SNC (Wickelgren, 1998). El origen de la insulina cerebral es aún tema de controversia. En una primera etapa, el desarrollo de nuevos avances para analizar hormonas permitió demostrar la presencia de insulina en el líquido cefalorraquídeo, sugiriendo que la hormona presente en el SNC procedía de la sangre (Margolis & Altszuler, 1967). Sin embargo, estudios posteriores sugirieron la presencia de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) correspondiente a la proinsulina en estructuras del SNC, lo cual indicaba la posible síntesis por parte de las propias células nerviosas (Havrankova et al., 1979). En cambio, la mayoría de los autores no apoyaron esta hipótesis y años más tarde, diversas investigaciones confirmaron que la síntesis de insulina por parte de las células podría ser o bien nula o bien insignificante (Woods et al., 2003). En conclusión, la teoría más aceptada hoy en día es que la insulina tiene origen periférico, es decir, es sintetizada por las células  $\beta$  del páncreas y secretada al torrente sanguíneo. Atraviesa la BHE por un sistema de transporte saturable mediado por el RI, aunque el mecanismo permanece sin esclarecerse (Banks, 2006). Asimismo, se ha sugerido que la presencia de ARNm no significa que continúe el proceso de transducción (van der Heide et al., 2006)

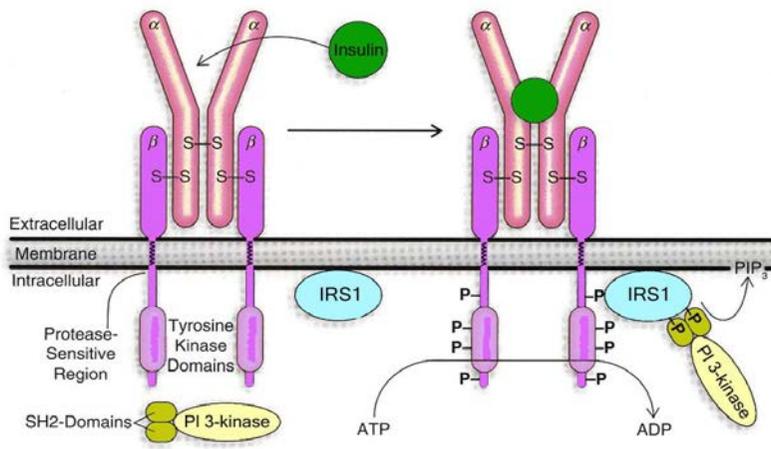
En condiciones fisiológicas, los niveles de insulina cerebral se correlacionan con las concentraciones en la circulación periférica (Woods & Porte, 1977). La BHE es considerada una estructura dinámica, la cual se adapta a los niveles

periféricos de esta hormona. La presencia del RI es uno de los condicionantes que altera la permeabilidad de la BHE (Banks et al., 2012).

### *2.2.2 El receptor de la insulina en el cerebro*

El RI se encuentra abundantemente distribuido en el cerebro de los mamíferos, siendo más abundante en el bulbo olfatorio, la corteza, el hipocampo, el hipotálamo, así como en la amígdala, las células gliales y los astrocitos. Está particularmente concentrado en las terminales sinápticas, estructuras que a su vez se consideran que son los blancos más vulnerables en la EA (Selkoe, 2002).

Se trata de un receptor de membrana transmembrana formado por dos cadenas  $\alpha$  idénticas situadas en la región extracelular, las cuales presentan los dos dominios responsables de la unión de la insulina al receptor y dos subunidades  $\beta$  insertadas en la membrana celular, las cuales presentan actividad tirosina quinasa intrínseca. Las cadenas  $\alpha$  se unen entre sí mediante puentes disulfuro de la misma manera que a las subunidades  $\beta$ , las cuales acaban formando un tetrámero (Lee & Pilch, 1994) (Figura 13).



**Figura 13.** Receptor de la insulina. Fuente: Insulina en las células, diabetes. Recuperado de <http://ladiabetes.webnode.com/genetica-y-metabolismo/insulina-en-celulas-no-hepaticas/>

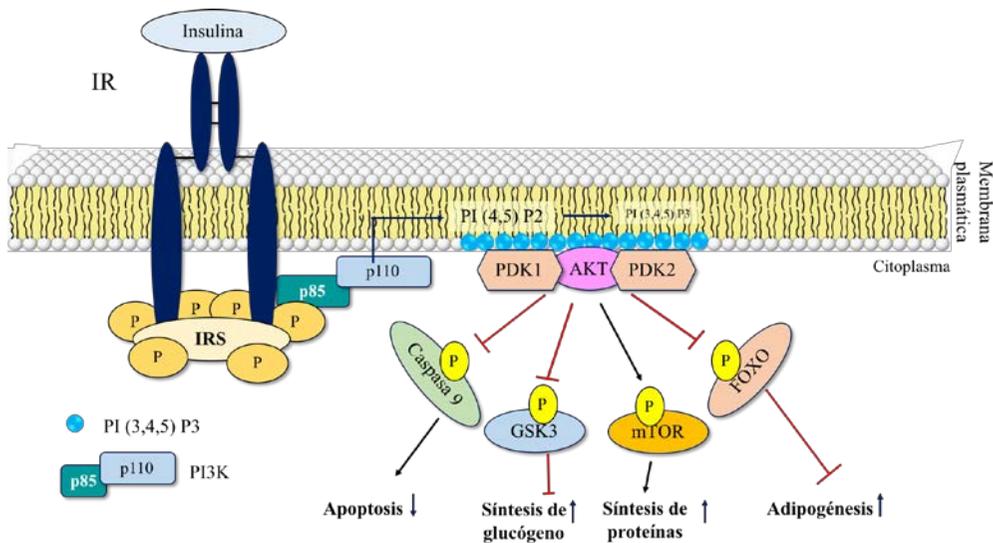
### 2.2.3 Transducción de la señal

La unión de la insulina al extremo N-terminal de las subunidades  $\alpha$  produce un cambio conformacional en el receptor, lo cual hace que las subunidades  $\beta$  tengan una mayor afinidad por el ATP.

Una vez que la insulina interacciona con su receptor y es activado, se induce la fosforilación en residuos de tirosina de las subunidades  $\beta$ , atrayendo proteínas adaptadoras que contienen dominios de unión a fosfotirosinas (PTBs), como el sustrato del receptor de insulina (IRS). Estas proteínas se unen al receptor fosforilado y pueden llevar a cabo la activación de principalmente 2 vías de señalización:

- Vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K): implicada en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos.

- Vía de las cinasas activadas por mitógenos (MAPK): encargada de la regulación de la síntesis de proteínas (De la Monte & Wands, 2005).



**Figura 14.** Vía de señalización de la insulina. Fuente: La insulina y su señalización: mecanismos de transducción de la señal y efectos metabólicos (2012). Recuperado de <https://dereflexion.wordpress.com/2012/12/07/la-insulina-y-su-senalizacion-mecanismos-de-transduccion-de-la-senal-y-efectos-metabolicos/>

### Vía de la señalización de PI3K

Cuando se fosforila el IRS, este también fosforila la subunidad p85 de la PI3K, esto conduce a un cambio conformacional de dicha proteína, la cual se une a la subunidad catalítica (p110). La PI3K activa, fosforila el fosfatidil inositol 3,4 difosfato (PIP2) convirtiéndolo en segundo mensajero fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), responsable de la activación de la proteína cinasa B (PKB) o también conocida como AKT. AKT actúa sobre múltiples dianas, entre ellas sobre la cinasa de la sintetasa de glucógeno 3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), la cual

está implicada en numerosos procesos celulares tales como la regulación del ciclo celular, plasticidad neuronal, metabolismo celular y crecimiento axonal, entre otros, siendo indispensable para la vida (Jope et al., 2007).

Por otro lado, la GSK3 $\beta$  ha sido ampliamente investigada debido a su estrecha relación con la EA. Evidencias sustanciales han demostrado que juega un papel esencial en la hiperfosforilación de TAU, en las alteraciones cognitivas, en el incremento de la producción de  $\beta$ A e incluso en procesos inflamatorios (Hooper et al., 2008). Asimismo, en los últimos años se ha dado mucha importancia a los inhibidores de la GSK3 $\beta$  como posibles dianas terapéuticas para la EA, en concreto a los inhibidores alostéricos, con el propósito de disminuir la actividad de la enzima únicamente en los tejidos donde está sobreexpresada sin afectar a los tejidos donde no lo está (Martínez et al., 2002).

#### *2.2.4 El receptor de la insulina en la cognición y neurodegeneración*

##### **Función de la insulina**

La unión entre la insulina y el receptor regula la absorción de glucosa desde la circulación mediante los transportadores de glucosa, la cual se almacena dentro de la célula, regulando la homeostasis del metabolismo energético además de incrementar la replicación y supervivencia celular y disminuir la apoptosis y el arresto celular (van der Heide et al., 2006).

### **Insulina y memoria**

Tal y como se ha mencionado previamente, el RI está ampliamente distribuido en diferentes áreas del cerebro, entre ellas en el hipocampo. Diversas publicaciones han demostrado que el aprendizaje en roedores requiere de la expresión y fosforilación del RI en la región CA1 del hipocampo (Zhao et al., 1999; Dou et al., 2005). Además, su considerable presencia en las sinapsis de los árboles dendríticos ha sido relacionada con la regulación de la liberación de neurotransmisores y el reclutamiento de receptores (Wei et al., 2007). Asimismo, también se ha descrito su intervención tanto en procesos de potenciación a largo plazo (en inglés long-term potentiation; LTP) como de depresión a largo plazo (en inglés long-term depression; LTD), ambos relacionados con procesos de memoria y aprendizaje, los cuales se asocian a la vía de señalización PI3K a través de la formación de complejos con NMDAR.

Por otro lado, la presencia de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina también han sido relacionados con apoptosis neuronal, favoreciendo la formación de PS. En condiciones fisiológicas, el exceso de PS puede ser eliminado o bien a través de la proteína relacionada con el receptor de lipoproteína-1 (LRP-1), la cual se ve disminuida cuando hay resistencia a la insulina, o bien mediante EDI, como se ha comentado anteriormente.

En concordancia, se ha demostrado que la insulina administrada por vía intranasal mejora la memoria en adultos sanos (Benedict et al., 2004), así como en pacientes con la EA sin alterar los niveles de glucosa o insulina en sangre (Reger et al., 2006). Además, hay estudios que confirman que su administración mejora los déficits cognitivos y la señalización de la insulina, reduce la producción de  $\beta$ A y de PS e incrementa la neurogénesis en ratones APP/PS1 jóvenes (Mao et al., 2016)

## **2.3 Efectos del Péptido Beta a nivel sistémico**

Diferentes estudios muestran que un desequilibrio entre la producción y el aclaramiento del  $\beta$ A es un factor de inicio en la EA (Mawuenyega et al., 2010; Selkoe & Hardy, 2016), sugiriendo así que un metabolismo normal del  $\beta$ A junto con el mantenimiento del equilibrio homeostático entre estos dos procesos, es esencial para conservar un cerebro sano. De hecho, ha sido demostrado que el metabolismo fisiológico del  $\beta$ A ocurre tanto en el cerebro como en la periferia, además de indicar que la comunicación entre las diferentes regiones es posible (Wang et al., 2017).

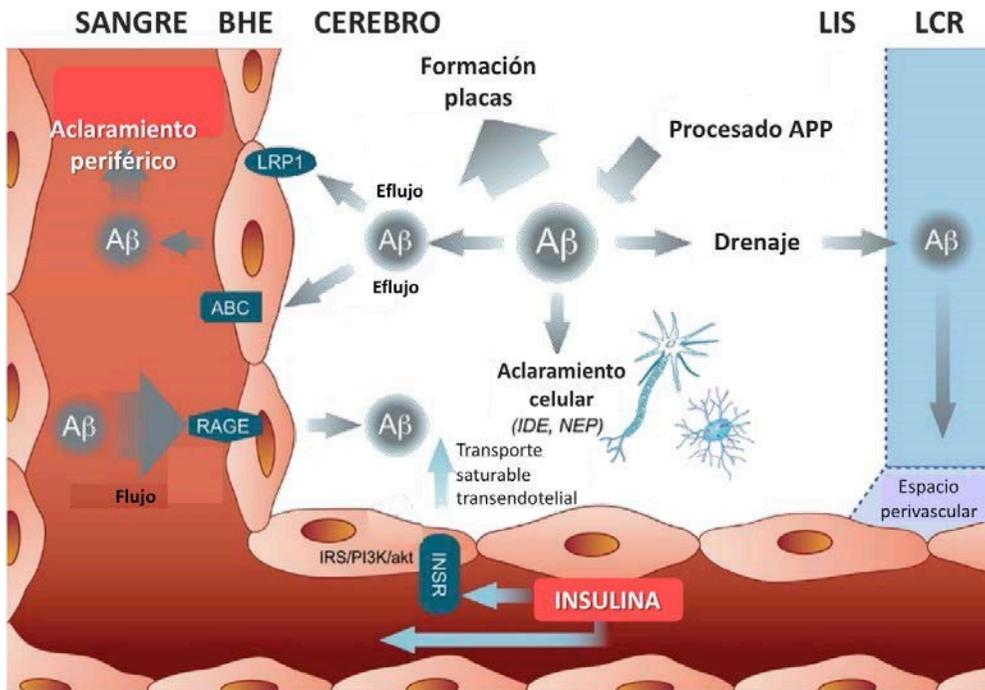
Como se ha comentado anteriormente, la proteína APP se expresa tanto en el cerebro como en tejidos y órganos periféricos, sin embargo, han sido descritas importantes diferencias entre el  $\beta$ A encontrado en ambos dominios siendo el  $\beta$ A<sub>42</sub>, péptido considerado como el más neurotóxico, el dominante en el cerebro mientras que el  $\beta$ A<sub>40</sub> ha demostrado serlo en la periferia (Wang et al., 2017). Aunque el mecanismo desencadenante se mantiene sin esclarecer, se han planteado diversas posibles explicaciones tales como la expresión diferencial de las diferentes isoformas de APP presente en función del tejido (Li et al., 1999) o que el microambiente tisular contribuye al procesamiento de APP diferencial entre el SNC y el periférico (Yankner & Mesulam, 1991; Roher et al., 2009).

De acuerdo con diversos estudios, la BHE juega un papel esencial en la regulación de  $\beta$ A en el cerebro, indicando que este péptido es continuamente secretado al torrente sanguíneo (Bateman et al., 2006; Vandal et al., 2015), estimando que el 25% total de la eliminación  $\beta$ A se produce mediante el

transporte directo a través de la BHE (Roberts et al., 2014). Anormalidades morfológicas tanto en capilares cerebrales como en la BHE han sido observadas en pacientes con la EA, características que se han relacionado con la disminución de la captación y metabolismo de glucosa en el cerebro (Sagare et al., 2012; Erickson & Banks, 2013). Con relación a estos datos, investigaciones recientes asocian la APOE4 a una serie de defectos en la BHE, incluyendo defectos en el aclaramiento del  $\beta$ A (Salem et al., 2015), reducción de la captación de glucosa y la disminución de la microvascularización, entre otros (Vandal et al., 2014a; Alata., 2015).

Por otro lado, se ha observado una reducción de la perfusión cerebral en pacientes tanto con resistencia a la insulina o DM (Rusinek et al., 2015). Estudios llevados a cabo por Vandal y colaboradores han demostrado que la administración de la insulina en ratones triple transgénicos alimentados con dieta rica en grasa presenta un incremento de  $\beta$ A<sub>42</sub> en plasma sugiriendo un aumento del aclaramiento en el cerebro (Vandal et al., 2014b), el cual podría llevarse a cabo a través de transportadores de  $\beta$ A en la BHE.

Asimismo, ha sido demostrado que el 40% del  $\beta$ A producido en el cerebro es eliminado a través del sistema periférico, indicando que juega un papel crucial en su eliminación (Xiang et al., 2015).



**Figura 15.** Múltiples vías por las cuales la insulina podría activar los procesos de aclaramiento del  $\beta$ A en la EA. Vandal et al., 2015 (Adaptado)

Sin embargo, se desconoce todavía si el  $\beta$ A generado en la periferia es capaz de entrar en el cerebro y ejercer un efecto neurotóxico, aunque diversos estudios han demostrado que la inoculación periférica de extractos cerebrales con  $\beta$ A inducen la deposición de este péptido en el cerebro tanto en ratón como de humano, sugiriendo que es capaz de entrar al cerebro y participar en la patogénesis de la EA (Eisele et al., 2010; Ritchie et al., 2017).

### **3. ESTRATEGIAS TERAPEUTICAS PARA EL DESARROLLO DE FÁRMACOS**

Dado el incremento de los casos de EA diagnosticados en los últimos años y teniendo en cuenta la previsión de incidencia en la población mundial en las próximas décadas, la necesidad de buscar nuevas terapias para la prevención y/o cura de la EA se ha convertido en una de las prioridades principales de la medicina actual.

En los últimos años, se han llevado a cabo múltiples estrategias para encontrar fármacos eficaces para cambiar el curso de la EA, con el objetivo principal de mejorar los síntomas relacionados tanto con el comportamiento como con el declive cognitivo. Entre la cantidad de fármacos investigados para ello, la industria farmacéutica se ha centrado principalmente en el estudio de moléculas basadas en la “hipótesis de la cascada  $\beta$ -amiloide” y en los ONF asociados, previniendo la formación de PS, bloqueando su agregación así como disminuyendo los niveles en el cerebro y destruyendo las placas ya formadas (Masters & Beyreuther, 2006). Desafortunadamente, el fracaso de la mayoría de los estudios ha provocado la necesidad de plantearse nuevas hipótesis sobre la etiología de esta enfermedad así como nuevas estrategias para poder prevenirla y/o curarla.

Actualmente, los medicamentos que se utilizan para la EA ofrecen estrategias para ralentizar la progresión de la sintomatología en las primeras etapas de la enfermedad, sin embargo, estos pierden eficacia en las fases más avanzadas. La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (US FDA) ha aprobado 2 tipos de fármacos para tratar de forma específica estos

síntomas: inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) y y la memantina (1-amino-3,5-dimetiladamantana; MEM) como antagonista de los NMDAR.

### **3.1 Inhibidores de la acetilcolinesterasa**

El Donepezilo, la Rivastigmina y la Galantamina son los 3 inhibidores de AChE utilizados actualmente para tratar la EA de intensidad leve a moderada. Se encargan de retrasar la degradación de la acetilcolina liberada en las hendiduras sinápticas, mejorando así la neurotransmisión colinérgica (Tabet, 2006). Todas ellas se basan en la hipótesis colinérgica previamente explicada.

El Donepezilo es el fármaco más antiguo y ampliamente utilizado en clínica para tratar la EA, el cual fue aprobado por la US FDA en el año 1998. Sin embargo, no fue el primero ya que en 1993 se comenzó a utilizar la tacrina, que fue descartada años más tarde debido a que presentaba varios inconvenientes asociados a su uso, como la frecuencia de administración, la metabolización exclusivamente hepática, la cual conllevaba a hepatotoxicidad, interacciones medicamentosas, además de frecuentes efectos adversos gastrointestinales (Inglis, 2002). El Donepezilo es un inhibidor relativamente selectivo, reversible y no competitivo de la AChE. En 2001 se publicaron 2 estudios de doble ciego, realizados durante 1 año, los cuales demostraron una mejoría significativa en la cognición y en actividades de la vida diaria (Mohs et al., 2001; Winblad et al., 2001).

La Rivastigmina, como ya se ha comentado anteriormente, es un inhibidor pseudoreversible de la AChE así como de la butirilcolinesterasa, enzima también responsable de la degradación de la acetilcolina. Este fármaco fue aprobado en el año 2000 en 60 países, entre ellos Estados Unidos y todos los

países de la Unión Europea. Se administra en pacientes con EA que se encuentran en las fases de leve a moderada (Birks et al., 2009). Respecto a su eficacia, un estudio llevado a cabo por Bullock y colaboradores demuestra los beneficios de ambos fármacos, tanto del Donepezilo como de la Rivastigmina, administrados de manera continuada durante 2 años en pacientes con la EA en fase moderada. Los resultados indicaron que ambos fármacos inducían mejoras similares en parámetros tanto de comportamiento como de cognición, por el contrario, los autores sugirieron que la Rivastigmina podría proporcionar una mejoría en las actividades diarias y funciones globales en comparación con el Donepezilo (Bullock et al., 2005).

La Galantamina además de ser un inhibidor específico, competitivo y reversible de la AchE, también es un modulador alostérico de los receptores nicotínicos, la cual potencia la neurotransmisión colinérgica (Olin & Schneider, 2002). Este fármaco fue aprobado por la US FDA en el año 2001 y es administrado en fases moderadas de la EA. Curiosamente, un estudio reciente llevado a cabo por Ali y colaboradores ha demostrado una reducción significativa de parámetros asociados a la diabetes en el modelo de rata de DMT2 generado por la administración de estreptozotocina cuando los animales eran tratados con Galantamina (Ali et al., 2015), datos que sugirieron un posible efecto de este fármaco como agente antidiabético, reforzando así la hipótesis de la “diabetes tipo 3”.

### **3.2 Antagonista de los NMDAR (hipótesis glutamatérgica)**

#### **MEMANTINA**

Las alteraciones en la neurotransmisión glutamatérgica han sido ampliamente relacionadas con las enfermedades neurodegenerativas (Lipton et al., 1994), especialmente con la EA, dando soporte así a la hipótesis glutamatérgica

previamente explicada en el apartado de “Patogénesis”. En consecuencia, los inhibidores del NMDAR tienen un extenso uso en el campo terapéutico. La MEM es un antagonista no competitivo del NMDAR extrasinápticos (Folch et al., 2018), de afinidad moderada y voltaje-dependiente utilizado para tratar la EA de fase moderada a severa (Reisberg et al., 2003), el cual fue aprobado por la agencia europea del medicamento (AEM) en el 2002, seguido de la US FDA que lo aprobó un año más tarde (van Marum, 2009). Curiosamente, la MEM fue sintetizada años antes, más concretamente, en la década de los 60, por la compañía Eli Lilly como agente hipoglicemiante para el tratamiento de la DMT1 (Gerzon et al., 1963). Su aplicación no funcionó y años más tarde se encontraron nuevas aplicaciones como son las enfermedades neurodegenerativas. Como otros inhibidores de los receptores ionotrópicos de NMDA, a altas dosis inhibe los mecanismos de plasticidad sináptica relacionados con procesos de memoria y aprendizaje, sin embargo, a dosis clínicas relevantes, se ha descrito que este fármaco es capaz de promover la plasticidad sináptica mejorando la memoria en modelos animales de la EA (Rogawski & Wenk, 2003).

La MEM bloquea el canal de la misma manera que el  $Mg^{2+}$  y como resultado, los agonistas del receptor (tanto la glicina como el glutamato) se desprenden de él. En consecuencia, el canal se cierra dejando la MEM atrapado a su interior. A diferencia del  $Mg^{2+}$ , la MEM es menos dependiente de voltaje por lo que es capaz de bloquear el canal de NMDAR, aunque se produzca una sobreestimulación debido al exceso de glutamato, condición que se produce en la EA (van Marum, 2009)

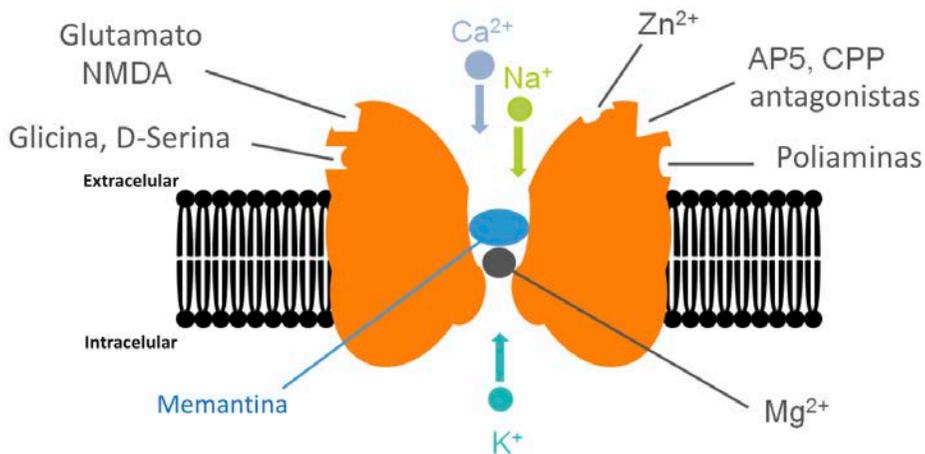


Figura 16. Receptor del NMDA al cual se une la MEM.

### 3.3. Antiinflamatorios como terapias alternativas

En los últimos años, numerosos estudios tanto en modelos animales como epidemiológicos han demostrado que el consumo crónico de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) como el ibuprofeno reduce drásticamente el riesgo de desarrollar la EA, el inicio de la enfermedad, además de mejorar la severidad de los síntomas y ralentizar el declive cognitivo (McGeer et al., 1996; Stewart et al., 1997; in t' Veld et al., 2001; Van Dam et al., 2008). Además, el tratamiento con AINES ha sido positivamente correlacionado con la reducción del número de PS y la activación microglial en humanos (Mackenzie & Munoz, 1998; Alafuzoff et al., 2000). Sin embargo, el consumo prolongado de ibuprofeno puede generar problemas a nivel gastrointestinal a través de la inhibición de la COX-1, siendo así, una de sus principales limitaciones. Por todo ello, y con el fin de evitar parte de los efectos adversos producidos por el ibuprofeno, algunos estudios se han centrado en el uso de uno de su enantiómero-S, el dexibuprofeno (DXI), el cual es farmacológicamente activo y cuya potencia como antiinflamatorio es claramente superior a la del

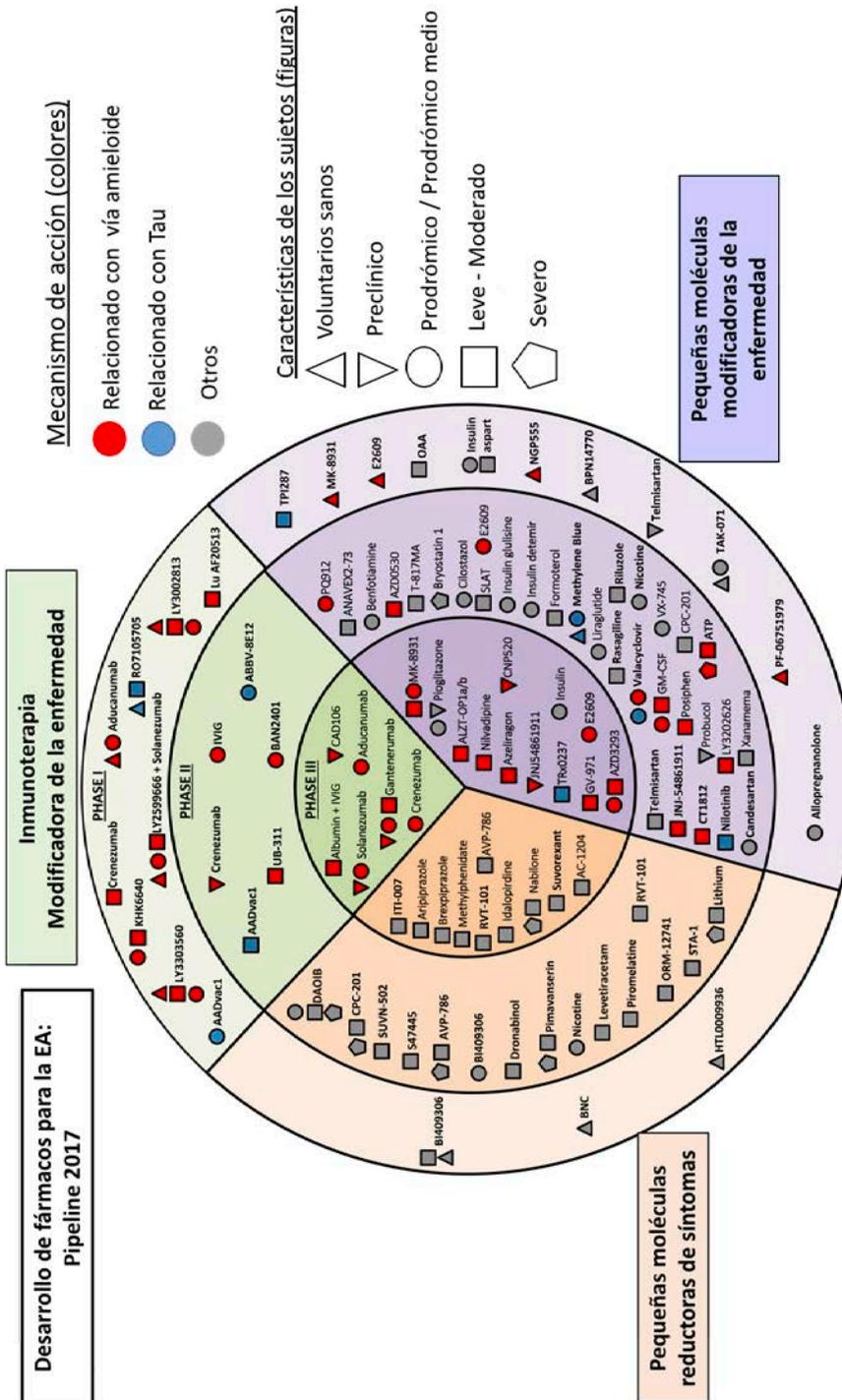
ibuprofeno (Kaehler et al., 2003). Asimismo, un estudio llevado a cabo con roedores ha demostrado que el DXI produce una disminución de las lesiones a nivel gástrico junto con un mayor efecto analgésico comparado con el ibuprofeno (Bonabello et al., 2003).

Sin embargo, pese a los resultados beneficiosos mostrados en modelos animales como en estudios epidemiológicos, no se ha conseguido obtener los mismos resultados en pacientes diagnosticados con la EA hasta el momento probablemente debido a que cuando se manifiestan los primeros síntomas clínicos de la enfermedad, el circuito hipocampal humano ya ha sufrido una extensa pérdida neuronal.

### **3.4 La situación actual**

Durante la última década, han sido evaluados alrededor de 100 compuestos diferentes con el fin de modificar el transcurso de la enfermedad. Desafortunadamente, como se ha comentado previamente, todos ellos han fallado en alguna de las fases de los ensayos clínicos.

Actualmente, se han diseñado diversas estrategias con el objetivo de actuar en diferentes puntos del metabolismo de la proteína APP, entre ellas la modulación de las enzimas responsables de su procesamiento anormal tales como inhibidores de la  $\beta$ -secretasa, inhibidores y moduladores de la  $\gamma$ -secretasa y activadores de la  $\alpha$ -secretasa, así como compuestos antiagregantes del amiloide y compuestos que eliminan los agregados y depósitos, entre otros. En consecuencia y debido al gran esfuerzo que se está llevando a cabo con el fin de encontrar terapias efectivas, numerosos fármacos se encuentran en investigación, tanto en fases preclínicas como en ensayos clínicos.



**Figura 17.** Esquema de fármacos en desarrollo para el tratamiento de la EA. Fuente: Cummings et al., 2017 (Adaptado)

