



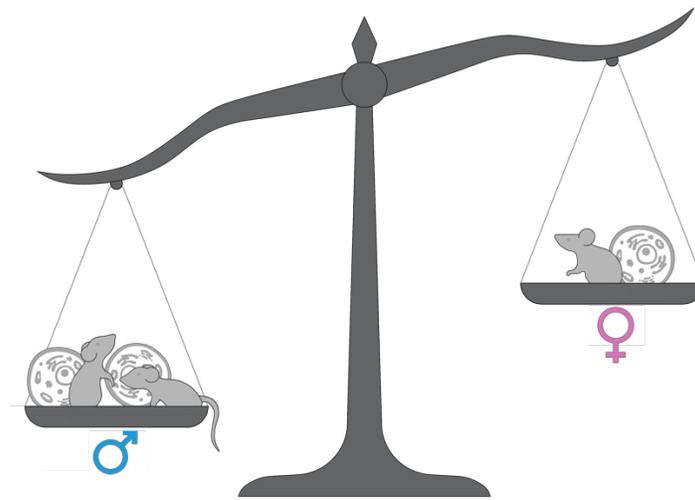
UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Facultat de Farmàcia
i Ciències de l'Alimentació



Trabajo Final de Grado. Grado de Farmacia

EQUIDAD SEGÚN SEXO Y GÉNERO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER



EULALIA BLÁZQUEZ CORRAL

Ámbito principal: Fisiología y Fisiopatología

Ámbitos secundarios: Bioquímica y Biología Molecular y Farmacología y Terapéutica

Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona

Barcelona, junio del 2022

3 SALUD
Y BIENESTAR



5 IGUALDAD
DE GÉNERO



ÍNDICE

Índice de figuras

Índice de tablas

Lista de abreviaturas más repetidas

I.	Resumen / Abstract	1
II.	Integración de los tres ámbitos docentes	2
III.	Identificación y reflexión sobre los objetivos para el desarrollo sostenible (ODS) ..	2
IV.	Introducción	3
V.	Objetivos	4
VI.	Metodología	5
VII.	Resultados	6
	1. Presencia de sesgo de sexo y género en las investigaciones científicas	6
	2. Presencia de sesgo de sexo y género en los estudios preclínicos: in vivo	7
	3. Diferencias relacionadas con el sexo y género en la respuesta para algunos medicamentos	8
	4. ¿Por qué existe una tendencia reacia a utilizar individuos, células y tejidos de sexo femenino?	9
	5. Iniciativas de cambio: Guías SAGER y otras	9
	6. Enfermedades neurodegenerativas	13
	A. Diferencias de sexo en enfermedades neurodegenerativas	13
	i. Alzheimer	14
	ii. Parkinson	15
	iii. Esclerosis Múltiple	15
	B. Enfermedad de Alzheimer	16
	i. Síntomas clínicos	16
	ii. Diagnóstico neuropatológico	16
	iii. Genética del Alzheimer	18
	C. Modelos animales más utilizados en preclínica para el estudio de la enfermedad de Alzheimer	20
	i. Modelos de ratones transgénicos	20
	ii. Modelos de ratas transgénicas	22
	iii. Modelos fisiológicos	22
	D. Análisis de estudios y resultados de la enfermedad de Alzheimer.....	24
VIII.	Discusión	28
IX.	Conclusiones	29
X.	Bibliografía	29

Anexo 1

ÍNDICE DE FIGURAS

I.	Figura 1: Distribución de estudios por sexo y disciplina en 2009. Porcentaje de artículos que describen investigaciones con animales no humanos que utilizaron sujetos masculinos, femeninos, tanto masculinos como femeninos, o que no especificaron el sexo de los sujetos4
II.	Figura 2: Esquema que muestra cómo los artículos se incluyeron en la revisión en función de la búsqueda en <i>PubMed</i>5
III.	Figura 3: Diagrama SAGER que guía la selección inicial de los editores de los manuscritos enviados13
IV.	Figura 4: Diferencias en la sintomatología y factores de riesgo de la EP entre mujeres y hombres. GLA, galactosidasa alfa15
V.	Figura 5: Principales diferencias en el curso de la esclerosis múltiple entre mujeres y hombres16
VI.	Figura 6: La estructura fisiológica del cerebro y las neuronas en (a) cerebro sano y (b) cerebro con enfermedad de Alzheimer (EA)17
VII.	Figura 7: Procesamiento amiloidogénico de la proteína precursora de amiloide (APP) y generación de péptidos β -amiloides17
VIII.	Figura 8: Esquema de los principales modelos animales de la enfermedad de Alzheimer23
IX.	Figura 9: Porcentaje de estudios que utilizan ratones, ratas o perros como modelo de estudio26
X.	Figura 10: Porcentaje de estudios que utilizan animales machos, hembras, de ambos sexos o animales cuyo sexo no se indica27
XI.	Figura 11: Los 10 modelos animales más utilizados en los estudios revisados27

ÍNDICE DE TABLAS

I.	Tabla 1: Genes de la enfermedad de Alzheimer (EA)18
II.	Tabla 2: Modelos transgénicos de ratones más comunes de EA21
III.	Tabla 3: Modelos transgénicos de ratas más comunes de EA22
IV.	Tabla 4: Sexo y animales en diferentes modelos de Alzheimer encontrados en la búsqueda24

LISTA DE ABREVIATURAS MÁS REPETIDAS

AB	β -amiloide	EOFAD	<i>Familial Early-onset AD</i>
APOE	Apolipoproteína E	EP	Enfermedad de Parkinson
APP	Proteína Precursora de Amiloide	FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>	LOAD	<i>Late-onset AD</i>
CIHR	<i>Canadian Institutes of Health Research</i>	NIH	<i>US National Institutes of Health</i>
EA	Enfermedad de Alzheimer	PSEN	Presenilina
EM	Esclerosis Múltiple	SABV	<i>Sex as a Biological Variable</i>
EOAD	<i>Early-onset AD</i>	SAGER	<i>Sex and Gender Equity in Research</i>

I. RESUMEN / ABSTRACT

A lo largo de los años, con la sobrerrepresentación de los hombres en las investigaciones científicas, se han obtenido resultados y conocimientos sesgados perjudicando a las mujeres. Sin una representación de ambos sexos, no se puede asegurar que aquello que se ha descubierto en un sexo sea aplicable para el otro. En estos últimos años, ha ganado importancia el estudio de las diferencias sexuales y se han redactado una serie de recomendaciones (como las guías SAGER) para garantizar la equidad de sexo y género en las investigaciones biomédicas.

Respecto a las enfermedades neurodegenerativas, se conoce que existen destacadas diferencias en la incidencia, la gravedad, la progresión y el pronóstico de varios de estos trastornos. Es por ello por lo que es primordial analizar las diferencias sexuales para mejorar el conocimiento de la enfermedad y así obtener terapias farmacológicas más efectivas.

Para evaluar esta problemática en la situación actual, se procede a una revisión de 41 artículos procedentes de *PubMed* de los últimos 5 años sobre estudios preclínicos utilizando ratones, ratas y perros para el estudio de la enfermedad de Alzheimer. Los resultados indican una mayoría de estudios realizados en animales machos, seguido de ambos sexos y, por último y en igual número, los realizados en hembras y los que no concretaron el sexo. De esta manera, se confirma que sigue existiendo un sesgo de sexo en la investigación de la enfermedad de Alzheimer y esto podría aplicarse a otras patologías.

Palabras clave: sesgo; sexo; diferencias sexuales; enfermedades neurodegenerativas; Alzheimer; modelo animal.

Over the years, with the overrepresentation of men in scientific research, biased results and knowledge have been obtained to the detriment of women. Without a representation of both sexes, it cannot be ensured that what has been discovered in one sex is applicable to the other. Recently, the study of sexual differences has gained importance and a series of recommendations have been written (such as the SAGER guidelines) to guarantee sex and gender equity in biomedical research.

Referring to neurodegenerative diseases, it is known that there are significant differences in the incidence, severity, progression, and outcome of several of these disorders. That is why it is essential to analyze sexual differences to improve knowledge of the disease and thus obtain more effective pharmacological therapies.

To assess this problem in the actual situation, a review of 41 articles from *PubMed* from the last 5 years on preclinical studies using mice, rats, and dogs for the study of Alzheimer's disease is carried out. The results show most studies were carried out on male animals, followed by both sexes and, lastly and in equal number, those carried out on females and those that did not specify the sex. In such a way, it is confirmed that there is still a sex bias in Alzheimer's disease research, and this could be applied to other pathologies.

Keywords: bias; sex; sexual differences; neurodegenerative diseases; Alzheimer; animal model.

II. INTEGRACIÓN DE LOS TRES ÁMBITOS DOCENTES

Este trabajo de final de grado (TFG) sobre la equidad según sexo y género en la investigación de la enfermedad de Alzheimer abarca tres ámbitos docentes principales. El ámbito principal es el de la **Fisiología y Fisiopatología**, pero también incluye otros ámbitos como el de la **Bioquímica y Biología Molecular** y el de la **Farmacología y Terapéutica**. Estos tres ámbitos forman parte de un conjunto de ámbitos que integran la Licenciatura en Farmacia.

La revisión está estrechamente relacionada con el ámbito de la **Fisiología y Fisiopatología** debido a que este TFG trata sobre las enfermedades neurodegenerativas. En él, se explican las diferencias de sexo en algunas de las patologías y, más en profundidad, se explica la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer (EA), de sus síntomas clínicos y de alteraciones en la genética. El ámbito de la **Bioquímica y Biología Molecular** también está presente en el trabajo, especialmente cuando se habla de los modelos animales transgénicos más utilizados en la investigación del Alzheimer. Estos animales modificados genéticamente presentan las mutaciones que se encuentran en pacientes de EA familiar para, de esta manera, poder observar y estudiar las placas amiloides y ovillos neurofibrilares, típicas acumulaciones patológicas características de la enfermedad. Gracias a estos animales transgénicos se puede estudiar más profundamente la enfermedad y nuevos agentes terapéuticos. Esto último se relaciona con el ámbito de la **Farmacología y Terapéutica** que es la rama de la farmacología que estudia la aplicación de los fármacos en la curación y/o prevención de las enfermedades. También cabe comentar que, en la revisión a los diferentes artículos de EA, muchos de los estudios trataban de analizar la efectividad de nuevos tratamientos (o ya existentes) y de nuevos enfoques para tratar la enfermedad.

III. IDENTIFICACIÓN Y REFLEXIÓN SOBRE LOS OBJETIVOS PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE (ODS)

En este trabajo se hace una revisión para evaluar la equidad según sexo y género en la investigación de la enfermedad de Alzheimer. Este trabajo impacta en los seres humanos y más concretamente en las mujeres, ya que suelen ser las más perjudicadas en ámbito, y por lo tanto se considera que los ODS tratados en este TFG se engloban dentro del ámbito de Personas.

El primer ODS que se puede identificar es el objetivo 3 ‘Garantizar una vida sana y promover el bienestar de todos a todas las edades’, concretamente en la meta 3.4 ‘De aquí a 2030, reducir en un tercio la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles mediante su **prevención y tratamiento**, y promover la salud mental y el bienestar’. La falta de representación femenina en estudios clínicos y de hembras en estudios preclínicos provoca un sesgo que no garantiza que se obtengan resultados fiables y de calidad. Es por eso por lo que si los estudios se hicieran con equidad se podrían obtener nuevos descubrimientos en base a la prevención o tratamiento en los dos sexos. Otra meta es la 3.8 ‘Lograr la cobertura sanitaria universal, incluida la protección contra los riesgos financieros, el acceso a servicios de salud esenciales de calidad y el acceso a **medicamentos y vacunas inocuos, eficaces, asequibles y de calidad para todos**’. Si nos aseguramos de que los estudios que se han realizado incluyen ambos sexos y se hace un análisis de los resultados según el sexo, tendremos medicamentos eficaces y de calidad para ambos sexos.

El segundo y último ODS que se puede identificar es el objetivo 5 ‘Lograr la igualdad de género y empoderar a todas las mujeres y las niñas’, concretamente en la meta 5.1 ‘Poner fin a todas las formas de **discriminación** contra todas las mujeres y las niñas en todo el mundo’. Tanto en los estudios preclínicos como clínicos predomina el sexo masculino como sujeto de investigación y de esta manera se discrimina al sexo opuesto.

IV. INTRODUCCIÓN

En toda investigación biomédica el objetivo principal es obtener conocimiento y proponer soluciones a problemas de salud de las personas y de la población. El problema se encuentra cuando en el diseño de estas investigaciones se padece un sesgo de sexo y género. En este caso, ¿cómo se puede asegurar que la evidencia obtenida en aquella investigación es igual de relevante o válida para ambos sexos? (1).

La sobrerrepresentación de los hombres como sujetos de investigación ha provocado que científicos y médicos hayan informado nuestra comprensión de la salud y de la enfermedad respecto a este sexo, a menudo perjudicando a las mujeres, las personas transgénero y las personas no binarias o no conformes con el género (2).

En contra, en el caso de algunas enfermedades como la Esclerosis Múltiple o la Osteoporosis, el sesgo es al contrario debido al uso de modelos animales utilizando principalmente sujetos hembras, de los cuales se obtendrán resultados sesgados para los hombres (1).

Esto puede explicar por qué, incluso después de que los estudios en animales sugieran que un tratamiento será seguro y efectivo, más del 80% de las terapias potenciales fallan cuando se prueban en personas (3). Por lo tanto, existe una clara necesidad de que la investigación con animales sea más fiable y reproducible (4).

Debemos tener presente que el sexo es una variable biológica crítica que afecta a los resultados experimentales, así como la fisiología y la patología, y que, por lo tanto, debería de estar controlada. No encontrar diferencias entre sexos es tan significativo como encontrar la presencia de una diferencia sexual. Por lo tanto, es importante conocer no solo cuando hay diferencias sino también cuando no las hay.

Para mejorar el valor y la reproducibilidad de los experimentos con animales, se requieren ensayos con un número equilibrado de ambos sexos donde también se informe de la edad, el origen, el tipo de estabulación y el estado de salud de los animales (5).

A lo largo de los años las investigaciones en neurociencia también han ignorado a las mujeres. No obstante, la neurociencia no es la única disciplina biomédica que exhibe sesgo sexual (6). En un estudio publicado en 2011 se obtuvieron unos resultados (Figura 1) que señalaban a la neurociencia, la farmacología, la fisiología y la endocrinología como las disciplinas con mayores sesgos sexuales en el uso de animales de investigación a fecha del año 2009 (7):

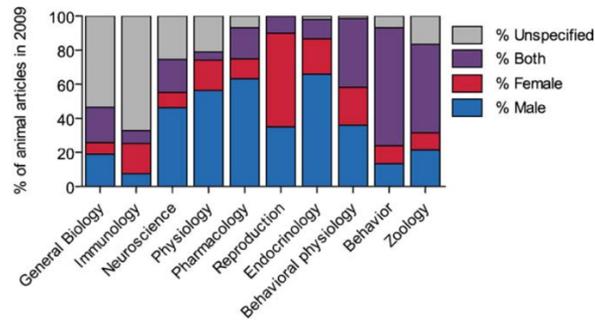


Figura 1: Distribución de estudios por sexo y disciplina en 2009. Porcentaje de artículos que describen investigaciones con animales no humanos que utilizaron sujetos masculinos, femeninos, tanto masculinos como femeninos, o que no especificaron el sexo de los sujetos (7).

Esto sucede aun conociendo la existencia de un claro sesgo sexual en la incidencia, prevalencia y el pronóstico de muchos trastornos neurodegenerativos. La alta incidencia de estas enfermedades en una población cada vez más envejecida ha despertado el interés por comprender la relevancia del sexo en la progresión de estas enfermedades y su tratamiento (8).

Por último, es importante definir los términos sexo y género, ya que tienen diferentes significados y ambos afectan a los resultados de las investigaciones. Los autores deben conocer y diferenciar estos términos para evitar confusiones en sus trabajos (9):

- El sexo es la clasificación de los seres vivos en hombre o macho y mujer o hembra, según sus órganos reproductivos y las funciones que les asignan sus cromosomas (9).
- El género es cómo se percibe una persona, si como hombre o como mujer (9). Se refiere a roles, normas, identidades y relaciones de poder construidos socioculturalmente (10). El género también se expresa en términos de masculinidad y feminidad (11).

El sexo se puede usar tanto para humanos, animales u organismos o materiales derivados de ellos, como células y tejidos, mientras que el género, en general, se usa solo para humanos (5).

V. OBJETIVOS

1. Entender que el sexo y el género son una variable biológica que debe ser considerada en los estudios preclínicos y clínicos.
2. Ser consciente de la importancia de estudiar las diferencias sexuales de una enfermedad para conocer mejor la fisiopatología y poder optimizar el tratamiento farmacológico.
3. Motivar el uso de individuos, células y tejidos de sexo femenino debido a que son cohortes igual de válidas que las del sexo contrario.
4. Presentar iniciativas de cambio que fomentan la integración de sexo y género: guías SAGER y ARRIVE y también organizaciones como el NIH o el CIHR.
5. Conocer que en las enfermedades neurodegenerativas hay un importante sesgo de sexo en la incidencia, la gravedad, la progresión y el pronóstico de varios de estos trastornos.
6. Conocer la base fisiopatológica y genética de la enfermedad de Alzheimer y los modelos animales más utilizados para su estudio.
7. Realizar una revisión de artículos donde se investiga la enfermedad de Alzheimer en la fase preclínica y analizar qué sexo se emplea, la especie y el modelo animal utilizado y, por último, comentar los resultados obtenidos.

VI. METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos planteados anteriormente, se llevó a cabo una revisión de artículos en diferentes plataformas.

En la primera parte del trabajo, se partió de *reviews* facilitadas por la tutora para tener una perspectiva general del tema de la revisión. Además, a partir de estas *reviews* se obtuvieron más artículos, otras *reviews* y *comments* interesantes para incluir el trabajo. También se realizó una búsqueda en la base de datos *PubMed* y como requisito solo se utilizaron artículos que fueran de acceso libre (*free full text*). El grupo editorial más frecuente fue *Elsevier* y algunas de las revistas más utilizadas fueron *Nature*, *PLoS Medicine* o *Biology* y *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Por último, también se obtuvo información de la página web del *US General Accounting Office* (GAO).

En la segunda parte de trabajo, se realizó una búsqueda de artículos en la base de datos *PubMed* para conocer el estado actual de sesgo de sexo y género en la investigación de la enfermedad de Alzheimer. Los términos que se utilizaron para iniciar la búsqueda fueron: '(Alzheimer disease[Title]) AND (animal model)'. A raíz de esta búsqueda, se aplicaron los criterios de inclusión (artículos publicados en un máximo 5 años, que fueran en inglés y que se realizaran con animales) y exclusión (ensayos clínicos, *reviews* o metaanálisis y que no fueran *free full text*). De un total de 526 artículos relacionados con la enfermedad de Alzheimer, solo 41 fueron revisados en base a los criterios de inclusión/exclusión (Figura 2).

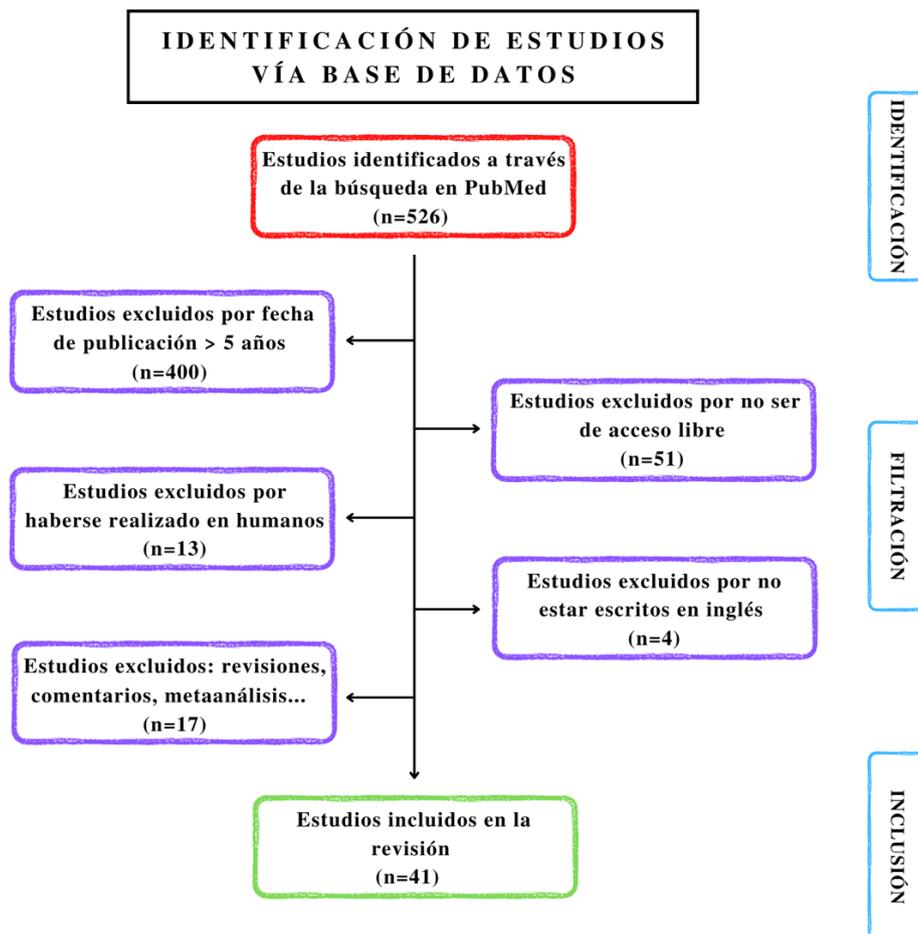


Figura 2: Esquema que muestra cómo los artículos se incluyeron en la revisión en función de la búsqueda en *PubMed*.

VII. RESULTADOS

VII-1. PRESENCIA DE SESGO DE SEXO Y GÉNERO EN LAS INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

El sesgo sexual, que todavía está presente en la mayoría de las disciplinas de investigación, prefiere sujetos masculinos a pesar de los cambios legislativos de los últimos años (1).

Aunque hay algunas áreas específicas en las que es completamente apropiado que solo se deba investigar un sexo, como el comportamiento relacionado según el sexo o las interacciones farmacológicas con las hormonas gonadales específicas al sexo, es difícil justificar la exclusión de las mujeres o, de hecho, de los hombres de muchos otros tipos de investigación (1).

Los científicos a menudo han utilizado un solo sexo (generalmente el masculino) para los experimentos y han aplicado los hallazgos a ambos sexos, sin fundamentos sólidos. Este tipo de extrapolaciones pueden causar resultados nocivos no intencionales para el sexo no estudiado y pérdidas económicas (5).

En 1997 la agencia estadounidense FDA (*Food and Drug Administration*) publicó un informe donde mostró que, generalmente, las mujeres estaban subrepresentadas en los ensayos clínicos y que, incluso cuando se estudiaron en un número suficiente, los datos de los ensayos no se analizaron para encontrar diferencias en las respuestas a los medicamentos entre los dos sexos. Esta falta de conocimiento puede crear una brecha crítica en la información sobre la mejor manera de adaptar las terapias farmacológicas a las mujeres (12).

Realizar un análisis adecuado del sexo no es simplemente una cuestión de determinar si los hombres y las mujeres difieren en un resultado específico, sino que también es una cuestión de hacer buena ciencia. En el caso de un ensayo clínico, por ejemplo, encontrar que un tratamiento es efectivo solo para hombres o mujeres puede tener una aplicación inmediata, pero investigar por qué fue efectivo solo en un sexo podría eventualmente conducir a un mejor tratamiento tanto para hombres como para mujeres (13).

Después de décadas de investigación, en su mayoría excluyendo a las mujeres, los investigadores comenzaron a darse cuenta de que los hombres y las mujeres tienen grandes diferencias más allá de sus sistemas reproductivos (5).

En 1999 el IOM (*Institute of Medicine*) of the *National Academy of Sciences* formó el *Committee on Understanding the Biology of Sex and Gender Differences* (5) y en 2001 publicaron un informe concluyendo que “el sexo importa” y “ser hombre o mujer es una importante variable humana básica que debe ser considerada al diseñar y analizar estudios en todas las áreas y en todos los niveles de la investigación” (9).

Gracias a la investigación en biología humana durante la última década, actualmente se acepta ampliamente que las funciones fisiológicas normales y muchas funciones patológicas están influenciadas por diferencias basadas en el sexo (5) y esto ha ayudado a que las mujeres estén mejor representadas en los ensayos clínicos.

VII-2. PRESENCIA DE SESGO DE SEXO Y GÉNERO EN LOS ESTUDIOS PRECLÍNICOS: IN VIVO

Los sujetos masculinos (células o animales) aún dominan en la investigación preclínica y tiene consecuencias perjudiciales para la salud de las mujeres y la calidad de la ciencia. En el caso contrario, la investigación con modelos animales que utilizan sujetos femeninos en determinadas enfermedades (Esclerosis Múltiple u Osteoporosis) provoca un sesgo que, en este caso, afecta a hombres que también padecen estas enfermedades. De cualquier manera, los científicos están produciendo resultados que comprometen a la mitad de la población (1).

En la investigación preclínica los machos constituyen la 'norma' y la 'población estándar' relevante. Los resultados que se obtienen raramente se cuestionan debido a la capacidad de generalización al resto de población. Sin embargo, cuando la investigación se realiza en hembras a menudo se denomina 'específica del sexo' o 'relevante para el sexo', no pudiéndose aplicar al resto de población (14).

Los problemas inesperados derivados de un ensayo clínico podrían reducirse al estudiar las posibles diferencias sexuales en los efectos de los fármacos, los efectos adversos y los mecanismos de acción durante la fase preclínica. Por lo tanto, es muy importante integrar el sexo como una variable biológica para la investigación preclínica (5).

También es importante y necesaria la integración de datos de ambos sexos para aumentar nuestra comprensión sobre los mecanismos de una enfermedad y para abrir el camino hacia estrategias diagnósticas y terapéuticas novedosas y avanzadas (14).

En 2009 se extrajeron datos de la base de datos *Thomson Reuters Web of Science* para investigar el uso de animales hembra en estudios para determinadas enfermedades y compararlo con la prevalencia de esas enfermedades en mujeres de todo el mundo. Se concluyó que menos del 45% de los estudios en animales sobre trastornos de ansiedad y depresión usaron mujeres, a pesar de que los diagnósticos de estos trastornos son el doble de habituales en mujeres que en hombres. Asimismo, las mujeres tienen más accidentes cerebrovasculares que los hombres, y con peor pronóstico, pero solo el 38% de los estudios en animales sobre accidentes cerebrovasculares utilizaron mujeres. De nuevo, solo el 52% de los modelos utilizaron hembras en el estudio de las enfermedades tiroideas cuando son de 7 a 10 veces más comunes en mujeres que en hombres (15).

Algunos investigadores discuten que estudiar ambos sexos en la investigación básica y preclínica es poco práctico y caro. Al requerir el doble de células y animales se aumenta, no solo presupuesto, sino también la carga de trabajo para la investigación, lo que podría ralentizar el progreso de la investigación.

Por el contrario, incluir ambos sexos y estudiar sus diferencias en las etapas tempranas de la investigación ahorrará más dinero y tiempo que estudiarlo en ensayos clínicos que son más costosos y prolongados. De esta manera, se previene una situación más costosa y peligrosa como sería la retirada de medicamentos después de su comercialización debido a diferentes efectos adversos imprevistos en un sexo determinado.

Por consiguiente, es probable que el análisis del sexo como una variable en la investigación básica y preclínica ahorre dinero a largo plazo al aumentar la reproducibilidad de la investigación y minimizar el fracaso de los ensayos clínicos (5).

VII-3. DIFERENCIAS RELACIONADAS CON EL SEXO Y GÉNERO EN LA RESPUESTA PARA ALGUNOS MEDICAMENTOS

A medida que aumenta el conocimiento de la farmacología y la toxicología de los medicamentos, se ha hecho evidente que los hombres y las mujeres difieren en sus respuestas al tratamiento farmacológico. Esto sucede por diferencias fisiológicas, como el peso corporal, la altura, el área de superficie corporal, el agua corporal total, entre otras, y por diferencias en la farmacocinética y la farmacodinámica (11). También se deben tener en cuenta la presencia de hormonas sexuales endógenas y, de igual importancia, la presencia de hormonas sexuales exógenas (como por ejemplo los medicamentos anticonceptivos) (12).

Aproximadamente una cuarta parte de todas las mujeres en edad fértil utilizan anticonceptivos orales y esto puede afectar a la respuesta de otros medicamentos. Estas interacciones pueden disminuir el efecto anticonceptivo o aumentar la toxicidad del otro fármaco. Un ejemplo sería los medicamentos para tratar la epilepsia que pueden hacer menos efectivo el medicamento anticonceptivo o, por el contrario, ciertos medicamentos antidepresivos que pueden aumentar la potencia anticonceptiva, pudiendo llegar a niveles tóxicos. Esto provoca que se requiera más o menos dosis del medicamento recetado (12).

Numerosos casos han destacado que ambos sexos metabolizan los fármacos de forma diferente y que la eficacia puede depender del sexo (16):

Un ejemplo es el caso del zolpidem, un hipnótico que ayuda a dormir, que se comercializó en 1992 y se recetó a millones de mujeres con unas dosis dentro de las pautas de dosificación. Aun así, muchas mujeres informaron de una alteración del estado de alerta durante la conducción a la mañana siguiente de la toma del medicamento. En 2013, la FDA cambió las pautas de dosificación para las mujeres debido a que dosis similares a las prescritas para los hombres presentaban mayores riesgos para la salud de las mujeres, debido a las diferencias relacionadas con el sexo en las tasas de eliminación (17). Si en los estudios preclínicos se hubieran incluido animales de ambos sexos y se hubieran estudiado las diferencias entre ellos, se podrían haber evitado estos efectos adversos.

Otro caso con el que se debe ajustar la pauta de dosificación según el sexo es el propranolol, un beta-bloqueador que se usa habitualmente para tratar la hipertensión, los ritmos cardíacos anormales y la angina de pecho, debido a que con su administración se obtiene, a igual dosis ingerida en hombres y mujeres, una concentración sanguínea más alta del fármaco que permanecerá 8 horas más en el organismo en el caso de las mujeres (12).

Estos casos no son aislados ya que entre los años 1997 y 2000, la agencia estadounidense FDA retiró del mercado diez medicamentos que habían sido recetados. Ocho de los diez medicamentos presentaban mayores riesgos para la salud de las mujeres: cuatro de ellos causaron más efectos adversos en las mujeres porque se les recetaron con más frecuencia que a los hombres, sin embargo, los otros cuatro fueron prescritos por igual a hombres y mujeres, pero el riesgo para las mujeres fue mayor (18).

Esto sugiere que las diferencias fisiológicas entre hombres y mujeres predisponen a las mujeres a algunos efectos adversos relacionados con los medicamentos (5). Estos efectos adversos se hicieron más evidentes en informes posteriores a la comercialización, principalmente porque los estudios preclínicos se realizaron con sujetos principalmente masculinos (19).

VII-4. ¿POR QUÉ EXISTE UNA TENDENCIA REACIA A UTILIZAR INDIVIDUOS, CÉLULAS Y TEJIDOS DE SEXO FEMENINO?

Las posibles razones por las que las mujeres y las hembras mamíferas no se han incluido en la investigación durante tanto tiempo van desde:

- A. La suposición de que lo que se encontró en los machos también es válido para las hembras (1).
- B. La preocupación de que el ciclo estral pueda aumentar la heterogeneidad de la población de estudio (9).
- C. La idea de ‘protección’ de las mujeres al no incluirlas en la investigación para no afectar a su salud (20).

En el pasado, las mujeres en edad fértil fueron excluidas de los primeros ensayos clínicos debido a defectos de nacimiento u otros resultados negativos, lo cual es, sin duda, comprensible. Pero ¿por qué se hizo lo mismo con las células, tejidos y modelos animales femeninos? (1).

La razón por la que no se utilizaron mujeres en la investigación preclínica es simple: es más fácil y barato usar machos como sujetos de investigación. Sin embargo, el precio lo pagará no solo el grupo de investigadores sino también aquellas personas que no tendrán nuevos tratamientos efectivos (21).

Los investigadores quieren resultados claros y la preocupación de que el ciclo estral los altere ha evitado que los investigadores utilicen animales hembra (5).

Sin embargo, en un metaanálisis de 293 artículos se controlaron los rasgos conductuales, morfológicos, fisiológicos y moleculares en ratones macho y hembras evaluadas sin tener en cuenta la etapa del ciclo estral. No se encontró una variabilidad significativamente mayor en el caso de las hembras, pero sí para los machos en algunos de los rasgos. De hecho, la mayor variabilidad encontrada, tanto en machos como en hembras, fue la provocada por el enjaulado en grupo que aumentó la variabilidad en un 37% (22).

Por lo tanto, las suposiciones de que las hembras como cohortes son más variables y de que se debe realizar un seguimiento del ciclo estral en el caso de que se incluyan en estudios preclínicos son erróneas (1).

VII-5. INICIATIVAS DE CAMBIO: GUÍAS SAGER Y OTRAS

Han surgido iniciativas para fomentar la integración del sexo y género en todas las etapas de la investigación, desde la hipótesis hasta la publicación, por parte tanto de organizaciones que financian, como la *European Commission* (EC), *Canadian Institutes of Health Research* (CIHR), y el *US National Institutes of Health* (NIH), como de revistas científicas donde podemos encontrar las guías SAGER (*Sex and Gender Equity in Research*) y ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*), entre otras (5).

El **Canadian Institutes of Health Research (CIHR)** es la agencia de inversión en investigación de la salud del Gobierno de Canadá. Para mejorar la integración de sexo y género en las investigaciones, el CIHR está usando 4 enfoques (5):

1. Notificación obligatoria de la integración de sexo y género para todas las solicitudes de investigación (22).
2. Incorporación de una persona que muestre experiencia en sexo y género para el tema de investigación que se está tratando (defensor de sexo y género). Esta persona es la responsable de garantizar de que el sexo y el género sean un componente esencial del objetivo de la investigación, el diseño del estudio, los métodos experimentales, el análisis de datos y la interpretación de los resultados obtenidos (5).
3. Inclusión de una plataforma transversal dentro de grandes empresas de investigación con el objetivo de garantizar que las preguntas relevantes sobre sexo y género se estudien en todas las iniciativas de investigación (22). Los líderes de la plataforma consultan con los equipos de investigación y les guían para incorporar el sexo y el género en el diseño de la investigación y los pasos del análisis de datos (5).
4. Finalización de los programas de capacitación *online* sobre sexo y género que el CIHR desarrolló en septiembre de 2015 (5). Los solicitantes a las subvenciones deben presentar pruebas de haber completado al menos uno de los tres módulos de la formación (22).

El **US National Institutes of Health (NIH)** anunció una política para integrar el sexo como variable biológica / *Sex as a Biological Variable (SABV)* en la investigación biomédica en el 2014. Esta política requiere que los solicitantes iguallen el uso de machos y hembras en los estudios preclínicos para todas las solicitudes futuras, a excepción de aquellos experimentos que requieran el uso exclusivo de un sexo. Desde el año 2016, se les pide estrictamente a los solicitantes de premios de investigación y desarrollo profesional financiados por NIH que expliquen cómo incorporaron SABV en su investigación (5).

Tanto el NIH como el CIHR adoptaron una lista consensuada de 13 criterios de evaluación como estándar mínimo para los revisores. Las preguntas clave para evaluar la puntuación general de una solicitud de subvención incluyen (5):

1. Calidad y adecuación del SABV.
2. Justificación de un estudio de un solo sexo.
3. Evidencia de que la cuestión de investigación incorpora SABV.
4. Potencial para que la investigación agregue valor al estado actual del conocimiento sobre un tema determinado que aún no ha aclarado completamente el impacto del sexo en los mecanismos biológicos o en la fisiopatología.
5. Impacto de la investigación incorporando SABV.
6. Potencial para una contribución significativa a la mejora de la salud de mujeres y hombres, de niños y de niñas, o de personas de género diverso.

Recientemente, las principales revistas científicas se han movilizado para influir en los autores y revisores para que informen claramente el sexo y el género de los sujetos de investigación (incluidos modelos celulares, animales y humanos) y para que analicen los datos por sexos (5).

Por ejemplo, el **JNR** (*Journal of Neuroscience Research*) instauró una política en 2017 que exigía a todos los autores garantizar una consideración adecuada del sexo como una variable biológica. Actualmente se les pide que completen el *Transparent Science Questionnaire* y que lo envíen junto con su manuscrito. En el cuestionario se deben contestar a tres preguntas específicamente relacionadas con la integración del sexo en el estudio (5):

1. En el diseño del estudio, ¿se considera el sexo como una variable biológica?
2. Especifique el número total de sujetos en cada experimento, incluyendo el número de animales, sexo y edad en cada grupo.
3. Comente las limitaciones del estudio, incluida la incapacidad por cualquier motivo para estudiar las posibles influencias sexuales donde puedan existir.

Las guías **ARRIVE** (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) consisten en una *checklist* de 20 elementos que describen la información mínima que deben incluir todas las publicaciones científicas que informan sobre investigaciones con animales. Algunos de los elementos son:

- El número y las características específicas de los animales utilizados, incluida la especie, la raza, el sexo y los antecedentes genéticos.
- Detalles del enjaulado y crianza de los animales.
- Los métodos experimentales, estadísticos y analíticos, incluyendo los detalles de los métodos utilizados para reducir el sesgo.

Todos los elementos de la *checklist* se han incluido para promover informes completos y de alta calidad que permitan una revisión crítica precisa de lo que se hizo y de lo que se encontró (23).

Por lo tanto, estas directrices están destinadas a (24):

- Mejorar la presentación de informes sobre investigaciones con animales.
- Orientar a los autores sobre la información esencial a incluir en un manuscrito.
- Ser flexible para acomodar la presentación de informes en una amplia gama de áreas de investigación y protocolos experimentales.
- Promover manuscritos reproducibles, transparentes, precisos, completos, concisos, lógicamente ordenados y bien escritos.
- Mejorar la comunicación de los resultados de la investigación a la comunidad científica.

Las guías **SAGER** (*Sex and Gender Equity in Research*) son unas directrices publicadas en 2016 por el *Gender Policy Committee* (GPC) para fomentar un enfoque más sistemático para informar sobre el sexo y el género en la investigación en todas las disciplinas. El GPC fue creado por la *European Association of Science Editors* (EASE) para intentar mejorar el estándar global y la calidad de la edición científica (5).

Estas pautas son una herramienta, tanto para autores como investigadores, para estandarizar los informes sobre sexo y género en las publicaciones científicas. También están dirigidas a los editores de las revistas científicas para que las usen como un material práctico para evaluar la calidad de un estudio.

Reconocen que no siempre son factibles o aplicables todos los elementos incluidos en las pautas SAGER a un estudio en particular. Por esta razón, animan a los autores y editores a

considerar si el sexo y el género son relevantes para el tema del estudio y, en consecuencia, seguir las pautas, cuando corresponda (25).

Principios generales

- Las guías SAGER recomiendan el uso correcto de las palabras sexo y género para evitar confundir ambos términos.
- Cuando los sujetos de estudio sean organismos capaces de diferenciarse por sexo, la investigación debe diseñarse y realizarse de manera que pueda revelar diferencias relacionadas con el sexo en los resultados, incluso si no se esperaban inicialmente.
- De igual manera, si se trata de que puedan diferenciarse por género, la investigación debe realizarse de manera similar en este nivel adicional de distinción.

Recomendaciones en cada apartado del artículo

- **Título y resumen:** deben especificar el sexo de los animales o de las células, tejidos o materiales derivados de estos o el sexo y género de los humanos si solo se incluye un sexo en el estudio o si los resultados solo se aplican a un sexo o género.
- **Introducción:** deben informar de estudios previos que muestren la presencia o ausencia de diferencias o similitudes de sexo o género. Si no los hay, deben explicar si el sexo y/o el género pueden ser una variante importante y si se pueden esperar diferencias.
- **Metodología:** los autores deben informar de cómo se tuvo en cuenta el sexo y el género en el diseño del estudio, si aseguraron una representación adecuada de hombres y mujeres, y justificar las razones de cualquier exclusión de hombres o mujeres.
- **Resultados:** cuando sea necesario, los datos deben presentarse desglosados por sexo y género. Las diferencias anatómicas y fisiológicas entre hombres y mujeres (altura, peso, masa corporal, recuento de células, ciclos hormonales...), así como las variables sociales y culturales (situación socioeconómica, educación, etc.), deben tenerse en cuenta en la presentación de datos y/o análisis de los resultados. Los análisis basados en el sexo y el género deben informarse independientemente del resultado positivo o negativo. En los ensayos clínicos, los datos sobre retiradas y abandonos también deben informarse desglosados por sexo.
- **Discusión:** se deben discutir las posibles implicaciones del sexo y el género en los resultados y análisis del estudio. Si no se realizó un análisis de sexo y género, se debe dar la justificación.

Estas directrices también proporcionan una lista de preguntas a los editores de revista que puede ayudar en la selección inicial de los artículos enviados. Esto pretende sistematizar la evaluación de los manuscritos con conciencia de género entre el personal editorial (25). Esta *checklist* permite a los editores considerar (5):

1. En el tema del estudio: ¿es relevante el sexo/género?
2. El informe de datos: ¿los datos están desglosados por sexo/género?
3. El diseño del estudio: ¿se considera el sexo/género o se explica?, ¿por qué no?
4. Discusión/limitación: ¿se mencionan y discuten los análisis de sexo/género o la falta de ellos?

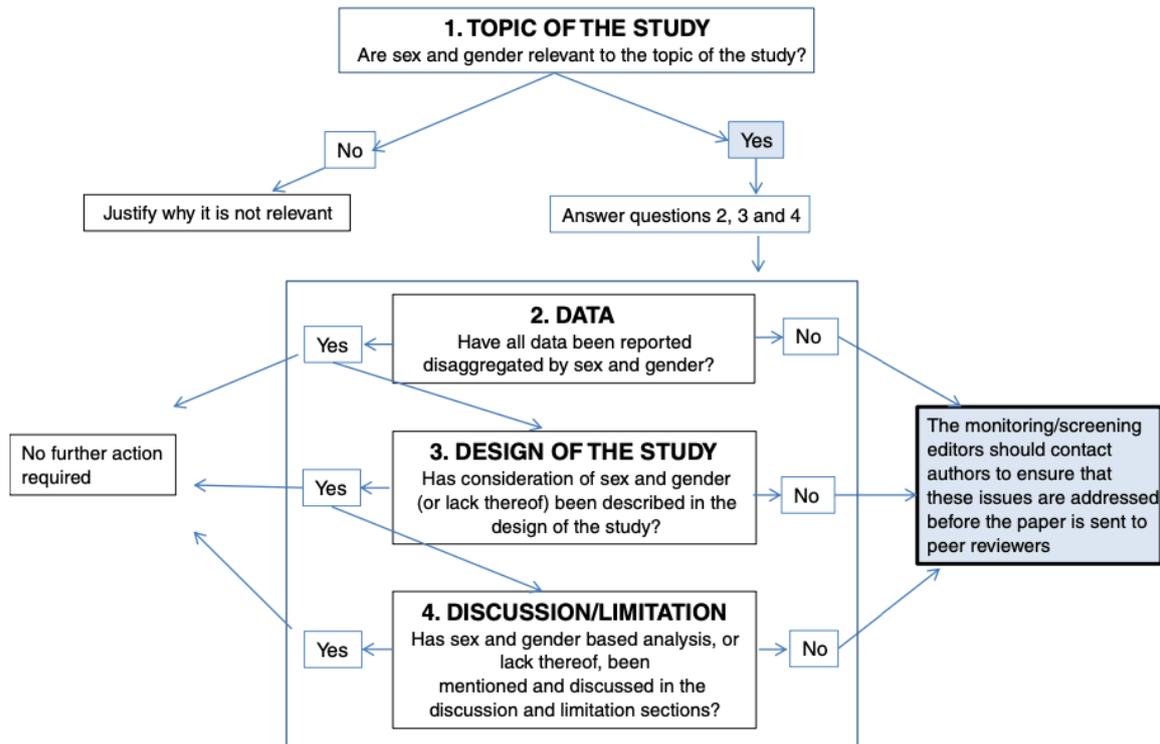


Figura 3: Diagrama SAGER que guía la selección inicial de los editores de los manuscritos enviados (25).

VII-6. ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas engloban un grupo diverso de enfermedades donde no solo hay una alteración cerebral, sino que también hay una afectación del bienestar del paciente. Estas enfermedades se caracterizan por la pérdida progresiva de neuronas en el SNC acompañada de una pérdida rápida y, generalmente, irreversible de las funciones cognitivas y motoras cruciales.

La alta incidencia de los trastornos neurológicos, estimada en 1.000 millones de personas según la *World Health Organization* (WHO), en una población cada vez más envejecida, ha despertado el interés por comprender la relevancia del sexo en la progresión de estas enfermedades y su tratamiento (8).

VII-6.A. DIFERENCIAS DE SEXO EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Si bien existen muchas similitudes en la estructura, función y neurotransmisión del cerebro en hombres y mujeres sanos, también existen diferencias importantes que los distinguen. Algunas de ellas son: el volumen total del cerebro, el porcentaje de materia gris y materia blanca, el flujo sanguíneo cerebral y los marcadores dopaminérgicos, serotoninérgicos y GABAérgicos que indican que los cerebros masculino y femenino son neuroquímicamente distintos (26). Estas diferencias sexuales se inician, a través de los genes que determinan el sexo y las hormonas, en el periodo fetal (8). Por ejemplo, cada vez hay más evidencia del efecto del estrógeno en el aprendizaje, la memoria y el estado de ánimo, así como en los procesos de neurodesarrollo y neurodegeneración en ambos sexos (27).

Es probable que las diferencias sexuales comentadas en un cerebro sano sean la base de las marcadas diferencias sexuales en la susceptibilidad, la progresión, los indicadores de riesgo y la gravedad de varias enfermedades del Sistema Nervioso Central (SNC), incluidas las neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. En el anexo 1 (Tabla A.1) se incluye una tabla con las diferencias sexuales en la incidencia y la gravedad de las afecciones neurológicas comúnmente observadas en humanos.

Explorar los dimorfismos sexuales en el cerebro es clave para comprender la importancia del sexo en las diferentes etapas de una enfermedad y también podría tener importantes implicaciones terapéuticas para el tratamiento de muchas enfermedades neurológicas y psiquiátricas (8)(27).

Respecto a las enfermedades neurodegenerativas hay un importante sesgo de sexo en la incidencia, la gravedad, la progresión y el pronóstico de varios de estos trastornos (28):

i. Alzheimer

Más mujeres que hombres padecen la enfermedad de Alzheimer (EA) y otras demencias. En el año 2014, de los 5,1 millones de estadounidenses mayores de 65 años que padecían Alzheimer, 3,2 millones eran mujeres y 1,9 millones eran hombres. Es decir, casi dos tercios de los estadounidenses con EA eran mujeres (29).

Esto hace pensar si las mujeres tienen un mayor riesgo de padecer la enfermedad o si a esa edad hay más mujeres que hombres con Alzheimer debido a que la esperanza de vida en las mujeres es mayor. En un estudio prospectivo publicado en 2001 se estudió durante 11 años a dos muestras aleatorias de personas mayores de 65 años (en un grupo se estudió la prevalencia y en el otro la incidencia de la enfermedad) y con los resultados que obtuvieron se sugiere que el número excesivo de mujeres con EA se debe a la mayor esperanza de vida de las mujeres más que a factores de riesgo específicos del sexo para la enfermedad (30).

No obstante, también sería importante tener en cuenta otros trastornos relacionados con la edad que los pacientes podrían sufrir, como la diabetes o las enfermedades cardiovasculares, que podrían empeorar la EA. En relación con este concepto, los trastornos autoinmunes son más prevalentes en mujeres que en hombres y es por eso por lo que se puede especular que el estado inflamatorio de la mujer puede conducir a un aumento de la susceptibilidad a la EA (28). De hecho, existen algunos estudios (31) que caracterizan la EA como una enfermedad autoinmune no solo para comprender la fisiopatología sino también con fines de tratamiento (28).

Por último, además de la mayor prevalencia en mujeres, también se observa un mayor deterioro cognitivo en el transcurso de la enfermedad en este sexo. Un metaanálisis publicado en 2012 reveló una ventaja masculina consistente en tareas verbales y visuoespaciales y pruebas de memoria episódica y semántica. Las razones sugeridas para esta ventaja incluyen una reducción del estrógeno en mujeres posmenopáusicas, diferencias de sexo en la patología de EA y una mayor reserva cognitiva en hombres (32).

Las características clínicas también difieren entre hombres y mujeres, mostrando en los hombres conductas más agresivas, comorbilidad y mayor mortalidad mientras que las mujeres tienden a sufrir más síntomas afectivos y discapacidad, pero una supervivencia más prolongada (8).

ii. Parkinson

Después del factor de la edad, los estudios epidemiológicos han revelado que el sexo masculino es otro factor de riesgo destacado para desarrollar la enfermedad de Parkinson (EP) en todas las edades y nacionalidades estudiadas (33). Concretamente, la probabilidad de padecer EP es el doble en el caso de los hombres (34).

Diversos estudios se centran en los efectos del 17β -estradiol (E2) como un impulsor crítico en las diferencias sexuales de diversas enfermedades. Este estrógeno es reconocido por tener acciones neuroprotectoras y, por lo tanto, puede conferir una ventaja en enfermedades en las que a las mujeres generalmente les va mejor, como la EP, ya que suelen tener unos niveles de estrógeno mayores (8,27).

Por otra parte, también se han encontrado diferencias en las características clínicas de la enfermedad en los dos sexos: los hombres presentan mayor rigidez y mayor trastorno del funcionamiento del movimiento ocular rápido, mientras que las mujeres presentan mayores discinesias y depresión. Las diferencias en las características cognitivas no se han examinado exhaustivamente, aunque hay informes que señalan un déficit en los hombres de algunos aspectos cognitivos que dificultan las actividades de la vida diaria, la fluidez verbal y el reconocimiento de la emoción facial y, en el caso de las mujeres, de un déficit en la cognición visoespacial (35). En la figura siguiente (Figura 4) se añaden otras sintomatologías y factores de riesgo:

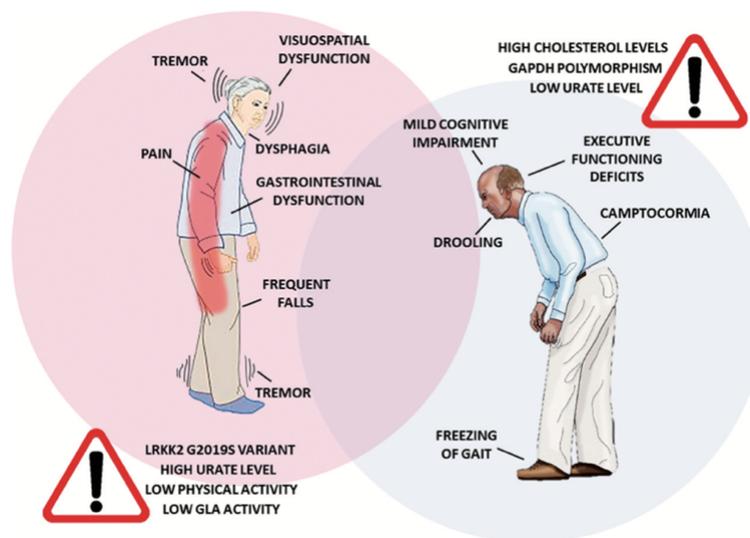


Figura 4: Diferencias en la sintomatología y factores de riesgo de la EP entre mujeres y hombres. GLA, galactosidasa alfa (36).

iii. Esclerosis Múltiple

Las mujeres son más propensas a padecer Esclerosis Múltiple (EM), una enfermedad autoinmune, en relación 2-3:1 respecto a los hombres. Curiosamente, las mujeres no tienen un peor pronóstico que los hombres con EM a pesar de la mayor incidencia de la enfermedad y respuestas inmunitarias más resistentes, lo que sugiere un mecanismo de resiliencia. Por lo tanto, los pacientes masculinos pueden demostrar un curso de la enfermedad más progresivo y rápido (37).

Las condiciones fisiológicas relacionadas con las hormonas en las mujeres, como la pubertad, el embarazo, el puerperio y la menopausia, también ejercen una influencia significativa tanto

en la prevalencia de la enfermedad como en el pronóstico. Por lo tanto, se cree que los factores hormonales y/o genéticos están implicados en la regulación del curso de la enfermedad (38). Las principales diferencias encontradas entre sexos se resumen en la Figura 5:



Figura 5: Principales diferencias en el curso de la Esclerosis Múltiple entre mujeres y hombres (38).

VII-6.B. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer (EA) o *Alzheimer's disease* (AD) es la causa irreversible y progresiva más frecuente de demencia (representa más de un 50% de todos los casos de demencia) (39) y es causada por un daño en las neuronas que conduce a cambios en la memoria, el comportamiento y la capacidad de pensar con claridad. También se puede llegar a afectar la capacidad de una persona para llevar a cabo funciones corporales básicas, como caminar y tragar. Las personas en las etapas finales de la enfermedad están postradas en la cama y requieren atención las 24 horas del día. Por lo tanto, la EA es, en última instancia, letal (29).

i. Síntomas clínicos

La EA afecta a las personas de manera diferente. Aun así, el síntoma inicial es un empeoramiento gradual de la capacidad para recordar nueva información. Esto sucede porque las primeras neuronas que se afectan y dejan de funcionar correctamente suelen ser las que se encuentran en regiones del cerebro involucradas en la formación de nuevos recuerdos. A medida que avanza la enfermedad y se afectan las neuronas de otras partes del cerebro se pueden presentar diversas situaciones (29):

- Dificultad en las actividades básicas de la vida diaria como bañarse, vestirse, comer y usar el baño.
- Pérdida de la capacidad de comunicarse.
- No reconocer a sus seres queridos.
- Quedarse postrado en la cama y depender de cuidados las 24 horas al día.

ii. Diagnóstico neuropatológico

Un diagnóstico definitivo de EA requiere una evaluación clínica de EA probable, así como una confirmación *post mórtem* con la presencia de 2 características histopatológicas (39):

- Acumulación de la proteína β -amiloide fuera de las neuronas, formando las **placas amiloides** (29).
- Acumulación de forma anormal de la proteína tau (τ) dentro de las neuronas, formando los **ovillos neurofibrilares** (29).

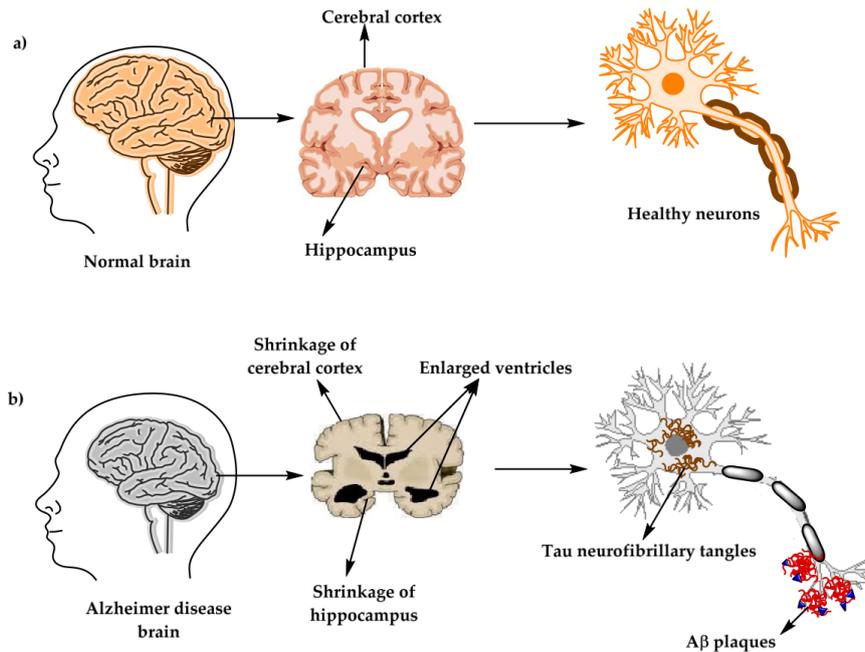


Figura 6: La estructura fisiológica del cerebro y las neuronas en (a) cerebro sano y en (b) cerebro con enfermedad de Alzheimer (EA) (40).

Placas amiloides

Como ya se ha comentado, el componente principal de las placas amiloides que se encuentran en el cerebro con EA es el β -amiloide ($A\beta$). Esta proteína se produce por una escisión anómala de la proteína precursora de amiloide (APP) que puede ser sustrato de tres enzimas (α , β o γ -secretasa):

- Opción 1 (escisión 'normal' no neurotóxica): escisión de la APP por la α -secretasa. Como resultado se obtienen dos fragmentos: el C83, que permanece en la membrana celular, y el sAPP α que se libera al espacio extracelular.
- Opción 2 (escisión 'anormal' potencialmente neurotóxica): escisión de la APP por la β -secretasa. Como resultado se obtienen dos fragmentos: el C99, que permanece en la membrana celular, y el sAPP β que se libera al espacio extracelular.

Posteriormente, la γ -secretasa escinde de manera anómala el fragmento C99 obteniéndose un péptido $A\beta$ y un péptido AICD (Figura 7).

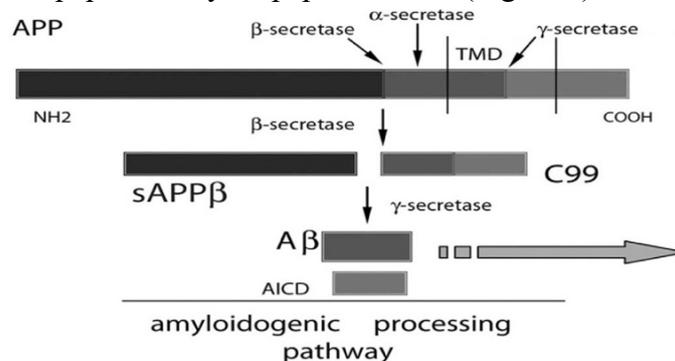


Figura 7: Procesamiento amiloidogénico de la proteína precursora de amiloide (APP) y generación de péptidos β -amiloides (39).

Según el punto de escisión por la γ -secretasa, se producen 2 formas principales de A β que constan de 40 o 42 residuos de aminoácidos (A β 40 o A β 42). La proporción con la que se formen una u otra es importante, ya que la A β 42 es más propensa a oligomerizarse y formar fibrillas por lo que su acumulación excesiva se relaciona con la EA (39).

Ovillos neurofibrilares

Las neuronas que contienen ovillos neurofibrilares son otro hallazgo frecuente en los cerebros con EA. Estos depósitos se forman por una hiperfosforilación de la proteína tau (τ), lo que hace que se agregue de forma insoluble (39). La proteína tau (τ) existe en las sinapsis de cerebros sanos y con EA, mientras que hay un mayor nivel de tau (τ) hiperfosforilada presente en la sinapsis de EA (41).

La proteína tau (τ) es un péptido que se asocia con los microtúbulos y promueve su ensamblaje y estabilidad. La proteína pierde su capacidad para unirse a los microtúbulos en las tauopatías, y la tau (τ) desprendida puede plegarse incorrectamente e inducir los cambios patológicos que caracterizan la EA. Una creciente evidencia indica que estas alteraciones pueden propagarse entre células o regiones conectadas de una manera similar a la de un prión (42).

iii. Genética del Alzheimer

La EA se caracteriza como de inicio temprano/*early-onset AD* (EOAD; <5% de todos los pacientes con EA, con inicio <65 años) o de inicio tardío/*late-onset AD* (LOAD; >95% de todos los casos de EA, con inicio >65 años).

Dentro de los casos de EOAD se encuentra el tipo *familiar early-onset AD (EOFAD)* que es causado por las mutaciones autosómicas dominantes. Estas mutaciones en la presenilina 1 y 2 (PSEN1 y PSEN2) o en la APP representan solo el 5-10% de todos los casos de EOAD (aproximadamente un 1% de todos los casos de EA) (43).

En cambio, en los casos de LOAD no se conocen mutaciones genéticas causales (autosómicas dominantes o recesivas). Se supone que es una enfermedad multifactorial con antecedentes genéticos complejos, pero se han detectado varios factores genéticos de riesgo en la susceptibilidad a la EA. El alelo ϵ 4 de la apolipoproteína E (APOE) es el primer y más significativo gen de riesgo LOAD identificado (44). Sin embargo, no es un alelo determinante para padecer la enfermedad (39).

Tabla 1: Genes de la enfermedad de Alzheimer (EA) (39).

AD Loci	Gene Symbol	Gene Name	Chromosome	Inheritance
AD1	APP	Amyloid precursor protein	21q21	Autosomal Dominant
AD2	APOE	Apolipoprotein E	19q13.32	Sporadic
AD3	PSEN1	Presenilin 1	14q24.2	Autosomal Dominant
AD4	PSEN2	Presenilin 2	1q42.13	Autosomal Dominant

Mutación del gen APP

El gen APP codifica la proteína precursora de amiloide (APP) y, como ya se ha comentado anteriormente, es escindida por las secretasas para obtener péptidos como el A β .

La mayoría de las mutaciones se localizan en los sitios de escisión de la secretasa o en el dominio transmembrana de la APP. Estas mutaciones representan del 10% al 15% de la EOFAD y, en la mayoría de los casos, la edad de inicio de la enfermedad se encuentre entre los 40 y los 50 años. Las mutaciones *missense* "Swedish" (APPSW, APPK670N y M671L) y "London" (APPLON y APPV717I) son ejemplos de mutaciones de APP que conducen a una mayor producción de A β y desarrollo de EA (39).

El locus del gen APP se localiza en el cromosoma 21 y esto puede explicar por qué las personas con síndrome de Down, que tienen tres copias del gen APP, pueden desarrollar un deterioro cognitivo asociado con formas biológicas de EA. La codificación en exceso del A β en las células puede explicar el aumento de riesgo a padecer EA (44).

Mutación del gen PSEN1 y PSEN2

Los genes PSEN1 y PSEN2 codifican las proteínas presenilina 1 y presenilina 2, respectivamente. Estas proteínas llevan a cabo la función principal del complejo γ -secretasa, que es la proteólisis. Este complejo se sitúa en la membrana donde escinde proteínas transmembrana como es el caso de la APP (39,44).

Las mutaciones en PSEN1 dan lugar a la codificación de una proteína alterada de presenilina 1 que interfiere en el complejo de la γ -secretasa. De esta manera, se altera el procesamiento de la APP y se obtiene una sobreproducción de una versión más larga del péptido tóxico β -amiloide que se acumulará y formará las placas amiloides.

En las mutaciones de PSEN2 se produce un cambio en un aminoácido que modificará la codificación de la presenilina 2. La proteína resultante interrumpe el procesamiento de la APP, lo que provoca una sobreproducción del A β que se acumulará y formará las placas amiloides. Por lo tanto, en ambos casos se obtendrá un aumento relativo en la proporción de péptidos A β 42 a A β 40.

Las mutaciones en PSEN1 son la causa más común de EOFAD, en cambio las mutaciones en PSEN2 son una causa mucho más rara de EOFAD. Las mutaciones de PSEN2 se han descrito en 6 familias, mientras que las mutaciones de PSEN1 se han encontrado en 390 familias (39).

Polimorfismo del gen APOE

El gen APOE codifica para una proteína, la APOE, que se expresa en gran medida en los astrocitos del cerebro y en algunas microglías. La APOE sirve como ligando de endocitosis mediada por receptores para partículas de lipoproteínas como el colesterol, que es esencial para la producción de mielina y la función cerebral normal (40). La APOE tiene tres variantes alélicas principales (se hereda una forma de cada progenitor): APOE ϵ 2, APOE ϵ 3 y APOE ϵ 4, siendo el alelo ϵ 3 el más común (77%) y el alelo ϵ 2 el menos común (8%) (44).

El alelo APOE ϵ 4 se asocia con un mayor riesgo de EA y también con una aparición más temprana de la enfermedad (39) y además la homocigosidad en este alelo aumenta el riesgo de desarrollar LOAD de 3 a 15 veces de manera dependiente de la dosis (44).

A diferencia de heredar una mutación genética de las comentadas anteriormente, heredar la forma ϵ 4 del gen APOE no garantiza que un individuo desarrolle EA (29).

Aunque se desconozca el efecto directo de las isoformas de APOE en las vías amiloidogénicas, diversos estudios indican que la APOE modula la actividad de la γ -secretasa y la producción de A β : regula al alza la transcripción de APP y la producción de A β de una manera dependiente de la isoforma (es decir, APOE ϵ 4 estimula la producción de A β más eficazmente que APOE ϵ 2 o APOE ϵ 3) (44).

La identificación de estos genes ha dado lugar a una serie de modelos animales que han sido útiles para estudiar la patogenia de la EA.

VII-6.C. MODELOS ANIMALES MÁS UTILIZADOS EN PRECLÍNICA PARA EL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Los modelos experimentales de la EA son fundamentales para comprender mejor la patogenia de la enfermedad y evaluar el potencial de nuevos tratamientos. No obstante, el éxito de los ensayos clínicos de EA sigue siendo bajo ya que los resultados exitosos en modelos animales solo reflejan aspectos limitados de la patología de la EA en humanos. Una mayor comprensión de las debilidades y fortalezas de cada uno de los modelos, y el uso de más de un modelo para evaluar nuevos tratamientos, ayudaría a mejorar la traducción de los resultados obtenidos en estudios preclínicos a los ensayos clínicos (43).

i. Modelos de ratones transgénicos

Los ratones transgénicos son el modelo más utilizado en la enfermedad de Alzheimer.

Ratones transgénicos que expresan APP humana y PSEN1 con mutaciones de EOFAD

Los ratones de tipo salvaje sintetizan una APP (un 97% homóloga a la humana) que incluye tres aminoácidos dentro de la secuencia de A β (R5G, Y10F y H13R) que perjudica su agregación y evita la formación de placas de amiloide. Por lo tanto, se debe modificar al ratón transgénicamente para que exprese la APP humana necesaria para la formación de placas de amiloide y así proceder a su estudio.

Para obtener en los ratones transgénicos una patología de placa consistente y cantidades variables de características patológicas asociadas a la EA, se procede a la expresión de mutaciones que contienen APP humana asociadas con EOFAD.

Los modelos iniciales de ratones transgénicos incluían una única mutación de EOFAD que correspondía al gen de APP (Tabla 2; columna A).

Posteriormente, se descubrió que la expresión simultánea de múltiples mutaciones asociadas con EOFAD daba como resultado a ratones transgénicos con una patología más grave que se desarrollaba a una edad más temprana (Tabla 2; columna B) (43).

Ratones transgénicos que expresan la proteína tau (τ)

Los ratones de tipo salvaje no desarrollan ovillos neurofibrilares. Probablemente se deba a la diferencia en la secuencia de la proteína tau (τ) humana (solo comparten un 88% de similitud) y al hecho de que los ratones solo expresan isoformas 4R y no una mezcla de isoformas 3R y 4R que sí están presentes en humanos.

Los modelos de EA más utilizados expresan isoformas 4R con mutaciones P301L o P301S, que dan como resultado ovillos neurofibrilares, neurodegeneración, atrofia y déficits motores. La necesidad de estas mutaciones es una limitación de estos modelos ya que las mutaciones no están asociadas con la EA en humanos y la proteína tau (τ) mutada puede afectar su toxicidad o interacción con la A β de una manera no representativa (43).

Ratones transgénicos que presentan placas amiloides y ovillos neurofibrilares

Un número limitado de estudios ha informado sobre el desarrollo de modelos animales que expresan formas mutadas de APP, proteína tau (MAPT) y, en algunas ocasiones, también de PSEN1 o PSEN2.

Un ejemplo es el modelo de ratón 3xTg (Tabla 2; columna C), que se ha utilizado ampliamente en estudios de EA y se considera el modelo de ratón transgénico más completo disponible para la patología de EA (43).

Ratones transgénicos *knock-in*

Los ratones *knock-in* (Tabla 2; columna D) son los modelos desarrollados más recientemente y que mejor replican la enfermedad. Se considera que son un modelo más fisiológico de EA ya que están diseñados para evitar los efectos de confusión de la sobreexpresión de APP, presente en todos los demás modelos de ratones transgénicos, al humanizar la A β del ratón (se modifican los 3 aminoácidos que difieren de la humana). Como resultado, los ratones *knock-in* tienen la misma expresión de APP que los ratones de tipo salvaje y la expresión de APP ocurre de manera fisiológica en las regiones cerebrales y tipos de células correctos (43). Por lo tanto, tendremos una sobreexpresión de A β patógena, como por ejemplo de A β 42, sin una sobreexpresión de APP (45).

Este modelo representa un gran avance, pero debe reconocerse que es un modelo de EOFAD y no de LOAD (43).

Tabla 2: Modelos transgénicos de ratones más comunes de EA. Adaptado de (43).

A		B		C	
Modelo animal	Mutación	Modelo animal	Mutación	Modelo animal	Mutación
PDAPP	APP ^{V717F}	J20	APP ^{K670N,M671L} y APP ^{V717F}	3xTg	APP ^{K670N,M671L} , PSEN1 ^{M146V} y MAPT ^{P301L}
Tg2576	APP ^{K670N,M671L} Promotor PrP (isoforma APP695)	APP/PS1	APP ^{K670N,M671L} , PSEN1 ^{M146L} o PSEN1 ^{L166P}	D	
				Modelo animal	Mutación
				APP knock-in ^{NL-G-F}	APP ^{K670N,M671L} , APP ^{E693G} y APP ^{I716F}
APP23	APP ^{K670N,M671L} Promotor Thy1	5xFAD	APP ^{K670N,M671L} , APP ^{V717I} , APP ^{V716V} ,		

(isoforma APP751)	PSEN1 ^{M146L} y PSEN1 ^{L286V}
APP E693Δ-Tg	TgSwDI APP ^{K670N,M671L} , APP ^{E693Q} y APP ^{D694N}
	APP^{swe}/PS1^{ΔE9} APP ^{K670N,M671L} y PSEN1 ^{ΔE9}

ii. Modelos de ratas transgénicas

Pocos modelos de ratas transgénicas se han desarrollado para la EA a pesar de que las ratas presentan algunas ventajas sobre los ratones:

- Son más similares a los humanos en sus características fisiológicas, morfológicas y genéticas.
- Su cerebro es más grande, lo que facilita la recolección de LCR, la electrofisiología y las imágenes.
- Tienen un fenotipo de comportamiento más rico, lo que hace posible realizar pruebas de comportamiento más complejas.

Todos los modelos incluidos en la Tabla 3 presentan placas amiloides y, curiosamente, las ratas TgF344-AD también presentan ovillos neurofibrilares a pesar de la expresión de proteína tau (τ) endógena (no humana). Esto probablemente se deba a las mayores similitudes entre la tau (τ) de rata y la humana, ya que también hay 6 isoformas de tau (τ) de rata endógena (43).

Tabla 3: Modelos transgénicos de ratas más comunes de EA. Adaptado de (43).

Modelo animal	Mutación
McGill-R-Thy1-APP	APP ^{K670N,M671L} y APP ^{V717F}
TgF344-AD	APP ^{K670N,M671L} y PSEN1 ^{ΔE9}
PSAPP	APP ^{K670N,M671L} , APP ^{V717F} y PSEN1 ^{M146V}

iii. Modelos fisiológicos

Estos modelos surgen de la necesidad de estudiar la LOAD y no la EOFAD (que ya se estudia con los anteriores modelos). De esta manera, con los modelos que se describe a continuación, se estudia la EA que ocurre esporádicamente.

Múltiples especies desarrollan naturalmente características neuropatológicas similares a las observadas en el cerebro con EA y se ha examinado su potencial como modelos naturales de LOAD (43):

Primates no humanos

En las ventajas de usar primates no humanos para estudiar la EA se incluye su proximidad biológica a los humanos, la complejidad del comportamiento, cerebros grandes que son

favorables para estudios de imagen o recolección de LCR y una acumulación natural con la edad de Aβ que tiene una homología en secuencia del 100 % con el Aβ humano. Es por esto por lo que presentan placas amiloides, pero, sin embargo, la presencia de ovillos neurofibrilares es muy rara.

Según estudios previos, el mono rhesus es el modelo de primate no humano más práctico para estudiar la EA porque está muy bien caracterizado (43).

Otros

Otras especies bien conocidas que se utilizan son los perros y el Octodon degu.

Los perros de edad avanzada (a partir de los 8-9 años) presentan placas amiloides con una secuencia de Aβ igual a la de los humanos, pero, sin embargo, no se suelen observar ovillos neurofibrilares.

La combinación de deterioro cognitivo medible, la neuropatología asociada a la EA y un tiempo de estudio de la patología de 3 a 4 años antes de la muerte, ha resultado el uso de perros de edad avanzada en un buen modelo para numerosos estudios preclínicos.

En resumen, los modelos fisiológicos representan los mejores modelos disponibles de LOAD. Sin embargo, todavía existen limitaciones científicas y prácticas que impiden el uso generalizado de estos modelos.

Por último, también existen modelos de cultivo celular (*in vitro*), modelos de animales invertebrados (*Drosophila* o *C. Elegans*) y modelos de animales de orden inferior (pez cebra).

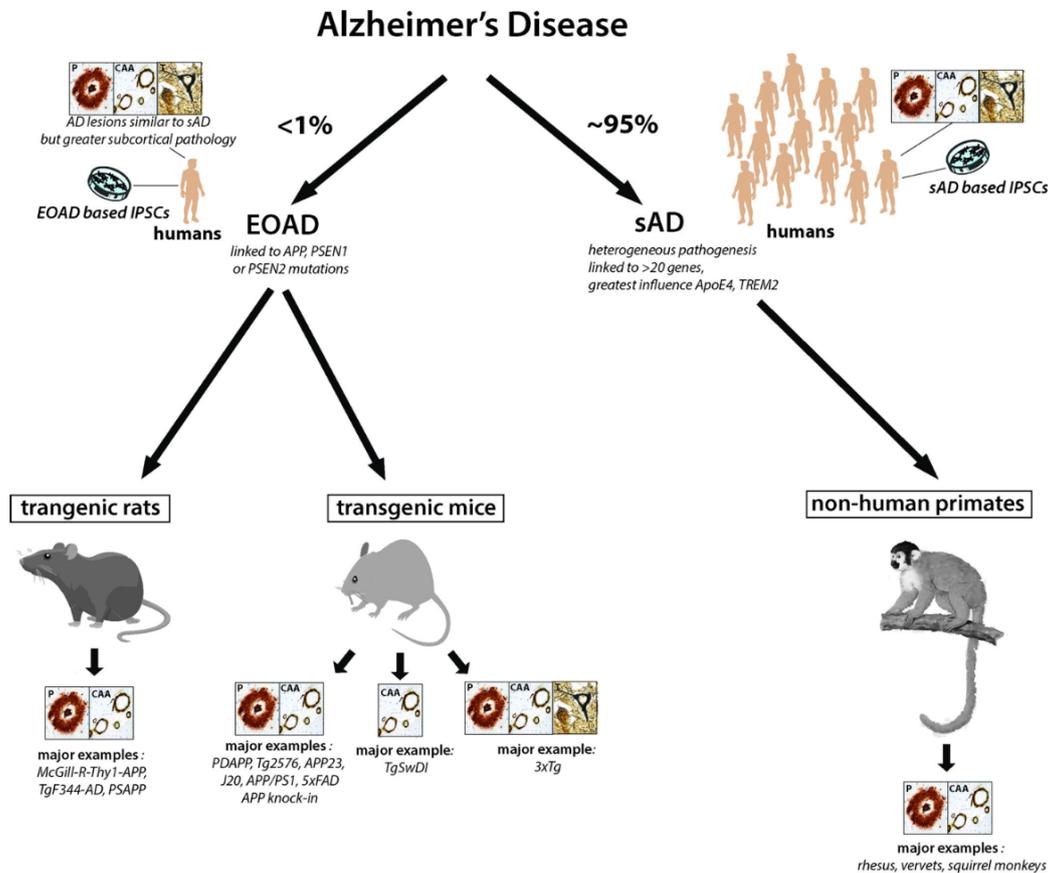


Figura 8: Esquema de los principales modelos animales de la enfermedad de Alzheimer (43).

VII-6.D. ANÁLISIS DE ESTUDIOS Y RESULTADOS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Pese a que se han logrado grandes avances en la investigación de la EA en los últimos años, se ha prestado poca atención a las diferencias de sexo y género, lo que ha generado importantes lagunas de conocimiento en la investigación y una falta de conciencia entre la comunidad investigadora sobre las diferencias de sexo y género en la EA.

Para conocer el estado actual de sesgo de sexo en la investigación de la enfermedad de Alzheimer, se procede a una revisión de un total de 41 artículos publicados en *PubMed* en los últimos 5 años sobre diferentes estudios utilizando animales. Los criterios de inclusión y exclusión son los explicados anteriormente en el apartado de metodología.

La siguiente tabla (Tabla 4) muestra los diferentes artículos revisados donde se indica el sexo y la especie animal utilizada y también detalles sobre los diferentes modelos de Alzheimer.

Una vez se recopilen los datos, se podrá discutir si sigue existiendo un sesgo de sexo en el estudio de esta enfermedad.

Tabla 4: Sexo y animales en diferentes modelos de Alzheimer encontrados en la búsqueda.

Animal	Sexo	Modelo animal en EA	Referencia
Ratones	Ambos sexos	APP^{swe}/ PS1ΔE9 (APP humana con las mutaciones suecas K595N/M596L y delección humana de PSEN1/PS1)	(46)
Ratones	Machos	APP/PS1	(47)
Ratones	Machos > hembras	APP23	(48)
Ratones	Machos	5xFAD y 5XF:pGB (5xFAD cruzado con pGFAP:BDNF que sobreexpresa BDNF = <i>brain-derived neurotrophic factor</i>)	(49)
Ratones	No concretado	(1) APP^{NL-G-F}, (2) APP^{NL-F}, (3) 5xFAD, (4) APP;tTa, (5) APP/PS1, (6) APP^{swe}/PSEN1ΔE9 y (7) APP^{DUTCH};PSEN	(50)
Ratones	Machos	5xFAD heterocigoto	(51)
Ratones	Machos	HSHA (ratón transgénico que sintetiza A β humana solo en el hígado (<i>hepatocyte-specific human amyloid</i>))	(52)
Ratones	Hembras > machos	APP23	(53)
Ratones	Ambos sexos	J20	(54)
Ratones	Hembras	3xTg	(55)
Ratones	Hembras	APP/PS1 (coexpresan la mutación sueca KM670/671NL de la APP humana y la PS1)	(56)

		L166P mutada humana impulsada por el promotor Thy-1)	
Ratones	Hembras (1)	(1) APP^{NL-F} knock-in (mutación sueca de APP KM670/671NL e ibérica APP I716F)	(57)
	No concretado (2)	(2) TgCRND8 (mutación sueca de APP KM670/671NL y de indiana APP V717F)	
Ratones	Machos	J20^{+/-} EPRAP^{-/-} (transgénico J20 heterocigoto deficiente en <i>prostaglandin E₂ type 4 receptor-associated protein</i>), J20^{+/-} EPRAP^{+/+}, EPRAP^{+/+} y EPRAP^{-/-}	(58)
Ratones	Infecciones neonatales: ambos sexos; en adultos: hembras	5xFAD (infección periférica mediante inyección intraperitoneal con el virus MRV (<i>murine roseolovirus</i>))	(59)
Ratas	Ambos sexos	TgF334-AD	(60)
Ratones	Machos	Apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-})	(61)
Perros	No concretado	Perros de raza Beagle envejecidos	(62)
Ratones	Ambos sexos	SUMO1-APP doble transgénico (sobrexpresada <i>small ubiquitin-related modifier 1 precursor</i> y presenta una mutante de APP)	(63)
Ratones	Machos	SAMP8 (<i>Senescence Accelerated Mouse</i>)	(64)
Ratones	Pruebas electrofisiológicas: hembras; de comportamiento: machos	5xFAD	(65)
Ratones	Hembras	5xFAD	(66)
Ratones	Machos (1)	(1) Inyección intracerebroventricular de A β (1-42) en ratón ICR	(67)
	Ambos sexos (2)	(2) 5xFAD	
Ratones	Hembras	3xTg	(68)
Ratones	No concretado	Tau P301S transgénico	(69)
Ratones	Machos	APP^{swe}/PS1ΔE9 (APP humana con las mutaciones suecas K594N/M595L y delección humana de PSEN1/PS1)	(70)
Ratones	Hembras	3xTg	(71)
Ratones	Machos	APP^{wt} transgénico	(72)
Ratones	Machos	Ratón (C57BL/6J) con EA inducida por Aβ (inyección intracerebroventricular de A β (1-42))	(73)
Ratones	Machos	APP^{swe}/ PS1ΔE9	(74)
Ratones	Ambos sexos	APP^{swe}/ PS1ΔE9	(75)

Ratas	Machos	TgF334-AD	(76)
Ratas	Hembras	TgF334-AD	(77)
Ratones	No concretado	Transgénicos Tg2576 (APP_{sw}), TTBK1 y Tg2576/TTBK1	(78)
Ratones	No concretado	HNE transgénico (4-hydroxynonenal) y 5xFAD transgénico	(79)
Ratones	Hembras > machos	APP_{sw}/ PS1ΔE9	(80)
Ratones	No concretado	Cultivos celulares de neuronas del hipocampo y del córtex de embriones de ratón C57BL6	(81)
Ratones	No concretado	Células N2S (células de neuroblastoma N2a que expresan el mutante sueco humano APP695), 3xTg y 5xFAD	(82)
Ratones	Machos	Transducción viral in vivo de calcineurina constitutivamente activa (inyección intrahipocampal) en ratón C57BL/6J	(83)
Ratones	No concretado	Inyección intraperitoneal de diferentes compuestos en ratones	(84)
Ratones	Ambos sexos	3xTg, tau P301L transgénico y TgCRND8 (mutación sueca APP695 KM670/671NL y mutación de Indiana V717F)	(85)
Ratones	Ambos sexos	APP_{sw}/ PS1ΔE9	(86)

La mayoría de los estudios se realizaron en ratones (37; 90% en verde), en segundo lugar, en ratas (3; 7% en amarillo) y en último lugar, en perros (1; 3% en naranja) (Figura 9). Esto coincide con la explicación del aparatado anterior donde los ratones transgénicos eran el modelo más utilizado, seguido de las ratas transgénicas y se comentó que los modelos fisiológicos (perros) eran difíciles de llevar a cabo.

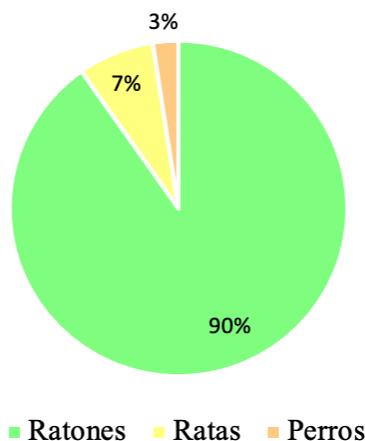


Figura 9: Porcentaje de estudios que utilizan ratones, ratas o perros como modelo de estudio.

En relación con la utilización y comunicación de los sexos empleados en los experimentos en todos los estudios revisados, un 33% (15; en azul marino) utilizó solo machos, un 20% (9; en rojo) utilizó solo hembras, un 20% (9; en amarillo) no concretó el sexo utilizado y un 27% (12; en verde) utilizó ambos sexos. De aquellos realizados en ambos sexos, un 20% (9; en rosa) se realizó en ambos sexos por igual, un 5% (2; en azul cielo) se realizó con un número mayor de hembras y un 2% (1; en naranja) se realizó con un número mayor de machos (Figura 10).

El número de artículos revisados ha sido de 41 pero en algunos de ellos se desarrollaban varios experimentos por lo que según el modelo se utilizaban sexos diferentes. Es por esto por lo que hay un total de 45 declaraciones de sexo.

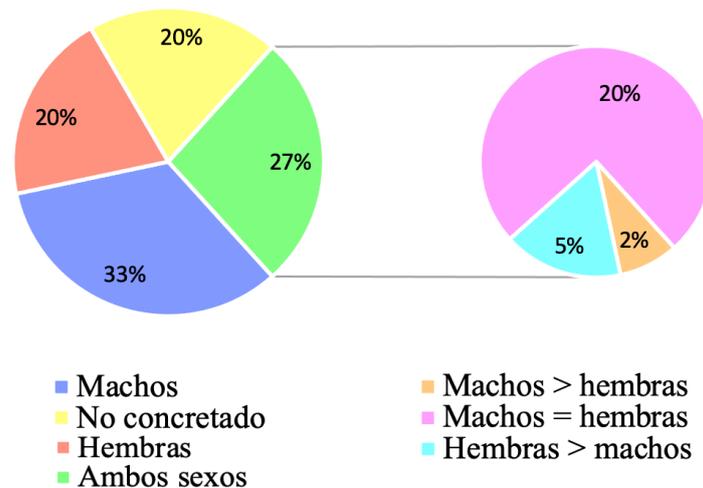


Figura 10: Porcentaje de estudios que utilizan animales machos, hembras, de ambos sexos o animales cuyo sexo no se indica.

Por último, de entre todos los modelos animales utilizados, en la siguiente gráfica se recoge el *top 10* de los más empleados (Figura 11). La mayoría de estos modelos ya se han explicado en el apartado anterior (Tabla 2 y Tabla 3) por lo que se reafirma que estos modelos son los más habituales en los estudios preclínicos de EA.

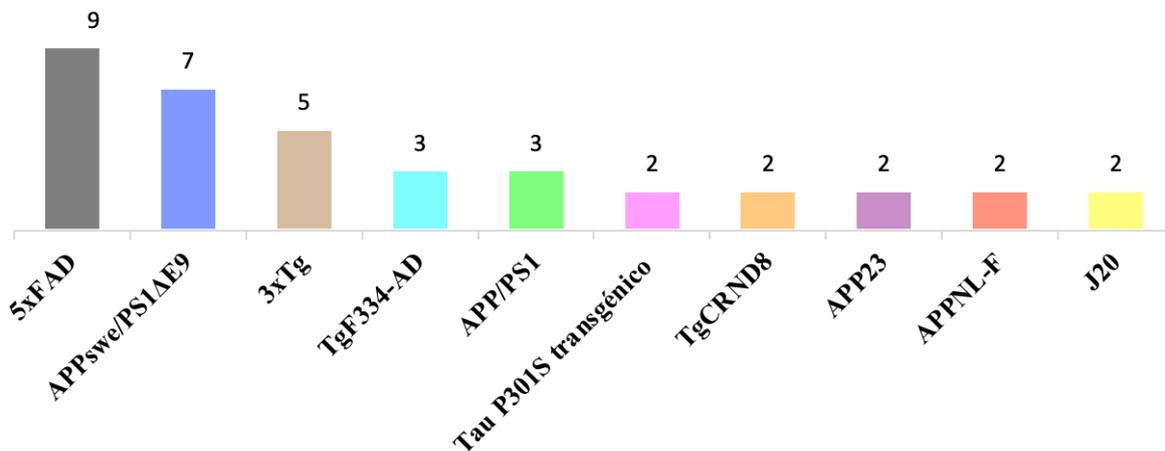


Figura 11: Los 10 modelos animales más utilizados en los estudios revisados.

VIII. DISCUSIÓN

Con los resultados obtenidos en la Figura 10 se puede corroborar que sigue existiendo un sesgo de sexo en la investigación de la enfermedad de Alzheimer. Más concretamente, se puede observar una predominancia de los machos (33%) sobre las hembras (20%). Aun así, el valor de aquellos estudios que emplearon ambos sexos (27%) es elevado y se acerca al del sexo mayoritario. Por otro lado, tenemos aquellos estudios que no concretaron el sexo empleado con un 20%.

Que haya una mayoría de los estudios que hayan empleado ratones y ratas macho es contrario a la mayor incidencia de EA en las mujeres (29), como ya se ha comentado anteriormente.

Si además se analizan los artículos incluidos en la búsqueda para comprobar si cumplen o han seguido las guías SAGER se obtienen los siguientes resultados:

- Se recomienda especificar el sexo en el título y en el resumen, pero solo 4 artículos de los 41 incluidos en la revisión especificaron el sexo de los animales o de las células, tejidos o materiales derivados de estos en el apartado de resumen (49,55,58,66) y ninguno lo incluyó en el título.

De hecho, 9 artículos de los incluidos no han concretado el sexo utilizado (50,62,69,78,79,81,82,84) y otro solo en uno de los dos experimentos realizados (57).

- De aquellos estudios que se realizaron en ambos sexos, solo 3 artículos de los 12 incluidos en la revisión obtuvo, comentó o analizó las diferencias entre ambos sexos:
 - o Un estudio señaló que ‘las ratas hembra requirieron una dosis más baja de L-NAME para lograr aumentos similares en la PA que las ratas macho’(60).
 - o Otro estudio observó que ‘la adición de un alelo que sobreexpresa SUMO1 reduce la mortalidad en ambos sexos de ratones APP-Tg. El efecto es particularmente notable y alcanzó significación estadística en los machos donde parece haber una respuesta a la dosis relacionada con la sobreexpresión de SUMO1’ (63).
 - o Por último, el tercero declaró que ‘en las hembras, los niveles de A β (1–42) en ratones 5XFAD de edad avanzada aumentaron en comparación con los de ratones 5XFAD adultos’ (67).

De aquellos que no analizaron las diferencias entre sexos, solo uno de ellos comentó el por qué no lo hizo: ‘la mayoría de los ratones eran machos, por lo que no podemos descartar la posibilidad de que existan diferencias en la eficacia del tratamiento en mujeres y esto merece un estudio adicional’ (48).

- De entre todos los artículos que emplearon machos, uno de ellos justificó la exclusión de hembras para ‘evitar posibles efectos contributivos de las hormonas femeninas, que se sabe que regulan el tráfico de APP y la generación de A β ’ (70). Y de aquellos que solo emplearon hembras, uno de los artículos comentó que ‘solo se utilizaron hembras en este estudio ya que muestran una neuropatología más temprana’ (68).

En lo que respecta a las guías ARRIVE se observa que prácticamente la mayoría de los artículos incluyen la información mínima que deben incluir las publicaciones como es el número y las características de los animales (especie, raza y antecedentes genéticos) y los detalles del enjaulado y crianza (bebida, comida, luz...).

En resumen, esta revisión de los 41 artículos publicados en *PubMed* refleja las ideas comentadas en los anteriores apartados de este TFG.

IX. CONCLUSIONES

De todo lo expuesto puedo concluir que:

1. Sigue existiendo un sesgo de sexo en la investigación de la enfermedad de Alzheimer: predominan los machos sobre las mujeres a pesar de la mayor incidencia en este último sexo.
2. El conocimiento obtenido sobre la EA y su tratamiento sigue no siendo suficiente o totalmente válido hasta que todos los ensayos se realicen en igualdad de sexos y se analicen los resultados para obtener diferencias sexuales.
3. Las guías SAGER no parecen estar aplicándose en el planteamiento de los estudios, ni en su redacción ni como filtro previo a la publicación en las diferentes revistas científicas.
4. Las guías ARRIVE sí parecen estar consideradas.
5. El sexo sigue sin incluirse como variable biológica (SABV).

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Plevkova J, Brozmanova M, Harsanyiova J, Sterusky M, Honetschlager J, Buday T. Various aspects of sex and gender bias in biomedical research. *Physiological Research*. 2020;69:367–78.
2. Salter-Volz AE, Oyasu A, Yeh C, Muhammad LN, Woitowich NC. Sex and gender bias in Covid-19 clinical case reports. *Frontiers in Global Women's Health*. 2021;2:774033.
3. Perrin S. Preclinical research: make mouse studies work. *Nature*. 2014;507:423–5.
4. Bart van der Worp H, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V, et al. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Medicine*. 2010;7(3):1–8.
5. Lee SK. Sex as an important biological variable in biomedical research. *BMB Reports*. 2018;51(4):167–73.
6. Will TR, Proaño SB, Thomas AM, Kunz LM, Thompson KC, Ginnari LA, et al. Problems and progress regarding sex bias and omission in neuroscience research. *eNeuro*. 2017;4(6).
7. Beery AK, Zucker I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2011;35(3):565–72.
8. Yanguas-Casás N. Sex differences in neurodegenerative diseases. *SM Journal of Neurological Disorders and Stroke*. 2017;3(1):1014.
9. Institute of Medicine (US) Committee on Understanding the Biology of Sex and Gender Differences. Exploring the biological contributions to human health: does sex matter? Witzmann TM, Pardue ML, editors. *Exploring the Biological Contributions to Human Health*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001. 288 p.
10. Clayton JA, Tannenbaum C. Reporting sex, gender, or both in clinical research? *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2016;316(18):1863–4.

11. Soldin OP, Mattison DR. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clinical Pharmacokinetics*. 2009;48(3):143–57.
12. US General Accounting Office. Women’s health: FDA needs to ensure more study of gender differences in prescription drugs testing. US General Accounting Office. 1992 [consultado: 14 de abril de 2022]. Disponible en: <http://archive.gao.gov/d35t11/147861.pdf>
13. Wetherington CL. Sex-gender differences in drug abuse: a shift in the burden of proof? *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 2007;15(5):411–7.
14. Coiro P, Pollak DD. Sex and gender bias in the experimental neurosciences: the case of the maternal immune activation model. *Translational Psychiatry*. 2019;9(1):90.
15. Zucker I, Beery A. Males still dominate animal studies. *Nature*. 2010;465(7299).
16. Karp NA, Reavey N. Sex bias in preclinical research and an exploration of how to change the status quo. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176(21):4107–18.
17. Zakiniaieiz Y, Cosgrove KP, Potenza MN, Mazure CM. Balance of the sexes: addressing sex differences in preclinical research. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2016;89(2):255–9.
18. US General Accounting Office. Drug safety: most drugs withdrawn in recent years had greater health risks for women. US General Accounting Office. 2001 [consultado: 14 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.gao.gov/assets/gao-01-286r.pdf>
19. Hughes RN. Sex does matter: comments on the prevalence of male-only investigations of drug effects on rodent behaviour. *Behavioural Pharmacology*. 2007;18(7):583–9.
20. Keitt SK, Fagan TF, Marts SA. Understanding sex differences in environmental health: a thought leaders’ roundtable. *Environmental Health Perspectives*. 2004;112(5):604–9.
21. Blanchard DC, Blanchard RJ, Griebel G. Gender bias in the preclinical psychopharmacology of anxiety: male models for (predominantly) female disorders. *Journal of Psychopharmacology*. 1995;9(2):79–82.
22. Duchesne A, Tannenbaum C, Einstein G. Funding agency mechanisms to increase sex and gender analysis. *The Lancet*. 2017;389(10070).
23. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*. 2010;8(6):1–5.
24. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. *British Journal of Pharmacology*. 2010;160(7):1577–9.
25. Heidari S, Babor TF, de Castro P, Tort S, Curno M. Sex and gender equity in research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. *Research Integrity and Peer Review*. 2016;1:2.
26. Cosgrove KP, Mazure CM, Staley JK. Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function, and chemistry. *Biological Psychiatry*. 2007;62(8):847–55.
27. Gillies GE, McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacological Reviews*. 2010;62(2):155–98.

28. Hanamsagar R, Bilbo SD. Sex differences in neurodevelopmental and neurodegenerative disorders: focus on microglial function and neuroinflammation during development. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2016;160:127–33.
29. Alzheimer's Association. 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*. 2014;10(2).
30. Hebert LE, Scherr PA, Mccann JJ, Beckett LA, Evans DA. Is the risk of developing Alzheimer's disease greater for women than for men? *American Journal of Epidemiology*. 2001;153(2):132–6.
31. Lehrer S, Rheinstein PH. Is Alzheimer's disease autoimmune inflammation of the brain that can be treated with nasal nonsteroidal anti-inflammatory drugs? *American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias*. 2015;30(3):225–7.
32. Irvine K, Laws KR, Gale TM, Kondel TK. Greater cognitive deterioration in women than men with Alzheimer's disease: a meta analysis. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. 2012;34(9):989–98.
33. Gillies GE, Pienaar IS, Vohra S, Qamhawi Z. Sex differences in Parkinson's disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2014;35(3):370–84.
34. Baldereschi M, di Carlo A, Rocca WA, Vanni P, Maggi S, Perissinotto E, et al. Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: two-fold higher incidence in men. *Neurology*. 2000;55(9):1358–63.
35. Miller IN, Cronin-Golomb A. Gender differences in Parkinson's disease: clinical characteristics and cognition. *Movement Disorders*. 2010;25(16):2695–703.
36. Cerri S, Mus L, Blandini F. Parkinson's disease in women and men: what's the difference? *Journal of Parkinson's Disease*. 2019;9(3):501–15.
37. Voskuhl RR, Gold SM. Sex-related factors in multiple sclerosis susceptibility and progression. *Nature Reviews Neurology*. 2012;8(5):255–63.
38. Ysraelit MC, Correale J. Impact of sex hormones on immune function and multiple sclerosis development. *Immunology*. 2019;156(1):9–22.
39. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. 2010;23(4):213–27.
40. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules*. 2020;25(24).
41. Yin X, Qiu Y, Zhao C, Zhou Z, Bao J, Qian W. The role of amyloid-beta and tau in the early pathogenesis of Alzheimer's disease. *Medical Science Monitor*. 2021;27.
42. Zhang H, Cao Y, Ma L, Wei Y, Li H. Possible mechanisms of tau spread and toxicity in Alzheimer's disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9.
43. Drummond E, Wisniewski T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathologica*. 2017;133(2):155–75.
44. Hampel H, Hardy J, Blennow K, Chen C, Perry G, Kim SH, et al. The amyloid- β pathway in Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*. 2021;26(10):5481–503.
45. Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S, Nagata K, Saito T, de Strooper B, et al. APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *The EMBO Journal*. 2017;36(17):2473–87.

46. Luo R, Su LY, Li G, Yang J, Liu Q, Yang LX, et al. Activation of PPARA-mediated autophagy reduces Alzheimer disease-like pathology and cognitive decline in a murine model. *Autophagy*. 2020;16(1):52–69.
47. Xu X, Sun Y, Cen X, Shan B, Zhao Q, Xie T, et al. Metformin activates chaperone-mediated autophagy and improves disease pathologies in an Alzheimer disease mouse model. *Protein & Cell*. 2021;12(10):769–87.
48. Leinenga G, Koh WK, Götz J. A comparative study of the effects of Aducanumab and scanning ultrasound on amyloid plaques and behavior in the APP23 mouse model of Alzheimer disease. *Alzheimer's Research and Therapy*. 2021;13(1).
49. de Pins B, Cifuentes-Díaz C, Thamila Farah A, López-Molina L, Montalban E, Sancho-Balsells A, et al. Conditional BDNF delivery from astrocytes rescues memory deficits, spine density, and synaptic properties in the 5xFAD mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Neuroscience*. 2019;39(13):2441–58.
50. Roy ER, Wang B, Wan YW, Chiu G, Cole A, Yin Z, et al. Type I interferon response drives neuroinflammation and synapse loss in Alzheimer disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2020;130(4):1912–30.
51. Zheng X, Lin W, Jiang Y, Lu K, Wei W, Huo Q, et al. Electroacupuncture ameliorates beta-amyloid pathology and cognitive impairment in Alzheimer disease via a novel mechanism involving activation of TFEB (transcription factor EB). *Autophagy*. 2021;17(11):3833–47.
52. Lam V, Takechi R, Hackett MJ, Francis R, Bynevelt M, Celliers LM, et al. Synthesis of human amyloid restricted to liver results in an Alzheimer disease-like neurodegenerative phenotype. *PLoS Biology*. 2021;19(9).
53. López-Picón FR, Snellman A, Eskola O, Helin S, Solin O, Haaparanta-Solin M, et al. Neuroinflammation appears early on PET imaging and then plateaus in a mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Nuclear Medicine*. 2018;59(3):509–15.
54. Flores J, Noël A, Foveau B, Beauchet O, LeBlanc AC. Pre-symptomatic Caspase-1 inhibitor delays cognitive decline in a mouse model of Alzheimer disease and aging. *Nature Communications*. 2020;11(1).
55. Fertan E, Rodrigues GJ, Wheeler R v., Goguen D, Wong AA, James H, et al. Cognitive decline, cerebral-spleen tryptophan metabolism, oxidative stress, cytokine production, and regulation of the *txnip* gene in a triple transgenic mouse model of Alzheimer disease. *American Journal of Pathology*. 2019;189(7):1435–50.
56. Deleye S, Waldron AM, Verhaeghe J, Bottelbergs A, Wyffels L, van Broeck B, et al. Evaluation of small-animal PET outcome measures to detect disease modification induced by BACE inhibition in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Nuclear Medicine*. 2017;58(12):1977–83.
57. Wang H, Williams D, Griffin J, Saito T, Saido TC, Fraser PE, et al. Time-course global proteome analyses reveal an inverse correlation between A β burden and immunoglobulin M levels in the APPNL-F mouse model of Alzheimer disease. *PLoS ONE*. 2017;12(8).
58. Fujikawa R, Higuchi S, Nakatsuji M, Yasui M, Ikedo T, Nagata M, et al. Deficiency in EP4 receptor-associated protein ameliorates abnormal anxiety-like behavior and

- brain inflammation in a mouse model of Alzheimer disease. *American Journal of Pathology*. 2017;187(8):1848–54.
59. Bigley TM, Xiong M, Ali M, Chen Y, Wang C, Serrano JR, et al. Murine roseolovirus does not accelerate amyloid- β pathology and human roseoloviruses are not over-represented in Alzheimer disease brains. *Molecular Neurodegeneration*. 2022;17(1).
 60. Bazzigaluppi P, Beckett TL, Koletar MM, Hill ME, Lai A, Trivedi A, et al. Combinatorial treatment using umbilical cord perivascular cells and A β clearance rescues vascular function following transient hypertension in a rat model of Alzheimer disease. *Hypertension*. 2019;74(4):1041–51.
 61. Ruiz-Roso MB, Echeverry-Alzate V, Ruiz-Roso B, Quintela JC, Ballesteros S, Lahera V, et al. Low phytanic acid-concentrated DHA prevents cognitive deficit and regulates Alzheimer disease mediators in an ApoE $-/-$ mice experimental model. *Nutrients*. 2018;11(1).
 62. Triani F, Tramutola A, di Domenico F, Sharma N, Butterfield DA, Head E, et al. Biliverdin reductase-A impairment links brain insulin resistance with increased A β production in an animal model of aging: implications for Alzheimer disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2018;1864(10):3181–94.
 63. Knock E, Matsuzaki S, Takamura H, Satoh K, Rooke G, Han K, et al. SUMO1 impact on Alzheimer disease pathology in an amyloid-depositing mouse model. *Neurobiology of Disease*. 2018;110:154–65.
 64. Clausznitzer D, Pichardo-Almarza C, Relo AL, van Bergeijk J, van der Kam E, Laplanche L, et al. Quantitative systems pharmacology model for Alzheimer disease indicates targeting sphingolipid dysregulation as potential treatment option. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*. 2018;7(11):759–70.
 65. Li Y, Zhu K, Li N, Wang X, Xiao X, Li L, et al. Reversible GABAergic dysfunction involved in hippocampal hyperactivity predicts early-stage Alzheimer disease in a mouse model. *Alzheimer's Research and Therapy*. 2021;13(1).
 66. Rejc L, Gómez-Vallejo V, Joya A, Moreno O, Egimendia A, Castellnou P, et al. Longitudinal evaluation of a novel BChE PET tracer as an early in vivo biomarker in the brain of a mouse model for Alzheimer disease. *Theranostics*. 2021;11(13):6542–59.
 67. Kwak DE, Ko T, Koh HS, Ji YW, Shin J, Kim K, et al. Alterations of aqueous humor A β levels in A β -infused and transgenic mouse models of Alzheimer disease. *PLoS One*. 2020;15(1).
 68. Guillemaud O, Ceyzériat K, Saint-Georges T, Cambon K, Petit F, ben Haim L, et al. Complex roles for reactive astrocytes in the triple transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging*. 2020;90:135–46.
 69. Jin H, Han J, Resing D, Liu H, Yue X, Miller RL, et al. Synthesis and in vitro characterization of a P2X7 radioligand [123 I]TZ6019 and its response to neuroinflammation in a mouse model of Alzheimer disease. *European Journal of Pharmacology*. 2018;820:8–17.
 70. Du Y, Zhao Y, Li C, Zheng Q, Tian J, Li Z, et al. Inhibition of PKC δ reduces amyloid- β levels and reverses Alzheimer disease phenotypes. *Journal of Experimental Medicine*. 2018;215(6):1665–77.

71. Zhang Y, Fung ITH, Sankar P, Chen X, Robison LS, Ye L, et al. Depletion of NK cells improves cognitive function in the Alzheimer disease mouse model. *The Journal of Immunology*. 2020;205(2):502–10.
72. Sáez-Orellana F, Leroy T, Ribeiro F, Kreis A, Leroy K, Lalloyer F, et al. Regulation of PPAR α by APP in Alzheimer disease affects the pharmacological modulation of synaptic activity. *JCI Insight*. 2021;6(16).
73. Ikram M, Jo MG, Park TJ, Kim MW, Khan I, Jo MH, et al. Oral administration of gintonin protects the brains of mice against A β -induced Alzheimer disease pathology: antioxidant and anti-inflammatory effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021.
74. Hashimoto Y, Kusakari S, Nawa M, Okamoto K, Toyama Y, Matsuoka M. Restoration of the reduced CLSP activity alleviates memory impairment in Alzheimer disease. *Translational Psychiatry*. 2021;11(1).
75. Schröder N, Schaffrath A, Welter JA, Putzka T, Griep A, Ziegler P, et al. Inhibition of formyl peptide receptors improves the outcome in a mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Neuroinflammation*. 2020;17(1).
76. Yang L, Wu C, Parker E, Li Y, Dong Y, Tucker L, et al. Non-invasive photobiomodulation treatment in an Alzheimer disease-like transgenic rat model. *Theranostics*. 2022;12(5):2205–31.
77. Kavkova M, Zikmund T, Kala A, Salplachta J, Proskauer Pena SL, Kaiser J, et al. Contrast enhanced X-ray computed tomography imaging of amyloid plaques in Alzheimer disease rat model on lab based micro CT system. *Scientific Reports*. 2021;11(1).
78. Ikezu S, Ingraham Dixie KL, Koro L, Watanabe T, Kaibuchi K, Ikezu T. Tau-tubulin kinase 1 and amyloid- β peptide induce phosphorylation of collapsin response mediator protein-2 and enhance neurite degeneration in Alzheimer disease mouse models. *Acta Neuropathologica Communications*. 2020;8(1).
79. Berkowitz BA, Lenning J, Khetarpal N, Tran C, Wu JY, Berri AM, et al. In vivo imaging of prodromal hippocampus CA1 subfield oxidative stress in models of Alzheimer disease and Angelman syndrome. *FASEB Journal*. 2017;31(9):4179–86.
80. Toyonaga T, Smith LM, Finnema SJ, Gallezot JD, Naganawa M, Bini J, et al. In vivo synaptic density imaging with ¹¹C-UCB-J detects treatment effects of saracatinib in a mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Nuclear Medicine*. 2019;60(12):1780–6.
81. Schedin-Weiss S, Inoue M, Hromadkova L, Teranishi Y, Yamamoto NG, Wiehager B, et al. Monoamine oxidase B is elevated in Alzheimer disease neurons, is associated with γ -secretase and regulates neuronal amyloid β -peptide levels. *Alzheimer's Research and Therapy*. 2017;9(1).
82. Cai CZ, Zhuang XX, Zhu Q, Wu MY, Su H, Wang XJ, et al. Enhancing autophagy maturation with CCZ1-MON1A complex alleviates neuropathology and memory defects in Alzheimer disease models. *Theranostics*. 2022;12(4):1738–55.
83. Hopp SC, Bihlmeyer NA, Corradi JP, Vanderburg C, Cacace AM, Das S, et al. Neuronal calcineurin transcriptional targets parallel changes observed in Alzheimer disease brain. *Journal of Neurochemistry*. 2018;147(1):24–39.

84. Semenov VE, Zueva I v., Mukhamedyarov MA, Lushchekina S v., Petukhova EO, Gubaidullina LM, et al. Novel acetylcholinesterase inhibitors based on uracil moiety for possible treatment of Alzheimer disease. *Molecules*. 2020;25(18).
85. Wang C, Zhao F, Shen K, Wang W, Siedlak SL, Lee H gon, et al. The sterol regulatory element-binding protein 2 is dysregulated by tau alterations in Alzheimer disease. *Brain Pathology*. 2019;29(4):530–43.
86. Haft-Javaherian M, Fang L, Muse V, Schaffer CB, Nishimura N, Sabuncu MR. Deep convolutional neural networks for segmenting 3D in vivo multiphoton images of vasculature in Alzheimer disease mouse models. *PLoS ONE*. 2019;14(3).

ANEXO 1

Tabla A.1: Diferencias de sexo en la incidencia y gravedad de las afecciones neurológicas comúnmente observadas en humanos (28).

Neurological condition	Sex difference in incidence and prevalence (F : M)	Sex difference in severity or outcome	References
Attention deficit hyperactivity disorder	Higher prevalence in boys vs. girls (1:3)	Severe deficiency in motor skills and higher distractibility in boys	(Balint et al 2009, Catala-Lopez et al 2012, Cole et al 2008, Willcutt 2012)
Alzheimer's disease	Higher prevalence in women above age 65 years (1.6-3 :1)	Greater cognitive deterioration in women	(Irvine et al 2012, Plassman et al 2011, Seshadri et al 1997)
Amyotrophic lateral sclerosis	Higher prevalence in men (1:1.6), earlier onset in men. Higher risk in post-menopausal women	Worse survival for women with ALS	(del Aguila et al 2003, McCombe & Henderson 2010)
Autism Spectrum Disorders	Higher incidence and prevalence in boys (1:4)	Ambiguous and heterogeneous findings. Meta-analysis shows that females have less severe stereotyped and repetitive behaviors	(Fombonne 2003, Hattier et al 2011, Hiller et al 2015, Mandy et al 2012, Van Wijngaarden-Cremers et al 2014)
Depression and Anxiety disorder	Higher prevalence in females (2:1)	Increased severity of symptoms, higher incidence of subclinical depression in women	(Altemus et al 2014, Kessler et al 1993, Nolen-Hocksema & Girgus 1994)
Juvenile Batten's Disease	Data on incidence unclear, later onset in females	Females suffer from more severe symptoms, higher morbidity	(Cialone et al 2012)
Multiple sclerosis	More common in women (2-3 :1)	Faster progressing in men	(Confavreux et al 2003, Voskuhl & Gold 2012)
Parkinson's disease	Higher incidence in men (1:3.5)	Slower rate of decline in women	(Baldereschi et al 2000, Elbaz et al 2002)
Schizophrenia	Higher incidence in men, earlier onset too	Worse prognosis in men due to severe symptoms and poorer response to antipsychotic drugs	(Aleman et al 2003, Goldstein et al 2013, McGrath et al 2008)
Stroke	Later onset in women, higher incidence in men (1:2)	Women have less favorable outcomes after stroke and suffer from more severe physical disabilities following stroke	(Appelros et al 2009, Reeves et al 2008)