



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA MEJORA DEL APRENDIZAJE EN MODELOS ANIMALES DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Autor: D. Miguel Ángel Carmona Gómez

Director/es: Dña. Carmen Martínez Cué-Pesini

Santander, Junio 2016

ÍNDICE

Resumen	3
1. Introducción	5
2. Objetivos	7
3. Metodología	7
4. Resultados. Estado actual del conocimiento	
4.1. Prevalencia	8
4.2. Impacto económico y social	9
4.3. Sintomatología	11
4.4. Variantes de la Enfermedad de Alzheimer	12
4.5. Fisiopatología	13
4.6. Diagnóstico	16
4.7. Tratamiento. Situación actual	17
4.8. Nuevas perspectivas terapéuticas	
4.8.1. Modelos animales de la Enfermedad de Alzheimer.....	20
4.8.2. Evaluación Cognitiva en animales.....	21
4.8.3. Inmunoterapias activas.....	26
4.8.4. Vacunas génicas.....	32
4.8.5. Inmunoterapias pasivas.....	33
4.8.6. Estrategias que tienen a Tau como diana	36
4.8.7. Estrategias frente a los moduladores de las secretasas.....	37
4.8.8. BDNF como diana terapéutica.....	38
4.8.9. Estrategias dirigidas a modificar la influencia de APOE.....	39
5. Discusión de resultados y conclusiones	40
6. Bibliografía	41

7. Agradecimientos.....46

RESUMEN

Entre el 60 y 80 % del total de casos de demencia son debidos al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (EA), que se caracteriza por un deterioro de las capacidades cognitivas y funcionales y alteraciones en la conducta del paciente que se correlacionan con distintos hitos histopatológicos. La elevada prevalencia de esta patología a nivel mundial, el aumento progresivo del número de casos esperado en los próximos años y la elevada carga socioeconómica que esta enfermedad trae consigo han convertido a la EA en una verdadera epidemia y, por tanto, la búsqueda de estrategias terapéuticas eficaces se ha convertido en una prioridad. En este proceso, el paso previo a la evaluación de distintos tratamientos en el ser humano son los estudios en modelos animales. Por tanto, el presente trabajo versa sobre los hallazgos obtenidos en estudios preclínicos que han dado lugar a numerosos ensayos clínicos. A pesar de que todavía no existe una estrategia curativa o preventiva para la EA, se están abriendo continuamente nuevas líneas de investigación que, en fases preclínicas, arrojan resultados esperanzadores y que han dado lugar a que el siguiente objetivo sea confirmar que los beneficios obtenidos en modelos animales son extrapolables a los pacientes con EA.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad de Alzheimer. Ratones transgénicos. β -amiloide. Tratamiento. Modelos experimentales.

ABSTRACT

Between 60 and 80 % of the cases of dementia are due to Alzheimer's disease (AD), which is characterized by cognitive and functional impairments and alterations in the patient's behaviour that correlate with different histopathological hallmarks. The high prevalence of this pathology worldwide, the gradual increase of the cases expected in the next years and the heavy socioeconomic burden involved, have turned AD into a real epidemic and, consequently, the search for effective treatment strategies has become a priority. Before evaluating different treatments in human beings, it is necessary to assess their effectiveness and safety in animal models. Therefore, the present work summarizes some of the most relevant pre-clinical findings that have led to numerous clinical trials. Although there is not an effective curative or preventive treatment for AD currently available, many new lines of research are constantly being developed and, in pre-clinical phases, some of them have shown encouraging results. Therefore, the next objective in AD research is to prove that the benefits obtained in animal models could be extrapolated to patients with this disease.

KEYWORDS: Alzheimer's disease. Transgenic mice. β -amyloid. Treatment. Experimental models.

-¿Cómo se llama?

-Auguste.

-¿Apellido?

-Auguste.

-¿Cómo se llama su marido?

-Creo que Auguste.

-¿Su marido?

-Ah, bueno, mi marido...

-¿Está casada?

-En Auguste.

-¿Señora Deter?

-Sí, en Auguste.

Extracto del texto del Dr. Alois Alzheimer (Maurer y Maurer, 2006)

1. INTRODUCCIÓN

El día 3 de noviembre del año 1906, el patólogo y psiquiatra alemán Alois Alzheimer presentó durante la XXXVII Conferencia de Psiquiatría de la Alemania Suroccidental, un trabajo titulado “Sobre un proceso patológico peculiar grave de la corteza cerebral” que pasaría a ser la primera descripción científica sobre la demencia de tipo Alzheimer.

El 25 de noviembre de 1901, ingresó en la Institución para Enfermos Mentales y Epilépticos de Frankfurt una paciente de 51 años, Auguste D., a la que Alzheimer entrevistó y exploró en repetidas ocasiones (**Fig. 1**). El resumen del historial clínico realizado por Alzheimer refiere de la siguiente forma el cuadro clínico y la evolución de la paciente (Maurer y Maurer, 2006):

«Siempre sana, felizmente casada, hija única, sin trastorno alguno.

Cambios desde hace medio año. Delirio celotípico. Disminución de la memoria, muchas veces al preparar la comida. Trajina por la casa sin sentido. Miedo a personas muy conocidas. Esconde todo tipo de objetos que luego no es capaz de encontrar. Parece totalmente perdida. Temporal y espacialmente desorientada por completo.

[...] Arroja agua a la cara de otros enfermos en la sala común, a las preguntas que se le formulan responde que quiere limpiar. [...] Parece sufrir alucinaciones. A veces, como en un delirio ocupacional, lleva sábanas de un lado a otro, quiere ordenarlo todo.»



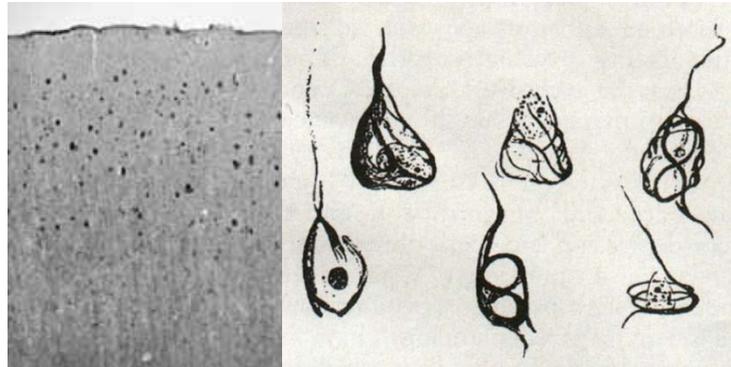
Figura 1. A la izquierda, el doctor Alois Alzheimer (1864-1915). A la derecha, Auguste D, la primera paciente reconocida con este tipo de demencia, en una foto tomada en noviembre de 1902.

En su último año de vida, Auguste permaneció acurrucada en la cama, rechazaba todo y hablaba de manera incomprensible. Murió tras cuatro años de enfermedad en el hospital por complicaciones de una úlcera en decúbito.

Alzheimer solicitó permiso para realizar un estudio histopatológico de las muestras de su cerebro obtenidas en la autopsia.

Los resultados mostraron «una atrofia de la corteza con citolisis generalizada, una patología extraña de las neurofibrillas, fuertes excrescencias de la neuroglia fibrosa y

numerosas células gliales con forma de varilla, además de sedimentos de productos metabólicos en forma de placas en toda la corteza cerebral, con signos leves de neovascularización. Las alteraciones descritas de las neurofibrillas son mucho más pronunciadas que las encontradas en pacientes de edad mucho más avanzada» (**Fig. 2**)



. **Figura 2.** Preparación histológica del cerebro de Auguste D. (izquierda). Representación por Alois Alzheimer de los ovillos neurofibrilares que visualizó en las muestras de la misma paciente (derecha).

Un siglo después de que este médico alemán describiera por primera vez esta patología, la enfermedad de Alzheimer (EA) se ha convertido en la demencia más comúnmente diagnosticada en edades avanzadas, comprendiendo entre el 60 y el 80 % de los casos de demencia (**Fig. 3**). Aproximadamente la mitad de los pacientes diagnosticados con EA tienen exclusivamente sintomatología de esta enfermedad, mientras que el resto presentan síntomas de otras patologías asociadas a esta.

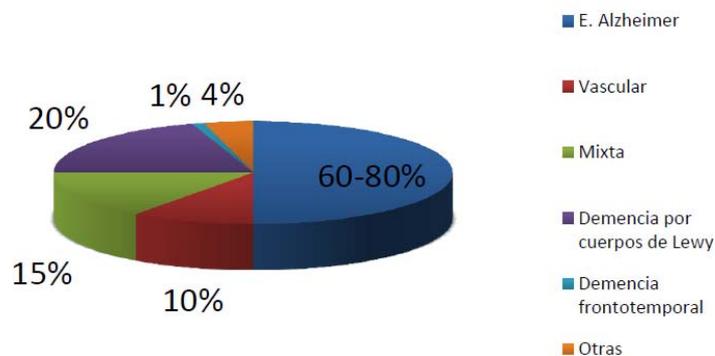


Figura 3. Prevalencia de los diferentes tipos de demencia (Prieto et al. 2011).

Dada su importancia epidemiológica, así como la falta de tratamientos que modifiquen el curso de la enfermedad, en este trabajo se describirán diferentes estrategias y fármacos cuya eficacia se está investigando en modelos animales de EA, haciendo mayor hincapié en las técnicas más prometedoras y en los beneficios que producen en éstos con vistas a ser aplicadas en un futuro en personas con este tipo de demencia.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es ofrecer una visión global de las diferentes estrategias terapéuticas que se están aplicando en la actualidad en EA así como de las líneas de investigación que han dado lugar a estrategias que han demostrado ser eficaces en fases preclínicas, prestando especial atención a las mejorías cognitivas producidas en modelos animales.

3. METODOLOGÍA

Este trabajo es una revisión de las estrategias terapéuticas probadas en modelos animales de EA y que han demostrado producir una mejoría cognitiva estadísticamente significativa con respecto a otro grupo de animales de idénticas características pero al que no se administró el compuesto objeto de estudio.

Para la elaboración del trabajo se han consultado diferentes publicaciones escritas tanto en castellano como en inglés y obtenidas mediante la utilización de la base de datos PubMed. Los conceptos que se utilizaron para la búsqueda de información variaban según el punto del trabajo a tratar, siendo los términos más repetidos “Alzheimer”, “preclinical”, “cognition”, “treatment”, “immunotherapy”, “mice” y “ β -amyloid”.

Para la selección de los artículos con los que se ha elaborado esta revisión se han utilizado los siguientes criterios de inclusión:

- El contenido de la revista debería ser en inglés o español.
- El acceso completo a los artículos debía de ser gratuito.
- Las fuentes de información debían ser fiables y los trabajos de calidad, por lo que se excluyeron aquellos trabajos publicados en revistas cuyo factor de impacto fuera menor a 0,3.

4. RESULTADOS. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

4.1. PREVALENCIA

En 2010 se estimaba que en el mundo había 36 millones de personas con cualquier tipo de demencia, de las que el 60-80 % correspondía a pacientes con EA. Debido al incremento progresivo de la esperanza de vida, se calcula que en los próximos 20 años esta cifra se habrá casi duplicado (66 millones) y para 2050 se estima que el número de personas con EA ascenderá a 115 millones (**Fig. 4**).

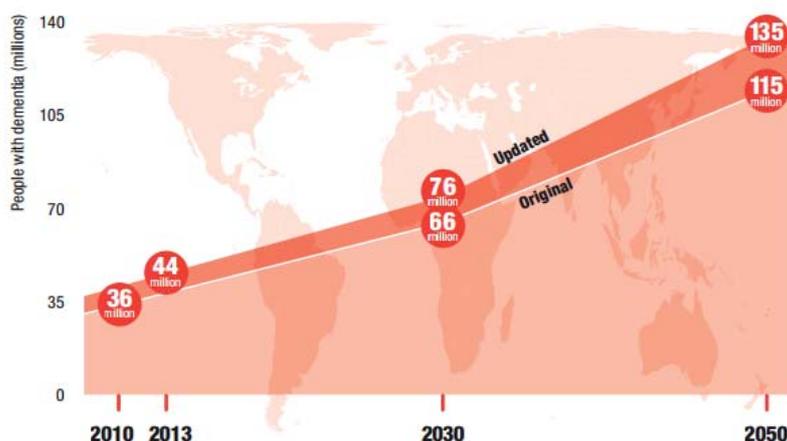


Figura 4. Estimación del incremento del número de personas con demencia a nivel mundial. (<http://www.alz.co.uk/research/GlobalImpactDementia2013.pdf>)

El 58 % de los afectados por la EA, viven en países pobres y de nivel medio de desarrollo, donde la preocupación por estos tipos de patología es escasa y el sistema sanitario, así como las condiciones sociales, son bastante precarias. Por tanto, a pesar de que en los próximos años se producirá un aumento en el número total de casos de EA a nivel mundial este aumento no será uniforme. Las diferencias tanto económicas como sociales, darán lugar a una reducción en el número de casos diagnosticados en países ricos y a un incremento en países pobres o en vías de desarrollo (**Fig. 5**).

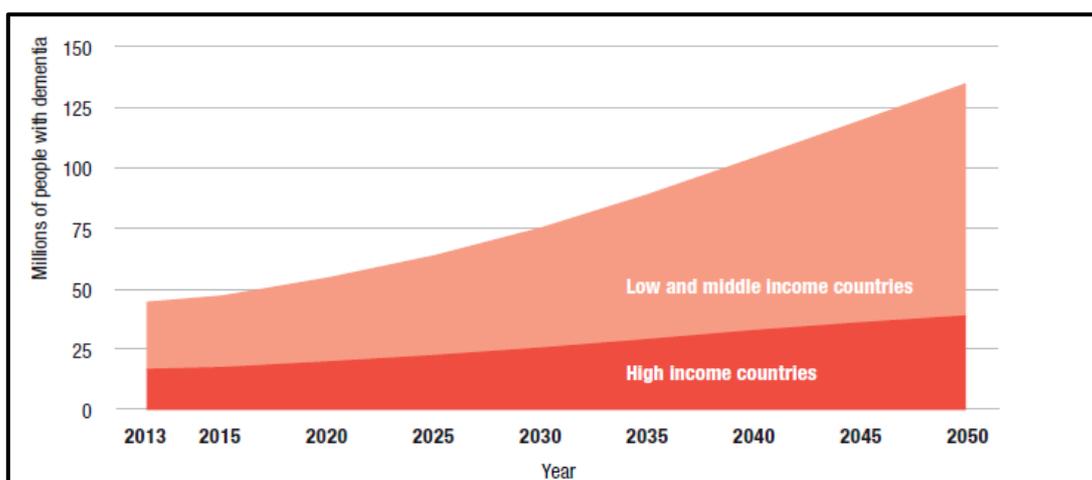


Figura 5. Número de personas con demencia en países de alto y bajo nivel de desarrollo. (<http://www.alz.co.uk/research/GlobalImpactDementia2013.pdf>)

4.2. IMPACTO ECONÓMICO Y SOCIAL

Los tratamientos sanitarios destinados al cuidado de los enfermos de EA suponen un gasto de 604.000 millones de dólares a nivel mundial, mientras que en España ascienden a 37.000 millones de euros anuales.

Estos gastos económicos pueden ser clasificados en (**Tabla 2**):

- **Costes económicos directos.** Son aquellos gastos cuantificables y que se derivan directamente del cuidado del paciente. Este tipo de gasto incluye el sanitario (farmacéutico y utilización de otros recursos sanitarios, tales como atención médica y estudios complementarios y centros de día), el derivado de la atención domiciliaria reglada y de la institucionalización y el derivado de aspectos técnicos como la remodelación de las viviendas o el transporte sanitario.
- **Costes económicos indirectos.** Estos gastos corresponden a servicios no reembolsables tales como el tiempo dedicado al cuidado del paciente por parte de su entorno familiar, la pérdida de productividad tanto del paciente como de sus cuidadores o los gastos sanitarios derivados de la carga del cuidador.

Tabla 1. Costes económicos de la EA (Prieto et al., 2011).

GASTOS DIRECTOS			GASTOS INDIRECTOS
SANITARIO	TRATAMIENTOS		TIEMPO DE CUIDADOR INFORMAL. Formas de cuantificación: •Salario de sustitución •Coste de oportunidad •Tiempo de ocio
	OTROS RECURSOS	CONSULTAS EXTERNAS	
		HOSPITAL Y URGENCIA	
CENTROS DE DÍA			
ASISTENCIA DOMICILIARIA PROFESIONAL			
ASPECTOS TÉCNICOS: REMODELACIÓN HOGAR			
COMPRA DE MATERIALES			

En términos de coste total para la sociedad, la EA se sitúa, en Estados Unidos, en tercer lugar por detrás del cáncer y las enfermedades cardíacas.

En las fases más tempranas de esta enfermedad el gasto indirecto supera al gasto directo, de modo que el 70% de los gastos derivan del cuidado informal. Además, se estima que el 87% del coste total de los gastos asociados al cuidado del enfermo lo asume la familia de éste (**Fig. 6**). Por el contrario, en fases avanzadas, el mayor gasto deriva de la institucionalización, estando así el gasto directo por encima del indirecto.

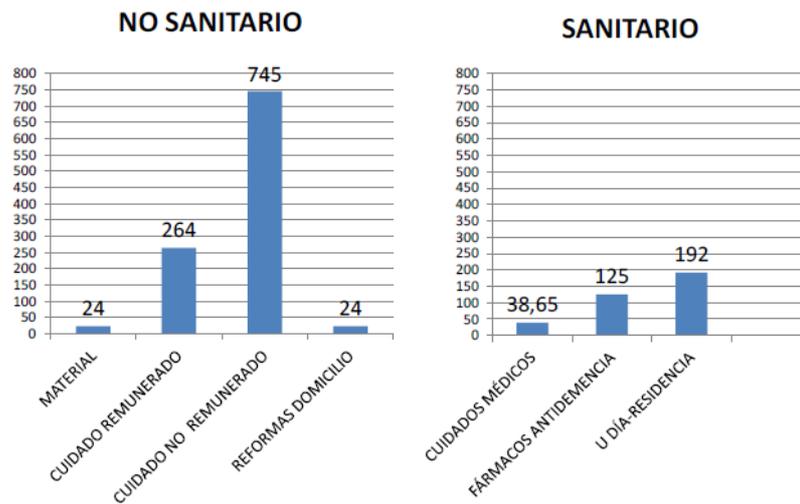


Figura 6. Coste medio mensual en euros derivado de los cuidados al enfermo con EA (Prieto et al., 2011).

En cuanto a la **repercusión familiar**, el tiempo y la atención que el paciente requiere por parte de su entorno es enorme. Se estima que los familiares deben emplear una media de 70 horas semanales al cuidado del enfermo. Esto provoca una situación de sobrecarga para los cuidadores con un marcado aumento de la frecuencia de enfermedades psicológicas y físicas. Estas personas suelen tener mayores niveles de depresión y ansiedad, síntomas somáticos, sensación de aislamiento social, peores niveles de salud auto-percibida y, además, precisan de atención psicológica y suelen consumir fármacos psicotrópicos más frecuentemente que la población general.

Así pues, los costes asociados a la EA no se deben meramente a las grandes cantidades económicas que se emplean en el manejo de la enfermedad sino también a la repercusión que esta patología ejerce sobre el entorno del paciente. Por tanto, la EA no solo es padecida por el enfermo sino también por su entorno familiar.

4.3 SINTOMATOLOGÍA

La EA cursa con tres fases, cada una de las cuales dura habitualmente unos 3 años (Farreras et al., 2012):

Fase inicial. En esta fase el síntoma dominante es la **pérdida de memoria episódica verbal** y de la capacidad tanto de retener nueva información como de recordar aquella recientemente aprendida. Aparecen dificultades para mantener un nivel mínimo de atención, de solucionar problemas, usar palabras, orientarse visuoespacialmente (se pierden en la calle) y para realizar actos de manera programada. El enfermo se equivoca al decir la fecha o al preguntarle por el lugar en el que está en ese momento. Muestra una pasividad manifiesta y pierde espontaneidad. El paciente puede ser plenamente consciente de los síntomas o presentar anosognosia. En general, durante unos meses presenta un aspecto aparentemente normal para la gente que le rodea, por lo que será difícil que se aprecien cambios en el comportamiento a no ser que se trate de un observador que haya tenido un contacto estrecho a lo largo de su vida con el enfermo.

Durante la **fase intermedia** se agudizan los **trastornos de memoria** y aumentan los **problemas del lenguaje**. Pueden aparecer síntomas psiquiátricos como depresión, ansiedad, agitación, ideas delirantes, agresividad, insomnio, alucinaciones visuales, desinhibición sexual o falsos reconocimientos. El enfermo ya no usa apropiadamente el dinero o el teléfono, si conduce un automóvil tiene riesgo de sufrir accidentes, pierde habilidades culinarias y de manejo de los electrodomésticos, habla con las personas que ve en la televisión o consigo mismo frente al espejo y comienza a hacerse dependiente de un cuidador para actividades como asearse, vestirse o salir de paseo.

En la **fase avanzada** se agravan las dificultades para entender el lenguaje, escribir o leer. El paciente va perdiendo de forma progresiva el habla. Se acentúan los síntomas conductuales y psiquiátricos. La dependencia se va acentuando hasta llegar a ser total para las actividades básicas de la vida diaria y se instaura un estado de incontinencia tanto anal como vesical.

En el estadio final de la EA el paciente pierde la motilidad, acaba postrado en la cama, adoptando posición fetal y suele morir por infecciones de origen respiratorio, urinario o por complicaciones de las úlceras en decúbito. La vida emocional de estos enfermos, incluso en la fase avanzada, se mantiene en un nivel básico (hecho que debe conocerse al ofrecerles los cuidados y el respeto necesarios) y frecuentemente presentan ciertos destellos de lucidez.

4.4. VARIANTES DE LA ENFERMEDAD

Se distinguen clásicamente dos formas de la EA (Ávila de Grado, 2002):

La **forma común, esporádica o tardía** de la EA se suele manifestar a partir de los 65 años y representa más del 94% de los casos. Su etiología es multifactorial, es decir deben concurrir varios factores para que se desarrolle la enfermedad. El principal factor de riesgo es la edad, la probabilidad de padecer EA aumenta según se va envejeciendo.

Está comprobado que poseer la variante alélica ϵ -4 del gen de la apolipoproteína E (*APOE*) multiplica el riesgo de sufrir este tipo de demencia. Además de la edad y los factores genéticos, se conocen otros moduladores del riesgo de desarrollar EA de tipo esporádico. Por ejemplo, un estilo de vida activo, tanto en el terreno intelectual como en el físico, está asociado a un menor riesgo de padecer esta enfermedad. Por el contrario, sufrir un traumatismo craneoencefálico moderado o severo incrementa las posibilidades de aparición de esta patología. (Ávila de Grado, 2002)

Por otra parte, la **forma precoz o familiar** de EA (EAF) representa aproximadamente entre el 1 y el 6% de los casos y comienza a manifestarse entre los 30 y 65 años. La manifestación tan temprana de la enfermedad es consecuencia de la transmisión autosómica dominante de alteraciones en diferentes genes. Estas mutaciones poseen un alto grado de penetrancia y dan lugar a un marcado aumento en la producción de los péptidos β -amiloides ($A\beta$). Algunas de las mutaciones conocidas se producen en el gen de la proteína APOE (brazo largo del cromosoma 19), en los genes presenilina 1 (*PS1*, cromosoma 14) y presenilina 2 (*PS2*, cromosoma 1) que codifican dos subunidades de la enzima γ -secretasa encargada del procesamiento del $A\beta$ (**Tabla 2**)

Tabla 2. Factores genéticos y metabólicos involucrados en la etiopatogenia de la EA (García et al., 2009).

Cromosoma involucrado	Producto metabólico	Alteración	Repercusión metabólica	Asociación con la presentación de EA
21	PPA	Sobreproducción	aumento de APP, $A\beta$	Temprano
14	Presenilina 1	Aumentada	$A\beta$ 1-42	Temprano
1	Presenilina 2	Aumentada	$A\beta$ 1-42	Temprano
19	Apolipoproteína E4	Aumentada	Agregación $A\beta$	Tardío

Ambas variantes de la EA son clínica e histológicamente indistinguibles, por esta razón, parece que en ambos grupos están implicadas las mismas alteraciones en los mismos genes y las mismas proteínas.

4.5. FISIOPATOLOGÍA

Las dos lesiones clásicas que caracterizan la enfermedad y proporcionan la base de su diagnóstico diferencial *post-mortem* ya fueron descritas por Alois Alzheimer en 1907: los **ovillos neurofibrilares** y las **placas seniles** en el tejido cerebral. La presencia de estos hitos histopatológicos ha dado lugar al diagnóstico anatomopatológico de la enfermedad que se divide en una serie de estadios, los estadios de Braak (Pesini, 2014). La EA también se acompaña de degeneración de distintas poblaciones neuronales (en especial la colinérgica y noradrenérgica), una disminución en los niveles de algunas proteínas y alteraciones en los sistemas de neurotransmisión en la corteza cerebral. El más afectado es el sistema colinérgico, ya que estos pacientes presentan menores niveles de acetilcolina, de colina-acetiltransferasa y de receptores colinérgicos nicotínicos.

Los ovillos neurofibrilares están formados por neurofilamentos «prensados» compuestos de la proteína Tau hiperfosforilada y que asume la forma de filamentos helicoidales en pares. Tau es una proteína que participa en el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos que portan las organelas celulares y glucoproteínas. La variante hiperfosforilada de Tau impide su unión a los microtúbulos, dejando así de ejercer su función y produciendo una acumulación de ovillos que dará pie a deterioro de las funciones cognitivas.

Por otro lado, las placas seniles están constituidas por cúmulos de A β que son péptidos de 39-42 aminoácidos que se obtienen de procedimientos proteolíticos de una proteína transmembrana mayor, la **proteína precursora de amiloide (APP)**. APP tiene dos vías principales de eliminación.

La vía no amiloidogénica (**Fig. 7**) se inicia por la acción de una α -secretasa, que corta al segmento β de la proteína APP en dos partes iguales. Mientras que la γ -secretasa divide al dominio transmembrana de la APP. Esta vía da lugar a fragmentos solubles no patógenos.

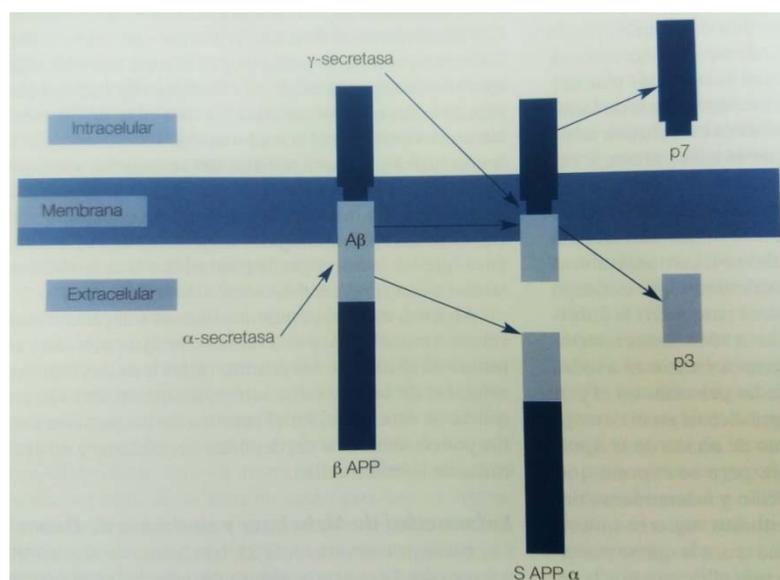


Figura 7. Vía no amiloidogénica en el metabolismo de la β -APP. La acción inicial de la α -secretasa seguida de la de la γ -secretasa da lugar a fragmentos solubles no amiloidogénicos (Zarranz, 2012).

Sin embargo, en la vía amiloidogénica (**Fig. 8**), en lugar de predominar la actividad α -secretasa, predomina la de la **β -secretasa**. El corte de la β - y la γ -secretasa libera el péptido $A\beta$ que, cuando es intracelular, se elimina por la acción de la nefilisina pero cuando se deposita extracelularmente es insoluble, puede formar polímeros y agregarse en forma de placas. PS1 y PS2 actúan modulando la γ -secretasa o incluso ejerciendo su función y esa es la base del incremento de la amiloidogénesis en pacientes portadores de mutaciones en los genes *PS1* y *PS2* (Zarranz, 2012).

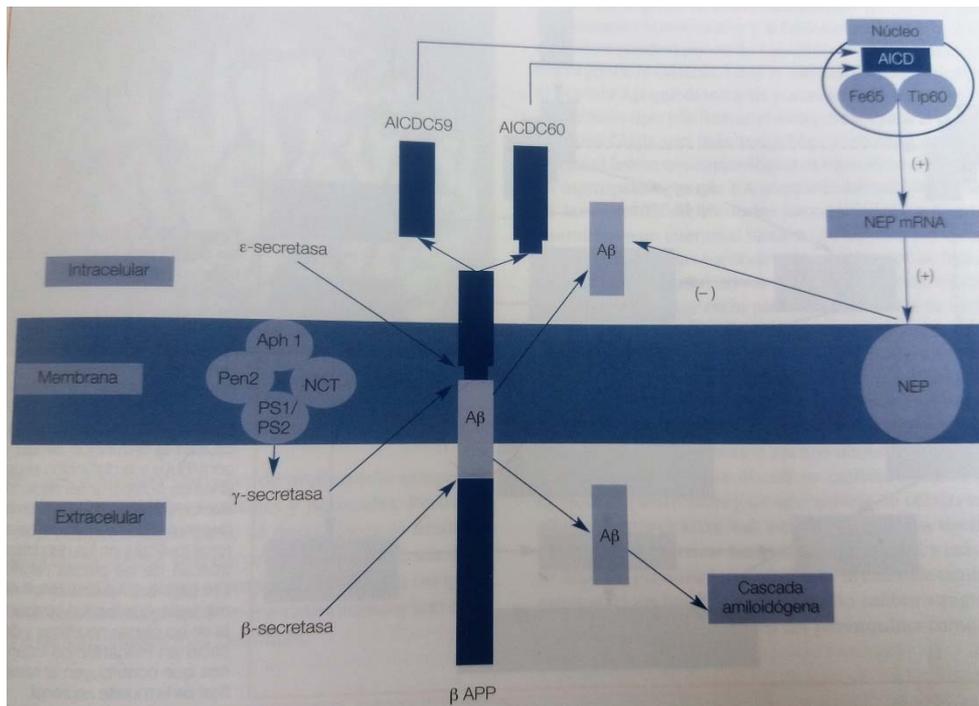


Figura 8. Vía amiloidogénica en el metabolismo de la β -APP. La acción inicial de la β -secretasa seguida de la γ -secretasa da lugar al fragmento $A\beta$. La acción de la ϵ -secretasa da lugar a dos fragmentos que son transportados al núcleo, donde forman con otras moléculas un complejo que activa el RNA mensajero de la nefilisina y éste incrementa su expresión. La nefilisina degrada el fragmento $A\beta$ intracelular. Sin embargo, el mismo fragmento $A\beta$ extracelular es insoluble e inicia la cascada amiloidogénica (Zarranz, 2012).

El depósito de los péptidos $A\beta$ es uno de los principales hitos en la patogénesis de la EA. Este depósito anormal va acompañado de una cascada de cambios intra y extraneuronales que culminan con la muerte celular. La **Tabla 3** resume estos cambios.

Tabla 3. Factores involucrados en la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer. (Ávila de Grado, 2002)

FACTORES GENÉTICOS	Mutaciones en <i>APP</i> Proteínas Tau <i>ApoE E4</i>
FACTORES BIOQUÍMICOS	Inflamación Radicales libres Calcio y sodio Déficit de factores de crecimiento neural Deficiencia estrogénica
ALTERACIÓN EN LOS NEUROTRASMISORES	Acetilcolina Noradrenalina Serotonina Dopamina GABA Glutamato

4.6. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EA en un paciente vivo es puramente clínico. Los pasos para llegar a un diagnóstico certero incluyen la realización de una **anamnesis**, no solo al propio paciente sino también a la persona que vive con él y le conoce, y de una **exploración general y neurológica** minuciosa acompañada de una evaluación completa del estado mental. Para esto último la prueba más utilizada es el **Mini-Mental State Examination**.

La EA comienza con un **largo período asintomático** durante el cual se empiezan a producir y progresan los cambios fisiopatológicos. En esta etapa, los sujetos son clínicamente normales pero presentan alteraciones fisiopatológicas típicas de la EA que se evidencian a través del análisis de distintos biomarcadores que detectan cambios en los niveles de **A β** , de **tau** o **lesión neuronal** (Farreras et al., 2012). En concreto, son indicadores de alteraciones fisiopatológicas:

- Los niveles bajos de A β 42 en líquido cefalorraquídeo (LCR) o sangre o la evidencia de depósitos de A β en el cerebro detectada mediante tomografía de emisión de positrones (PET).
- Un aumento de la cantidad de **tau total** o de **tau fosforilada** en el LCR.
- La medida del **grado de lesión neuronal**, como la atrofia cerebral hipocampal (detectada mediante resonancia magnética o RM), el hipometabolismo bilateral en la corteza de asociación parietotemporal (PET) o la hipoperfusión (comprobado mediante tomografía computarizada de emisión monofotónica o SPECT).
- Cambios bioquímicos relacionados con otros procesos, como la muerte celular, el daño sináptico, el estrés oxidativo o la inflamación, que pueden formar parte de la cascada de eventos patológicos en la EA.

Para el diagnóstico de la EA se han establecido tres estadios diagnósticos: **EA preclínica**, **deterioro cognitivo ligero debido a EA** y **demencia debida a EA** (Farreras et al., 2012).

4.7. TRATAMIENTO. SITUACIÓN ACTUAL

Los **tratamientos farmacológicos** específicos para la EA disponibles, son de carácter paliativo o sintomático de modo que en la actualidad, no es posible actuar directamente sobre la progresión de la enfermedad. Estos tratamientos se clasifican en función de su mecanismo de acción.

Por un lado se encuentra una serie de fármacos que actúan aumentando la biodisponibilidad de los neurotransmisores que disminuyen en esta patología, principalmente la acetilcolina. Entre ellos se encuentran los **precursores de la acetilcolina**, los **agonistas del receptor colinérgico** y, fundamentalmente, los **inhibidores de la acetilcolinesterasa**. Estos últimos constituyen la base del tratamiento inicial junto a la memantina y se suelen administrar durante tres o cuatro años, dado que se desarrolla tolerancia a estos fármacos.

Los inhibidores de la acetilcolinesterasa, aumentan la biodisponibilidad sináptica de la acetilcolina al inhibir su catabolismo. Los tres fármacos de este grupo aceptados para el tratamiento de la EA son el donepezilo, la rivastigmina y la galantamina. El **donepezilo** tiene la ventaja de ser pautaado en monodosis nocturna de 5 a 10 mg. La **rivastigmina**, que inhibe tanto la acetil como la butirilcolinesterasa, se administra a dosis de 6 mg dos veces al día y puede usarse en parches transdérmicos en monodosis diaria. Por último, la **galantamina**, además de inhibir la acetilcolinesterasa, es un modulador del receptor nicotínico y se emplea una dosis de 24 mg diaria en función de la tolerancia. No hay evidencias de que un fármaco sea más eficaz que otro en el tratamiento de la EA, por lo que se debe escoger el medicamento que mejor se adapte a las características del paciente. Todos están indicados en las fases leve y moderada de la enfermedad, mejoran de manera discreta y transitoria la función cognitiva, los síntomas psiquiátricos y la dependencia del cuidador. Probablemente presenten también algo de eficacia en las fases más avanzadas de la enfermedad. Suelen asociarse a la memantina (Farreras et al., 2012).

Los efectos secundarios más comunes de este grupo de fármacos son anorexia, dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea, cefalea, alteraciones del sueño (sueños anómalos e insomnio), astenia, fatiga, mareos, vértigos y calambres.

El otro fármaco utilizado para el tratamiento de la EA, la **memantina**, tiene un mecanismo de acción completamente diferente a los anteriores, ya que actúa sobre los neurotransmisores citotóxicos, fundamentalmente el glutamato. La memantina, es un antagonista parcial del receptor glutamatérgico NMDA y actúa equilibrando la neurotransmisión excitadora y permitiendo la actividad fisiológica evitando tanto la sub- como la sobre-excitación. Se puede asociar con los inhibidores de la acetilcolinesterasa y entre sus efectos adversos destacan las alucinaciones, confusión, vértigos, astenia y fatiga (**Tabla 4**).

Dado que la mayoría de los pacientes con EA presentan síntomas conductuales de carácter no cognitivo, a menudo es necesario utilizar fármacos coadyuvantes para paliar estos síntomas. A aquellos pacientes que presentan síntomas de depresión se les suele prescribir inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (citalopram,

sertralina), benzodiazepinas para los que muestran ansiedad, hipnóticos (zopiclona ó zolpidem) para tratar el insomnio, anticonvulsivantes para los síntomas maniformes y, finalmente, si existen síntomas psicóticos, se tratarán con neurolépticos atípicos.

Tabla 4. Características de los principales fármacos utilizados para tratamiento sintomático en EA (González Rodríguez et al., 2004).

	Donepezilo	Galantamina	Rivastigmina	Memantina
Tipo de compuesto	Piperidina	Alcaloide del fenantreno	Carbamato	Antagonista de la vía del glutamato
Inhibición	Reversible	Reversible	Pseudoirreversible	No competitiva
Administración	Oral	Oral	Oral	Oral
Frecuencia de administración	Una vez al día	Dos veces al día	Dos veces al día	Dos veces al día
Pauta de inicio de tratamiento	5 mg/día, en la noche Tras 4-6 semanas, aumentar a 10 mg/día	4 mg 2v/día durante 4 semanas Aumentar 8 mg/día cada 4 semanas hasta un máximo de 12 mg 2v/día	1,5 mg 2 v/día durante 2 semanas Aumentar 3 mg/día cada 2 semanas hasta una dosis máxima de 6 mg 2 v/día	Dosis mínima eficaz de 20 mg/día, comenzando con 5 mg/día y añadiendo 5 mg cada semana
Dosis de mantenimiento (mg/día)	5-10	16-24	6-12	20
Tolerabilidad (frente a placebo)	Náuseas 11% (6%) Diarrea 10% (5%) Insomnio 9% (6%) Vómitos 5% (3%) Mareos 8% (6%)	Náuseas 24% (9%) Diarrea 9% (7%) Insomnio 5% (4%) Vómitos 13% (4%) Mareos 9% (6%)	Náuseas 47% (12%) Diarrea 19% (11%) Insomnio 5% (3%) Vómitos 31% (6%) Mareos 21% (11%)	Interacciona con dextrometorfano, diuréticos, ranitidina, cimetidina, amantadina (grave) Quinidina, quinina y nicotina

En la EA el tratamiento farmacológico debe ir acompañado de terapias no farmacológicas. Estas intervenciones de rehabilitación neuropsicológica tienen su base en los conceptos de **neuroplasticidad** y de **psicoestimulación** (González Rodríguez et al., 2004). Se pueden realizar mediante programas sistematizados de intervención (talleres de memoria y de actividades instrumentales de la vida diaria, de psicoestimulación cognitiva, de psicoexpresión, talleres ocupacionales, etc.) o bien mediante técnicas aisladas de rehabilitación cognitiva tales como entrenamiento mnemotécnico, la terapia de reminiscencia, la modificación de conducta, la terapia de orientación a la realidad (temporal, espacial y personal) o la modificación ambiental. Estas técnicas son útiles para disminuir la frecuencia e intensidad de los síntomas no cognitivos y para mantener un mejor nivel de funcionalidad. Las intervenciones no farmacológicas para el tratamiento de los síntomas no cognitivos en las demencias se pueden dividir en dos grandes grupos: técnicas de modificación de conducta, orientadas a la resolución de problemas concretos (trastornos de la conducta, etc.) y los abordajes estructurados, basados en la realización de técnicas específicas como la orientación a la realidad, la reminiscencia, la validación afectiva, etc.

Estas intervenciones han demostrado ser útiles para disminuir la incidencia y gravedad de los problemas psicológicos y de conducta de los enfermos y retrasar su institucionalización.

CONSIDERACIONES SOBRE EL TRATAMIENTO ACTUAL DE LA EA

- En la actualidad no hay ningún tratamiento preventivo o que frene la progresión de la EA.
- El deterioro cognitivo ligero no se debe tratar con fármacos.
- Las medidas no farmacológicas son el primer escalón del tratamiento de la EA y deben mantenerse aunque se indique un tratamiento farmacológico.
- El tratamiento farmacológico de la EA tiene una utilidad y eficacia muy limitada.
- Se debe considerar la interrupción del tratamiento con inhibidores de la acetilcolinesterasa cuando no hay beneficio.
- Para algunos síntomas no cognitivos pueden ser útiles los antipsicóticos pero deben valorarse sus posibles efectos adversos.
- El coste del tratamiento con inhibidores de la acetilcolinesterasa o con memantina es muy alto.
- Debido a su escasa eficacia, y a la nula repercusión sobre la progresión de la enfermedad, se debe seleccionar cuidadosamente a los pacientes a los que se ha de administrar el tratamiento.

4.8. NUEVAS PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS

Antes de abordar el análisis de los principales estudios que se han realizado en modelos animales de EA sobre la eficacia de distintas estrategias terapéuticas, es preciso aclarar una serie de conceptos que ayudarán a interpretar estos estudios.

4.8.1. MODELOS ANIMALES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

El ratón es uno de los animales más utilizados en los estudios preclínicos debido a su fácil crianza y manipulación y a que comparte con el ser humano numerosas características bioquímicas, neuroanatómicas, conductuales y genéticas, siendo la homología genómica entre ambas especies de un 99 %.

Sin embargo, en el caso de la investigación en la EA, el ratón silvestre presenta una serie de características que no les hacen idóneos como sujetos de estudio de dicha patología, tales como su escala longevidad o la diferencia de las secuencias de sus péptidos A β con respecto a las de los seres humanos.

Por estas razones se han **desarrollado diferentes modelos de ratones** manipulados genéticamente que constituyen una potente herramienta con la que evaluar nuevas estrategias terapéuticas. Estos ratones presentan las principales alteraciones fenotípicas encontradas en pacientes con EA. Por tanto, son modelos mucho más adecuados para poder adquirir nuevos conocimientos sobre la etiopatología y tratamiento de este trastorno y aplicar los hallazgos al desarrollo de posibles ensayos clínicos

Son dos los procedimientos que se han utilizado más frecuentemente para generar ratones manipulados genéticamente. Por un lado, se puede obtener **ratones transgénicos que sobreexpresen uno o varios genes**, mediante la inserción de un gen extraño (transgen) en el genoma de estos. Y por otro lado, se puede utilizar la técnica denominada *gene targeting* que consiste en la modificación selectiva de secuencias genómicas específicas mediante distintos métodos (recombinación homóloga, virus, irradiación, etc.). El *gene targeting* tiene dos variantes. En una de ellas **se inhibe la expresión de un gen** obteniéndose ratones **knock-out**, mientras que en la otra se reemplaza un gen endógeno por otro exógeno (ratones **knock-in**). Utilizando estos procedimientos se han generado numerosos modelos de ratones transgénicos que sobreexpresan la proteína APP humana o formas mutadas de esta proteína presentes en algunas personas con EA). También se han generado ratones que sobreexpresan o presentan mutaciones de los genes **PS, Tau o APOE** y, por último, ratones triples transgénicos (3 x Tg AD) que presentan mutaciones de los genes *APP, PS y Tau*). Estos ratones presentan los principales déficits cognitivos y las alteraciones neuropatológicas encontrados en la EA (García et al., 2009; Pesini, 2014). Para una revisión detallada de los numerosos modelos murinos utilizados en la investigación de esta enfermedad, así como sus principales características fenotípicas (ver Rueda y Martínez-Cué 2015)

4.8.2. EVALUACIÓN COGNITIVA EN ANIMALES:

Para determinar si las distintas estrategias terapéuticas revierten los déficits cognitivos encontradas en los diversos modelos animales de EA se utilizan distintas pruebas de aprendizaje y memoria. A continuación se describirá brevemente las pruebas más comúnmente utilizadas para este propósito (Navarrete et al., 2008):

1- Prueba de reconocimiento de objetos:

Esta prueba consiste en exponer al ratón a una serie de objetos y evaluar la capacidad que tiene para recordarlos. En un primer ensayo el ratón los explorará durante un tiempo determinado (**Fig. 9**). A continuación se cambia uno de los objetos y se evalúa el tiempo que los animales interactúan con los objetos conocidos (a los que estuvieron expuestos durante el entrenamiento) y con el nuevo objeto. Dado que la tendencia natural de los ratones es explorar objetos y espacios nuevos, un ratón con capacidades de aprendizaje intactas interactuará más durante la sesión de test con el nuevo objeto. Sin embargo, un ratón que no recuerda a qué objetos ha estado expuesto interactuará de manera similar objetos conocidos y nuevos, como es el caso en diversos modelos animales de EA.

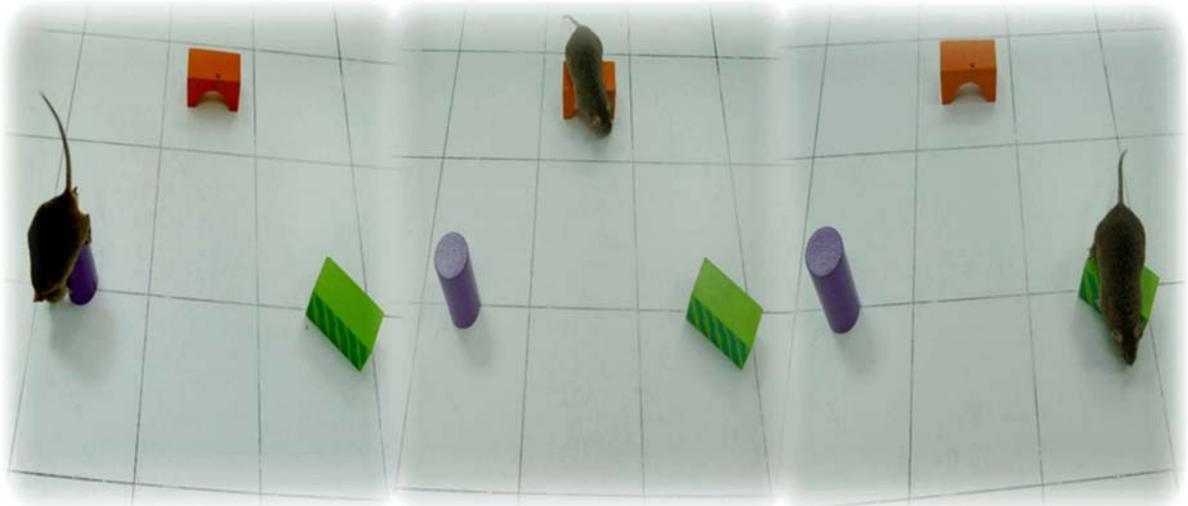


Fig 9. Entrenamiento de un ratón en la prueba de reconocimiento de objetos.

2- Prueba de reconocimiento social:

Esta prueba se basa en los mismos principios que la anterior pero en lugar de exponer al sujeto experimental a objetos inanimados se les presenta otros congéneres familiares o desconocidos (**Fig 10**). Un ratón normal explorará e interactuará más con aquellos ratones con los que no ha tenido contacto anterior mientras que la mayoría de modelos animales de EA no muestran preferencia por ninguno de los dos lo que indica que no recuerda anteriores exposiciones al ratón familiar.

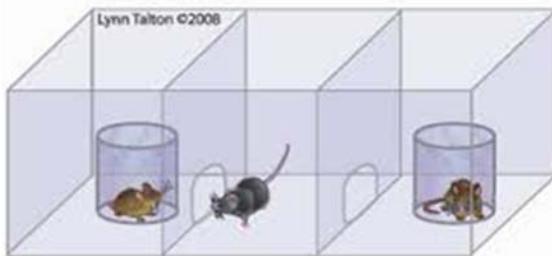


Fig 10. Aparato de interacción social (<http://btc.psych.ucla.edu/socinteract.htm>).

3- Laberinto acuático de Morris:

El test del laberinto acuático de Morris es una prueba de aprendizaje espacial dependiente del hipocampo, estructura especialmente deteriorada en la EA. La prueba se lleva a cabo en una piscina circular dividida en cuatro cuadrantes que dispone de una plataforma que está oculta 1 cm por debajo del nivel del agua de manera que los ratones no pueden verla mientras nadan (**Fig 11A**). Dado que ésta es una situación aversiva para los ratones, los animales intentarán escapar del tanque o dejar de nadar. La única manera de hacerlo es encontrar la plataforma y subirse a ella. A lo largo de las sesiones los animales irán aprendiendo su localización y llegando a ella en menos tiempo (**Figs 11B y C**). Sin embargo, los ratones con déficits de aprendizaje espacial tardarán mucho más en **aprender** a escapar de esta situación (localizar la plataforma) (**Figs. 11B y D**).

En una última sesión se retira la plataforma del tanque y se evalúa la **memoria** de la localización de la plataforma. Se cuantifica el tiempo que pasa el animal en el cuadrante donde había estado la plataforma y el número de veces que pasa por el lugar exacto donde estaba situada, es decir, por dónde busca la plataforma. Cuanto mayores sean estos índices mayor será la memoria del animal.

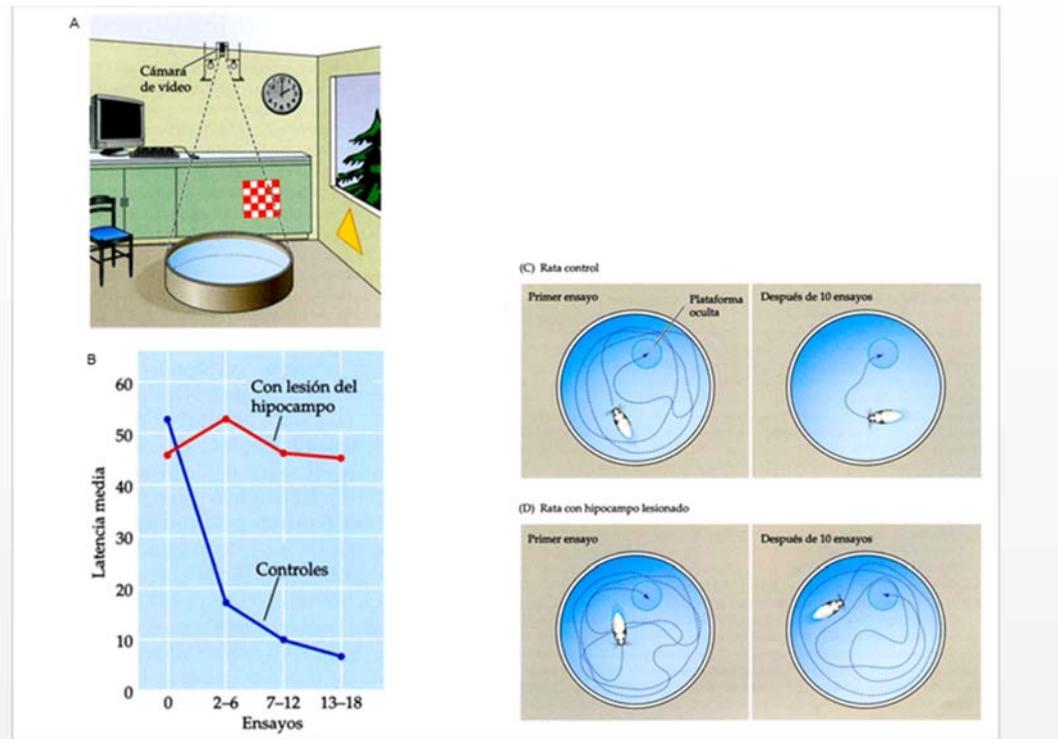


Fig 11. Laberinto acuático de Morris (A). Latencia de llegada a la plataforma de ratones normales y con alteraciones en aprendizaje espacial en esta prueba (B). Ejemplo gráfico de la evolución a lo largo de las sesiones de la eficacia en encontrar la plataforma en un ratón normal (C) y en uno con alteraciones de aprendizaje (D) (D Purves, 2016).

4- Laberinto de Barnes:

Este laberinto es un aparato circular con 20 agujeros. Debajo de uno de ellos se coloca un compartimento de plástico en el que el ratón se puede introducir. A lo largo de las sesiones se van presentando estímulos aversivos (sonido y/o luz) de los que el animal puede escapar entrando en el compartimento de plástico.

En esta prueba se coloca al ratón en el centro del laberinto, se administran los estímulos aversivos y se deja que el animal explore el laberinto hasta que encuentre el lugar de donde puede escapar de la luz y del sonido.

El laberinto de Barnes evalúa el aprendizaje y la memoria espacial, cuantificando el tiempo que tarda el ratón en encontrar el cajón de escape y el número de errores que comete antes de encontrarlo (**Fig. 12**).

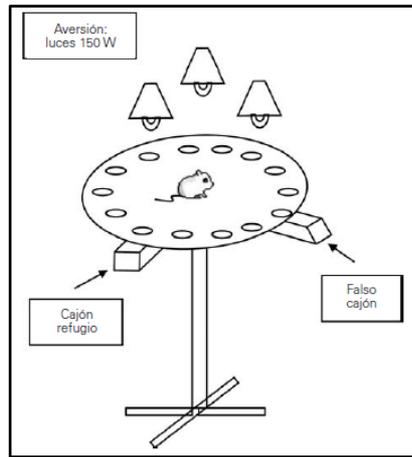


Figura 12. Laberinto de Barnes. El animal se sitúa en el centro del aparato y se le permite que explore los diversos orificios ante la exposición a estímulos aversivos, como luces y sonidos. Se evalúa el tiempo que emplea en encontrar la salida que conduce al cajón refugio (Navarrete et al., 2008).

5- Prueba de evitación pasiva:

Para valorar el aprendizaje y memoria asociativa se utiliza la prueba de evitación pasiva. En este tipo de prueba el animal debía inhibir un comportamiento que desarrollaría en condiciones normales, como es la tendencia espontánea a evitar espacios iluminados, con el fin de evitar un estímulo aversivo.

El aparato consiste en una caja con dos compartimentos, uno de ellos de color negro y otro de color blanco (**Fig 13**). El suelo está formado por barras de acero a través de las cuales se puede administrar una descarga eléctrica que constituye el estímulo aversivo que el animal debe recordar. La prueba consta de tres sesiones. En la primera se entrena al animal para que asocie la entrada al compartimento oscuro, su tendencia natural, con la administración de una descarga eléctrica. El número de ensayos necesarios para que cada animal adquiriera el criterio de **aprendizaje** se utiliza como medida de la capacidad de aprendizaje. Para evaluar la memoria a corto y a largo plazo se coloca al ratón en el compartimento claro 24 horas y 7 días más tarde respectivamente y se cuantifica el tiempo que tarda en entrar en el compartimento oscuro. Cuanto mayor sea esta medida mayor será la memoria de la asociación compartimento oscuro-estímulo aversivo.



Figura 13: Prueba de la evitación pasiva. La figura muestra la secuencia de entrada de un animal en el compartimento oscuro en el que recibirá una descarga eléctrica.

CONCEPTOS: INMUNOTERAPIA ACTIVA Y PASIVA.

Una de las estrategias terapéuticas más prometedoras para el tratamiento de la EA y que ha dado lugar a un mayor número de ensayos clínicos es la inmunoterapia. Dentro de este grupo de estrategias se puede distinguir entre inmunoterapias activas y pasivas.

La **inmunoterapia activa** consiste en administrar vacunas que hacen que el organismo genere altas concentraciones de anticuerpos que pueden mantenerse constantes durante un largo periodo de tiempo. Esto resulta cómodo para el paciente y supone una reducción de los costes del tratamiento. Además, este tipo de inmunoterapia da lugar a una respuesta policlonal, es decir, se aumenta la cantidad de auto-anticuerpos capaces de reconocer múltiples epítopos de la molécula diana.

Sin embargo, en el caso de que se produjeran efectos adversos, las altas concentraciones y larga duración de los efectos de las vacunas supondrían un serio problema. Además, en personas de avanzada edad, como es el caso de la gran mayoría de pacientes con EA, presentan una **respuesta inmune debilitada**. Por ello, se suelen utilizar adyuvantes que potencian una respuesta humoral orientada a la producción de anticuerpos circulantes, minimizando la activación de las células T y la liberación de citoquinas pro-inflamatorias.

La **inmunoterapia pasiva** consiste en producir anticuerpos en el cuerpo de otros individuos e inocularlos al paciente que va a ser tratado. Este tipo de tratamiento ha de ser administrado **frecuentemente** para mantener una concentración elevada de anticuerpos en el cerebro, lo que implica unos costes elevadísimos. Sin embargo, esta pauta de administración hace que sea una terapia **más segura** ya que, en caso de que aparezcan reacciones adversas, se podrá interrumpir la dispensación de anticuerpos, reduciendo su concentración en el organismo del paciente rápidamente. Sin embargo, la inmunoterapia pasiva puede inducir formación de anticuerpos contra sí mismos que podrían neutralizar la acción de la inmunoterapia e incluso desencadenar vasculitis o glomerulonefritis entre otras reacciones adversas.

Además, este tipo de inmunoterapia reaccionaría solo contra un epítipo concreto, a diferencia de la inmunoterapia activa que genera una respuesta policlonal.

INMUNOTERAPIAS FRENTE AL PÉPTIDO A β :

A principios de los años 90 se empezó a trabajar con anticuerpos anti-A β dirigidos frente al extremo N-terminal del péptido, que evitaban e incluso disolvían la agregación de A β *in vitro*. A partir de este hallazgo, numerosos grupos de investigación comenzaron a probar diferentes vacunas *in vivo* en modelos animales de la EA.

4.8.3. INMUNOTERAPIAS ACTIVAS:

En un trabajo pionero (Schenk et al., 1999) se estudió el efecto de la inyección intraperitoneal del péptido A β 1-42 pre-agregado junto con adyuvante de Freund en el modelo murino de EA PDAPP que presenta una mutación en la proteína APP que da lugar a distintos fenotipos característicos de esta enfermedad. Los resultados de estos estudios demostraron por primera vez que la vacunación activa con A β era capaz de prevenir la formación de depósitos A β cuando los ratones aún eran jóvenes e incluso podían reducir el número de placas si éstas ya se habían formado.

Estos resultados fueron confirmados por otros grupos de investigación que administraron esta vacuna a diferentes modelos murinos de EA (ver **Tabla 5**) y observaron una marcada reducción del número de placas amiloides acompañada de una mejoría en aprendizaje y memoria, siendo esta última muy dependiente del test elegido para evaluar las funciones cognitivas.

Tabla 5. Resumen de resultados obtenidos en los principales estudios de inmunoterapia en modelos animales de EA basados en las preparaciones de A β 1-42 pre-agregado con adyuvante de Freund. En función del nivel de placas pre-vacunación **P**: preventivo (sin placas); **M**: moderado (alguna placa); **C**: curativo (alto número de placas). Eficacia de la vacuna: ▼ eficacia significativa, ↓ moderada, - sin datos (Pesini, 2014).

MODELO ANIMAL	P	M	C	A β CEREBRAL	HISTOLOGÍA	COGNICIÓN	REFERENCIA
<i>PDAPP</i>	▼	↓	-	↓72-81% de niveles de AB total	Completa prevención	-	Schenk et al., 1999
<i>TgCRND8</i>	▼	-	-	No efecto	↓50% núm. y tamaño de las placas	Robusta mejoría	Janus et al., 2000
<i>Tg2576</i>	↓	↓	-	Reducción parcial	Reducción modesta de placas	Mejoría casi completa	Morgan et al., 2000
<i>3xTg-AD</i>	-	↓	-	↓AB1-42 soluble pero no de 1-40 soluble.	No efecto observado en el número de placas	Mejoría robusta en memoria contextual y de trabajo	Oddo et al., 2003
<i>PADAPP</i>	▼	↓	-	P: ↓AB 1-40 y 1-42 total; M: AB total, 1-42 40% en corteza y 20% en hipocampo.	-	No se observa mejoría significativa	Chen et al., 2007
<i>APP^{swe}/NOS2^{-/-}</i> y <i>APP^{swe}DI/NOS2^{-/-}</i>	-	▼	↓	<i>APP^{swe}/NOS2^{-/-}</i> : ↓50% AB 1-40 y 60% del 1-42 <i>APP^{swe}DI/NOS2^{-/-}</i> : ↓ 40% amiloide total	<i>APP^{swe}/NOS2^{-/-}</i> : ↓ 85% del amiloide <i>APP^{swe}DI/NOS2^{-/-}</i> : ↓ 30%	<i>APP^{swe}/NOS2^{-/-}</i> : mejoría completa. <i>APP^{swe}DI/NOS2^{-/-}</i> : mejoría parcial	Wilcock et al., 2009

Los resultados tan esperanzadores de estos trabajos propiciaron el inicio de estudios con otras vacunas, esta vez en personas. Como el adyuvante de Freund no puede administrarse a seres humanos, se diseñó la **vacuna AN1792** utilizando un extracto de corteza de árbol *Quillalia saponaria* QS-21 (inductor de linfocitos T colaboradores o *T-Helper* tipo 1). En octubre de 2001 se inició la fase II del ensayo clínico, sin embargo, en enero de 2002 tuvo que suspenderse prematuramente cuando 18 pacientes

presentaron meningoencefalitis aséptica, hecho que se achacó a la producción de células autoinmunes reactivas frente a A β .

A pesar de esta reacción adversa, los efectos clínicos en los pacientes tratados con esta vacuna presentaron algunos resultados esperanzadores, como la reducción de la carga amiloide y otros cambios histológicos en algunos de los individuos vacunados. Además, se hizo un seguimiento a largo plazo de los pacientes tratados y se observó que mantenían un nivel detectable de estos anticuerpos casi 5 años después de la inmunización y demostraban además un declive funcional reducido comparado con el grupo control. Dado que el causante de la meningoencefalitis podría ser el adyuvante utilizado, el extracto de la corteza de árbol, los esfuerzos de distintos grupos de investigación se encaminaron a probar la eficacia de esta vacuna utilizando otros adyuvantes.

Algunos autores han optado por estimular directamente la respuesta inmune humoral. En 2006 Da Silva et al. utilizaron como adyuvante de la vacuna, que administraron a un modelo animal de EA, la citoquina IL-4 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) con el fin de potenciar la respuesta humoral. Este tratamiento produjo una disminución de los niveles de β -amiloide cerebral y promovió cambios significativos en los niveles plasmáticos de A β (**Tabla 6**).

Tabla 6. Resumen de las características y resultados obtenidos en modelos ratones de EA tras inmunoterapias basadas en el péptido amiloide, destacando la principal ventaja (uso de adyuvante y la vía de administración). En función del nivel de placas pre-vacunación: **P**: preventivo, sin placas; **M**: moderado, alguna placa; **C**: curativo, alto nivel de placas. En función de la eficacia de la vacuna: **▼**: significativa, **-**: sin datos. (Pesini, 2014).

Modelo animal	Inmunógeno	Adyuvante	Adm	P	M	C	A β plasma	A β cerebral	Histología	Resp.	Referencia
PDAPP	A β 1-40	-	i.n. y oral	▼	-	-	-	↓52% en los niveles totales de A β -42	↓60% en la carga de placas en Hp	Th2	Weiner et al., 2000
PSAPP	Cóctel A β (1-40+ 1-42)	CFA/LT	i.n. + i.p.	▼	-	-	↑x28 respecto a control	↓A β x-42 soluble	↓75% carga amiloide	-	Lemere et al., 2003
TgCR-ND8	A β 1-42 agregado	GM-CSF e IL-4	s.c.	▼	-	-	▲	↓ A β 1-40 y A β 1-42 total	↓43% de placas	Th2	DaSilva et al., 2006
APPswe /PS1dE9	A β 1-42 agregado	CT (toxina colérica)	t.c.	-	▼	-	▲	↓ A β 1-40 y 1-42 un 50%	↓50-60% placas de A β	Th2	Nikolic et al., 2007
APPswe /PS1dE9	A β 1-42	Fosfolípidos + SP1	i.p.	▼	-	▼	▲	▼		Th2	Carrera et al., 2012

Finalmente, numerosos investigadores han relacionado la aparición de meningoencefalitis en los pacientes tratados con la **vacuna AN1792** con una respuesta autoinmune contra el péptido A β (Monsonigo et al., 2003). Por esta razón, se ha intentado identificar las regiones de este gen que estimulan en mayor medida una respuesta inmune celular y así poder prescindir de estas regiones en futuros estudios. Los resultados indicaron que existen varios *loci* especialmente inmunogénicos. El primero se detectó en una secuencia de aminoácidos en la **región N-terminal** y más tarde se descubrió que la **zona central del péptido** era la que inducía mayor proliferación de células T (entre los fragmentos más inmunogénicos destacaban el A β 6-28, el A β 16-30, o el A β 16-25). Por tanto, en la siguiente generación de vacunas, se utilizaron otros fragmentos N-terminales de A β diferentes (menos inmunogénicos) conjugados con inmunoestimulantes o *carriers*.

En los siguientes apartados se describirán los **experimentos de inmunoterapia activa anti-A β** que utilizan distintos fragmentos del péptido A β . Entre ellos se encuentran estudios preclínicos de vacunas, algunos de los cuales han dado lugar a ensayos clínicos que se están llevando a cabo en la actualidad.

En primer lugar, la administración de la **vacuna CAD106**, formada por varias copias del fragmento A β 1-6 junto con una proteína *carrier* Q β , a un modelo murino de EA dio lugar a una reducción significativa del número de placas, de su toxicidad sobre las células y del porcentaje de área ocupada por ellas, principalmente en las regiones corticales y subcorticales del cerebro. Además, este efecto no sólo se produjo cuando se administró CAD106 de manera preventiva, sino también si se trataba a los animales pocos meses después de la aparición de placas. La disminución de los niveles de A β 1-42 en la fracción soluble del cerebro era dependiente de la edad y la cantidad de amiloide en una relación inversamente proporcional, de tal forma que cuanto más joven era el ratón, mayor disminución de niveles A β se producía (Wiesnner et al., 2011).

Tras este estudio en ratones, la **vacuna CAD106 (Novartis)** entró en la fase I de un ensayo clínico arrojando unos resultados esperanzadores, ya que tras la administración de este tratamiento en un primer momento no aparecieron reacciones adversas. Sin embargo, dos años y medio después de la última inyección de la vacuna, sí que se apreciaron reacciones adversas menores tales como eritema en el lugar de la inyección o nasofaringitis. Además, se obtuvo una respuesta inmune frente al A β con una carga de anticuerpo detectable dos años y medio después del inicio del estudio (Farlow et al., 2011).

En la actualidad la empresa farmacéutica está preparando el inicio de la fase II del ensayo en personas cognitivamente sanas pero con genotipo de riesgo (homocigóticos para el alelo *APOE4*).

Otra de las vacunas que ha sido probada en modelos animales de EA y dio lugar a un ensayo clínico que llegó a la fase II es **ACC-001** o "**Vanutide cridificar**" (Pesini, 2014). Esta vacuna está compuesta por numerosas copias del fragmento A β 1-7 combinadas con un *carrier* que se corresponde con una variante no tóxica de la toxina diftérica. En primates se observó que la administración de esta vacuna producía la generación de

anticuerpos frente al extremo N-terminal de A β sin inducir respuesta celular frente al péptido A β (Pesini, 2014). Sin embargo, el ensayo clínico en humanos se vio interrumpido en 2008 porque se detectó un episodio de vasculitis en uno de los pacientes. Al no poder confirmarse la relación directa de este episodio con la administración de la vacuna el ensayo se reanudó, pero finalmente en 2014 la farmacéutica lo detuvo sin ofrecer información detallada de las razones de dicha interrupción.

Por otro lado, Wang et al., (2010) llegaron a la conclusión de que no es estrictamente necesaria la secuencia exacta de aminoácidos del péptido A β para producir una respuesta inmune que reconozca a A β . Así pues, este grupo trabajó en la obtención de unos péptidos que imitasen la conformación del péptido A β y que pudiesen activar una respuesta inmune dirigida contra A β . A este conjunto de péptidos que reproducían la estructura del extremo N-terminal de A β se les llamó **AFFITOPES** (de la farmacéutica AFFiRiS). Dos de ellos, denominados AD01 y AD02, fueron administrados a modelos animales de EA y dieron lugar a una clara disminución de la carga amiloide cerebral y a una mejoría de las funciones cognitivas. Cuando se llevó a cabo el ensayo clínico se observó que el grupo placebo, al que se le había administrado el adyuvante hidróxido de aluminio que formaba parte de la composición de la vacuna AD02, presentaba un menor déficit cognitivo que algunos de los individuos que habían recibido la vacuna. Por esta razón el estudio se encuentra actualmente detenido.

En resumen, las estrategias descritas hasta ahora tratan de inducir una respuesta inmune frente al péptido A β , bien sea mediante la utilización de este mismo péptido, de fragmentos de este o de otros péptidos que imitan su estructura. En cuanto a los resultados obtenidos en modelos animales, estos son claramente dependientes del grado de afectación de la patología tipo EA de los sujetos experimentales, de tal forma que cuando menor es el daño y menos avanzada esté la enfermedad, más probabilidades hay de que se produzca una mejor respuesta. Los estudios clínicos realizados hasta el momento no han arrojado resultados positivos (**Tabla 7**).

Tabla 7. Resumen de los principales ensayos de inmunoterapias activas frente a A β que han llegado a ensayos clínicos (Pesini, 2014).

VACUNA	MECANISMO DE ACCIÓN	ESTADO	DATOS RELEV.	REFERENCIAS
AN-1792	A β 1-42 agregado + adyuvante QS-21	Interrumpido	Meningoencefalitis aunque resultados esperanzadores	Schenk et al., 1999
CAD106	Copias del péptido A β 1-6 + carrier Q β	Fase II	Resultado favorables en seguridad y RI.	Wiessner et al., 2011
ACC-001 (<i>Vanutide cridificar</i>)	Múltiples copias de A β 1-7 unido a una variante no tóxica de la toxina diftérica (carrier)	Interrumpido		Hagen et al., 2011
AFFITOPE AD02	Péptidos de 6 aas que imitan el extremo N-terminal de A β (11-16) conjugados con hidróxido de aluminio.	Interrumpido	Mejores resultados en grupo placebo que en el grupo de tratados.	Mandler et al., 2015

ABvac40:

La vacuna **ABvac40** ha entrado recientemente en la fase I del ensayo clínico tras demostrar sus efectos beneficiosos en diversas especies de animales con patología tipo EA (ratones, ratas, perros y conejos) (Pesini, 2014).

Esta nueva vacuna tiene un mecanismo de acción totalmente diferente a las anteriores, ya que va dirigida frente al **extremo C-terminal del péptido A β 1-40**.

La utilización del péptido A β 1-40 y no del A β 1-42 se debe a que un gran número de autores asegura que el hecho de expresar altas concentraciones de este péptido al principio del estudio predecía una mayor probabilidad de desarrollar demencia, especialmente en aquellos individuos en los que los niveles de A β 1-42 eran bajos. Además, el péptido A β 1-40 alcanza concentraciones elevadas en cerebro, plasma y LCR humanos (Pesini, 2014).

Este particular mecanismo de acción le otorga una serie de ventajas respecto a otras inmunoterapias descritas con anterioridad. Como se dijo anteriormente, en la secuencia de la proteína APP el extremo NH-terminal del péptido A β es extracelular, por lo que para los anticuerpos que tienen como inmunógeno a esta región les resulta bastante fácil adherirse a este segmento. Esto facilita que se acumulen complejos antígeno-anticuerpo potencialmente dañinos para las neuronas y otras células que contienen APP. Sin embargo, la vacuna **ABvac40**, como se ha comentado anteriormente, tiene como inmunógeno el fragmento C-terminal que se encuentra oculto en la membrana celular (**Figura 14**). Este hecho permite que haya una gran cantidad de anticuerpos disponibles una vez hayan actuado las secretasas y, además, evita la toxicidad que sí que podrían ocasionar los otros métodos que actúan frente al segmento N-terminal.

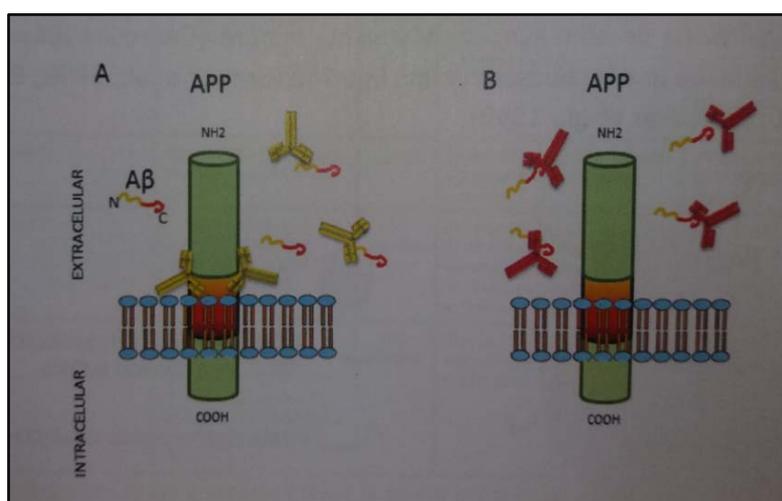


Figura 14. A. Anticuerpos específicos frente al extremo N-terminal del A β . B. Anticuerpos específicos frente al extremo C-terminal. El hecho de que el extremo N-terminal esté expuesto, posibilita la acumulación de complejos Ag-Ac, fenómeno que no ocurrirá con los anticuerpos dirigidos al segmento

C-terminal, al estar este “protegido” por la membrana celular, permitiendo una mayor disponibilidad de anticuerpo una vez hayan actuado las secretasas y reduciendo la toxicidad (Pesini, 2014).

Recientemente, se ha realizado un estudio (Pesini, 2014) donde se comprobó que esta vacuna reduce el número de placas y mejora la cognición del modelo murino de EA el ratón doble transgénico **APP^{swe}/PS1^{E9}** en el laberinto acuático de Morris (Pesini, 2014).

En agosto de 2013, la Asociación Española del medicamento aprobó el arranque de los ensayos de esta vacuna en humanos. En 2015 entró en la fase I con el objetivo de evaluar la tolerabilidad y su seguridad, mediante un ensayo ciego sobre un total de 24 personas: 16 pacientes diagnosticados y en estadio leve y ocho pacientes que reciben placebo. Dado, que la tolerancia a esta vacuna ha sido buena y no se han detectado reacciones adversas, se espera que en breve se inicie la segunda fase del ensayo clínico.

4.8.4. VACUNAS GÉNICAS:

En las vacunas génicas, lo que se inyecta al sujeto no es el antígeno o el anticuerpo, sino el material genético que codifica a ambos, expresándose así a nivel periférico e induciendo una respuesta inmune específica contra éste.

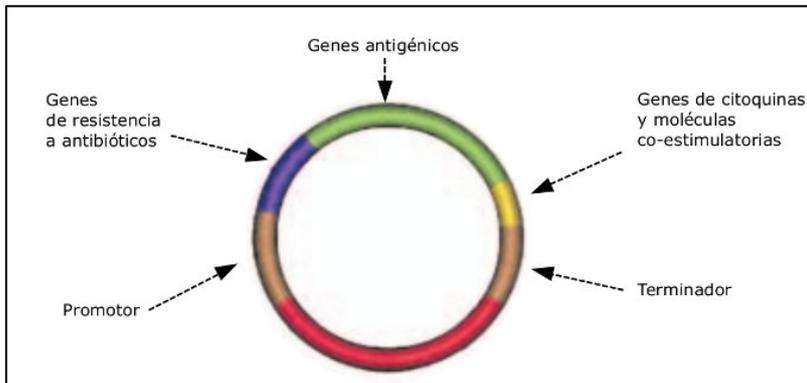


Figura 15. Esquema del plásmido de una vacuna de DNA típica. (Fuente: Genoma España)

Hay dos estrategias para introducir este material genético en las células del organismo. La primera opción consiste en seleccionar un fragmento de ADN desnudo e insertarlo en un plásmido que será el que facilite su expresión. Normalmente no se introduce únicamente el fragmento de ADN de interés sino que se acompaña de otros genes que favorecen la activación de la respuesta inmune (**IL-4** o **GM-CSF**) y de genes que proporcionan resistencia a antibióticos para facilitar la producción del plásmido en bacterias (**Fig. 15**) (<https://biotecnologia.fundaciontelefonica.com>).

La otra estrategia consiste en introducir el fragmento de ADN **a través de vectores vivos** (bacterias o virus atenuados) mediante recombinación genética.

Qu et al. (2004) inocularon plásmidos que contenían ADN codificante para el péptido A β 1-42 a ratones transgénicos **APP^{swe}/PSEN1(A246E)**, un modelo de la EA, y a ratones silvestres. Este tipo de vacunación produjo una inducción de la respuesta inmune humoral en ambos grupos animales así como una mejora cognitiva.

Los datos aportados hasta ahora apuntan a este método como una alternativa segura en el futuro. Sin embargo, dada la reciente creación de estas técnicas y la falta de suficientes confirmaciones de sus posibles beneficios en estudios preclínicos, todavía no se han realizado ensayos clínicos utilizando vacunas génicas.

4.8.5. INMUNOTERAPIA PASIVA:

Las reacciones adversas que tuvieron lugar en los ensayos clínicos con algunas de las vacunas descritas con anterioridad, especialmente las producidas por AN1792, hicieron plantearse otras terapias alternativas que resulten menos agresivas para los seres humanos. Como se ha descrito anteriormente, la inmunoterapia pasiva se basa en la administración de manera regular de anticuerpos o fragmentos de estos. Este tipo de estrategia terapéutica tiene como ventaja el hecho de que no requiere que el sistema inmune del paciente genere una respuesta. Además, administrando anticuerpos se evita que se desarrolle una indeseada reacción autoinmune frente al A β , fenómeno que sí podría darse en la vacunación activa.

A continuación, se expondrán los estudios más relevantes sobre los efectos de diversas inmunoterapias pasivas en distintos modelos animales de EA (ver **Tabla 8**) y en ensayos clínicos en personas con esta patología.

- **3D6 y Bapineuzumab**

Uno de los mayores pasos avances más relevantes en el desarrollo de terapias de inmunoterapia pasiva contra el Alzheimer EA, fue un trabajo dirigido por el grupo de F. Bard, publicado en el año 2000. En este estudio fue la demostración de que, se demostró por primera vez que la administración periférica de anticuerpos podía penetrar en el SNC de los ratones modelo de EA y reducir su patología amiloide (Bard et al., 2000). El anticuerpo que se utilizó fue **3D6** (del que posteriormente derivaría el **Bapineuzumab**), un anticuerpo monoclonal IgG2b humanizado que tiene como diana el fragmento N-terminal del A β . Este anticuerpo promueve un aumento de la producción de citoquinas y estimula la fagocitosis de las placas de amiloide por parte de la microglia, reduciendo hasta el 85 % de la carga amiloide en la corteza cerebral. Sin embargo, cuando el **3D6** empezó a probarse en seres humanos producía a dosis altas reacciones adversas tales como edema vasogénico y microhemorragias de carácter leve y transitorio.

Además, el ensayo clínico dirigido por Janssen y Pfizer se tuvo que detener en la fase III (agosto de 2012) en vista de los resultados decepcionantes que se obtuvieron.

- **scFv-h3D6**

Se inició la búsqueda de otros compuestos capaces de evitar las reacciones adversas de los anteriores (microhemorragias y edema vasogénico), y se planteó como posibilidad el uso de *single chain variable fragments* (scFv) que consisten en el dominio variable de la cadena pesada unido por una proteína a la región variable de la cadena ligera. El subtipo **scFv-h3D6** ha demostrado recientemente ser eficaz en los ratones triple transgénicos (APP/tau/PS1).

Tras la administración de una única dosis intraperitoneal de scFv-h3D6, los déficits de aprendizaje y memoria y las concentraciones de péptido A β de estos animales disminuyeron. Además, 5 días después de la inoculación del compuesto, el número de

neuronas en este modelo de EA no difirió del grupo control, demostrándose así la función neuroprotectora del fármaco.

- **m266 y Solanezumab**

En 2001 se realizó un estudio en el que se administró de forma periférica el anticuerpo monoclonal **m266**, del que posteriormente derivaría el **Solanezumab** (de Eli Lilly) a ratones transgénicos *PDAPP* (DeMattos et al., 2001). Este anticuerpo tiene como diana un segmento central del péptido A β 16-24 y produce un marcado aumento de los niveles del péptido A β en el plasma y una disminución en la corteza cerebral de los ratones. Dado los resultados positivos obtenidos en ratones se realizó un ensayo clínico en el que se administró este anticuerpo a pacientes con EA ya manifiesta (nivel moderado). En 2014 se publicaron los primeros resultados obtenidos en la fase III. A pesar de que la administración de Solanezumab no tuvo una eficacia realmente significativa, sí que produjo una leve mejoría en el deterioro cognitivo que presentaban los pacientes y en diversas pruebas funcionales. Están en marcha nuevos estudios de fase III en los que se han reclutado pacientes asintomáticos con riesgo de padecer Alzheimer y que presentan hitos histopatológicos típicos de la EA cuando son evaluados por PET (Lannfelt et al., 2014).

- **Crenezumab**

Con el fin de evitar el edema, las hemorragias y los efectos derivados de la inflamación, producidos por algunas de las inmunoterapias descritas, se desarrolló un anticuerpo de subclase IgG4 en lugar de IgG2b (como es el bapineuzumab) o IgG1 (como son el solanezumab y el gantenerumab). Dado que la subclase IgG4 no activa la vía del complemento y, por tanto, tampoco la respuesta inmune innata, utilizando este tipo de anticuerpo se evita la aparición de las reacciones adversas citadas. Un anticuerpo de este tipo es el Crenezumab o MABT (Genentech, San Francisco, EEUU/ Roche, Basel, Suiza). El crenezumab reconoce oligómeros, monómeros y fibras de A β y tiene dos efectos básicos: evitar la agregación e impulsar la descomposición del A β . La administración de Crenezumab produjo una mejoría en la prueba de reconocimiento de objetos y una reducción del 30 % de la carga amiloide en la corteza cerebral en un modelo murino de EA (Adolfsson et al., 2012). Actualmente el crenezumab está en fase II de ensayo clínico en un estudio de cohortes de familias Colombianas que presentan mutación genética dominante que genera EA temprana (Wang et al., 2010).

- **Ponezumab**

Este anticuerpo es una IgG2a humanizada que reconoce el extremo C-terminal (30-40) del péptido A β pero no reconoce a APP (Adolfsson et al., 2012), lo que permite que se una eficientemente al A β plasmático. En ratones transgénicos Tg2576 de avanzada edad (14 meses) la administración de ponezumab provocó un aumento de A β 1-40 en suero y una reducción de la carga de amiloide en la región hipocampal. Estos hallazgos impulsaron un ensayo clínico en el que no se evidenciaron mejorías cognitivas ni reducciones del nivel de la carga amiloide en el cerebro de personas con EA (Burstein et al., 2013). Por esta razón, la farmacéutica responsable del ensayo clínico decidió detenerlo en el año 2014.

Tabla 8. Ensayos más representativos de inmunoterapias pasivas llevadas a cabo en distintos modelos animales de EA. Según la cantidad de placas amiloides al principio del estudio se establecen las siguientes categorías: **P** preventivo (pocas placas), **M** moderado (alguna placa), **C** curativo (muchas placas). En función de la eficacia: ▼ significativa, ↓ moderada, ↔ sin efecto significativo, - sin datos (Pesini, 2014).

MODELO ANIMAL	ANTICUERPO	P	M	C	A β PLASMA	A β CEREBRAL	HISTOLOGIA	COGNICIÓN	REFERENCIA
PDAPP	10D5, 3D6 (N-terminal) – Bapineuzumab; 16C11, 21F12 (C-terminal)	-	▼	▼	Sin datos	↓ un 85% los niveles de A β 42	Disminución del 85% de la carga amiloide en la corteza	Sin datos	Bard et al., 2000
PDAPP	M266 (Central) Solanezumab	▼	-	-	↑ niveles de A β en plasma 1000 veces	Sin datos	Marcada disminución de A β	Sin datos	De Mattos et al., 2001
PDAPP	M266 (Central) Solanezumab	-	-	↔	Sin datos	Sin datos	Sin reducción significativa de la carga amiloide	Mejoría cognitiva en el reconocimiento de objetos	Dodart et al., 2002
Tg2576	BAM-10 (N-terminal)	-	↔	-	Sin datos	Sin efecto en niveles de A β 40/42	Sin datos	MVM: Mejoría de los déficits cognitivos	Kotilinek et al., 2002
PDAPP	mE8(A β p3-42) y 3D6 (Bapineuzumab)	↓	-	▼	No aumento en mE8, pero ↑ en niveles A β en 3D6	↓40% del A β 42	Sin datos	Sin datos	De Mattos et al., 2002
PDAPP	3D6 (Bapineuzumab) y 12B4 (N-terminal)	-	-	▼	Sin datos	↓50% del A β total y A β 42	↓80% de la carga amiloide	Sin datos	Buttini et al., 2005
hAPP-V717I y hAPP-V717I/PS1	mMABT (Crenezumab)	↓	-	-	Sin datos	Sin datos	↓31% de la carga amiloide	Mejoría de los déficits cognitivos en el reconocimiento de objetos	Adolfsson et al., 2012
Tg2576	Ponezumab (C-terminal de A β 1-40)	-	-	↓	↑ A β x-40 dependiente de dosis. A β x-42 no cambia	Sin datos	Sin datos	Sin datos	La Porte et al., 2012
APPswe/PS1E9	HIVIGs	-	↔	-	No hay cambios en niveles de A β 1-40	Aumento de los niveles de A β 1-40 y de A β 1-42	No se aprecia efecto en carga amiloide	Sin datos	Puli et al., 2012
PS2APP	Ganteneruzumab (N-terminal y central)	-	▼	-	No hay cambios en los niveles de A β 1-40 ni A β 1-42	No hay cambios significativos en la fracción soluble ni insoluble	Reducción significativa de carga amiloide y prevención de la formación	No se aprecian diferencias entre los vacunados y el grupo control	Bohrmann et al., 2012
Tg2576	Aducanumab (Conformacional, especies agregadas)	-	-	↔	Sin datos	Sin datos	Sin reducción significativa de amiloide	Sin datos	Kastanenka et al., 2013

- **IVIg**

Por último, se ha evaluado el efecto que tiene la administración de anticuerpos aislados de plasma humano perteneciente a personas sanas voluntarias sobre los distintos hitos histopatológicos y cognitivos de la EA. Este tipo de anticuerpos, los IVIg, contienen de forma natural una baja concentración de auto-anticuerpos capaces de detectar específicamente a los péptidos A β y, además, estas preparaciones tienen un efecto modulador que permite cambiar el perfil de citoquinas en los pacientes y evitar así una respuesta inflamatoria (Relkin et al., 2011).

Sin embargo, recientemente se han publicado los resultados obtenidos en las fases II y III de algunos estudios y los datos han mostrado que los IVIg no producen una reducción estadísticamente significativa de la progresión de la EA (<http://www.molecularneurodegeneration.com/content/8/1/36>).

4.8.6. ESTRATEGIAS QUE TIENEN A TAU COMO DIANA

En los últimos años el interés en la inmunoterapia dirigida frente a la proteína Tau, cuya relevancia en la fisiopatología ya se trató con anterioridad en este trabajo, ha crecido de forma exponencial en gran parte por el fracaso de las inmunoterapias dirigidas contra el A β en lo que a la mejora de los síntomas cognitivos se refiere.

La inmunización activa frente a Tau se basa en la síntesis de anticuerpos anti-Tau capaces de eliminar los ovillos formados por esta proteína y de producir mejorías cognitivas en los sujetos tratados. Esta estrategia se probó en ratones y dio lugar a una clara mejoría en los test de coordinación motora y un aumento del aclaramiento de Tau.

Actualmente se está llevando a cabo un ensayo clínico en Austria con una vacuna activa frente a Tau, la **AADvac1** (tau-peptide-KLH-conjugate), que ha sido probada con resultados satisfactorios en ratas, conejos y perros modelos de EA. Se espera que en los próximos años se desarrollen tipos de inmunización activa que no produzcan los efectos adversos que ejerce la inmunización activa dirigida frente al A β (por ejemplo meningoencefalitis, ver apartado correspondiente a vacuna AN1792)

En cuanto a la estrategia de inmunización pasiva, recientemente se ha realizado un estudio en el que se evaluaban los efectos de la administración de PHF1, un anticuerpo anti-Tau. La administración de PHF1 a ratones transgénicos JP NL3 y P301S produjo una reducción del deterioro de la función motora así como una disminución de los niveles de la proteína Tau. Por otro lado, recientemente se han desarrollado los anticuerpos *chaperon-like* que se unen a fragmentos mal plegados de la proteína Tau y llevan a cabo el aclaramiento de estos, reduciendo los déficits cognitivos y motores en modelos animales de EA (Medina et al., 2014).

Actualmente hay muchos aspectos fisiopatológicos desconocidos en lo que respecta a la proteína Tau y su relación con la EA. Se espera que en los próximos años se aúnen muchos esfuerzos dirigidos a formular una estrategia para el tratamiento de esta

patología basado en el conocimiento del papel que juega esta proteína en el deterioro cognitivo de los pacientes con EA (Lemere et al., 2013; Medina et al., 2014).

4.8.7. ESTRATEGIAS FRENTE A LOS MODULADORES DE LAS SECRETASAS

Otra estrategia para tratar de reducir la producción de A β consiste en la modulación de las vías enzimáticas encargadas del procesamiento anómalo de la proteína APP, es decir, en la inhibición de la γ y/o la β -secretasa y en la activación de la α -secretasa.

- **Inhibidores de la β -secretasa (BACE1)**

La enzima **β -secretasa** es la encargada de iniciar la vía amiloidogénica. El desarrollo de inhibidores de esta enzima supone todo un reto ya que su acción no solo se basa en el procesamiento de APP, sino que tiene muchos más sustratos, como la neuregulina-1 que se encarga de la mielinización de los nervios. Esto dificulta el desarrollo de estrategias terapéuticas, ya que la inhibición o el déficit total de esta enzima comprometen el correcto desarrollo del sistema nervioso, que culmina su maduración en la edad adulta. Este fenómeno se apreció en un estudio en el que se utilizaron ratones *knockout* para el gen *BACE1*. Estos animales mostraban un menor deterioro cognitivo asociado a la edad que los ratones del grupo control. Sin embargo, presentaban patología relacionada con la inmadurez del sistema nervioso incluyendo fenotipos típicos de la esquizofrenia, hipomielinización o patología de la retina (DeMattos et al., 2001).

Para evitar estos efectos adversos sobre el neurodesarrollo se administraron inhibidores de BACE1 a animales que ya habían alcanzado la madurez. Se han llevado a cabo trabajos preclínicos en monos y modelos murinos de la EA que demuestran que la administración de este tipo de inhibidores produce notables mejorías cognitivas respecto al grupo control (Savonenko et al., 2008; Yan et al., 2005).

El mayor problema se encuentra en la estructura de la enzima ya que este tipo de inhibidor es una molécula grande e hidrófila y, por tanto, que tiene problemas para atravesar la BHE. Actualmente se están investigando varias estrategias para mejorar el paso al SNC de la enzima (Folch et al., 2015).

- **Inhibidores y moduladores de la γ -secretasa**

La γ -secretasa se encarga del procesamiento final de la proteína APP en la vía amiloidogénica, dando lugar, como productos finales a los péptidos A β -40 y A β -42. La inhibición de esta enzima en modelos murinos de EA dio lugar a una disminución *in vivo* de la producción de A β , lo que supuso un paso realmente prometedor para modificar el curso de la EA (Folch et al., 2015). Sin embargo, el desarrollo de

inhibidores de la γ -secretasa presenta problemas similares a los de los inhibidores de BACE1. La γ -secretasa procesa, además de APP, múltiples proteínas relacionadas con la proliferación celular, el desarrollo, la diferenciación, la comunicación y el estado de supervivencia celular, por lo que una inhibición permanente de esta proteína afectaría de una manera dramática a otras funciones básicas del organismo (Folch et al., 2015).

- **Activación de la α -secretasa**

La enzima α -secretasa promueve el procesamiento de la proteína APP por la vía no amiloidogénica, de tal forma que aumenta la cantidad de A β soluble y disminuye la cantidad de péptido A β insoluble, es decir, aquel que ha sido procesado previamente por la vía amiloidogénica y que juega un papel fundamental en la fisiopatología de la EA. Este péptido A β soluble, ha demostrado tener un papel neuroprotector y promotor de la sinaptogénesis (Folch et al., 2015).

Se está trabajando con diferentes compuestos capaces de estimular la α -secretasa y otros promotores de la vía no amiloidogénica pero todavía no se ha confirmado que estos agentes tengan efectos pro-cognitivos en modelos animales de EA, por lo que aún se sigue trabajando en fases preclínicas (Folch et al., 2015).

4.8.8. BDNF COMO DIANA TERAPÉUTICA

El factor neurotrófico derivado del cerebro (brain-derived neurotrophic factor o *BDNF*) es una proteína que actúa como factor de crecimiento y que pertenece a la familia de las neutrofinas. Este factor promueve la supervivencia de las neuronas que puedan estar dañadas y tiene un efecto beneficioso sobre el aprendizaje y la memoria.

Se ha apreciado una reducción de los niveles de BDNF en cerebros de ratones con EA aunque aún no se ha podido determinar el papel que esta proteína juega en la fisiopatología de esta enfermedad (Rantama et al., 2013). La supresión total de la actividad del BDNF, por una mutación en el gen que codifica este factor, en el modelo animal de EA APP^{swe}/PS1^{dE9} produce un agravamiento del déficit de memoria que presentan estos animales.

Aunque se ha propuesto que la administración exógena de BDNF podría mejorar los déficits cognitivos de la EA, en la actualidad se disponen de pocos resultados preclínicos por lo que esta estrategia deberá seguir siendo estudiada (Rantama et al., 2013).

4.8.9. ESTRATEGIAS DIRIGIDAS A MODIFICAR LA INFLUENCIA DE APOE

La **APOE** es una apolipoproteína conocida por su papel fundamental en el catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Además, APOE desempeña un papel importante en la patogenia de la EA ya que produce un aclaramiento de A β en el cerebro. APOE es sintetizada en los astrocitos tras la activación de los receptores **RXR (Retinoid X Receptor)** (Cramer et al., 2012) y produce una reducción de la cantidad placas de A β , la toxicidad de estos oligómeros en el cerebro así como una mejoría cognitiva en sujetos con EA (**Figura 16**).

Entre los antagonistas de los receptores RXR que incrementan los niveles de APOE se encuentra el **Bexaroteno**. La administración de este compuesto mejoró la cognición de modelos animales de EA en las pruebas del laberinto acuático de Morris y del condicionamiento de miedo y redujo el número de placas de A β (Cramer et al., 2012).

Sin embargo, este compuesto tiene bastantes efectos secundarios tales como dolor de cabeza, vómitos, náuseas, sudoración, diarrea, grandes elevaciones del colesterol (48 %) y los triglicéridos (79 %) e hipotiroidismo (40 %).

Actualmente hay en marcha dos ensayos clínicos que se encuentran en las primeras fases de investigación en los que se está evaluando la toxicidad del fármaco. Hasta el momento los resultados obtenidos en cuanto a tolerabilidad están siendo positivos.

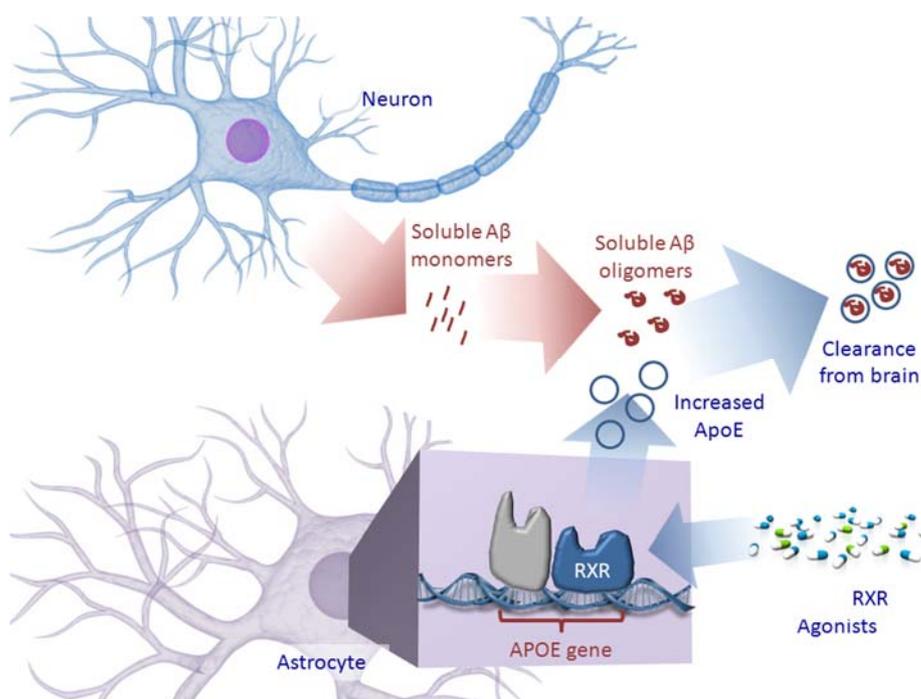


Figura 16. Mecanismo de acción de APOE en la degradación de A β .
(<http://www.acelot.com/rxr.html>)

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Dada la escasa eficacia de las terapias actualmente aprobadas para el tratamiento de la EA, se han desarrollado numerosas líneas de investigación encaminadas a desarrollar tratamientos que prevengan o frenen las alteraciones cognitivas e histológicas características la EA. La mayor parte de los trabajos tratados en esta revisión llevan a cabo sus estudios con fármacos que actúan sobre una determinada vía implicada en esta patología, mostrando unos resultados satisfactorios en animales pero, hasta el momento, no en seres humanos (por sus efectos secundarios o por falta de eficacia). Este es el caso de la mayoría de las inmunoterapias activas y pasivas descritas en este trabajo.

Dado que la etiopatología de la EA es multifactorial, es posible que sea necesario utilizar estrategias que actúen no sólo de manera aislada frente a una alteración determinada sino llevar a cabo un abordaje multidisciplinar.

La gran mayoría de estudios hasta la fecha se centran en la hipótesis de la cascada amiloide como responsable de la demencia tipo EA. Sin embargo, en los próximos años se espera una mayor tendencia a abrir nuevas líneas de investigación enfocadas a actuar sobre la acumulación de la proteína Tau. En un principio, este tipo de estrategia no recibió tanta atención como aquellas que se centraban en reducir la acumulación del A β pero, dados los resultados prometedores obtenidos en estudios animales, podrían suponer una alternativa a estas últimas.

Además, otras técnicas prometedoras, como las vacunas génicas, la modulación de las distintas secretas o la administración de BDNF entre otras, se encuentran en estadios no muy avanzados de investigación pre-clínica. Por lo que es posible que en los próximos años, según se profundice en su conocimiento, alguna de ellas pueda demostrar ser beneficiosa en el tratamiento o prevención de la EA.

En conclusión, el panorama en el tratamiento de la EA está avanzando constantemente y se está trabajando de manera continuada en la búsqueda de nuevas estrategias que puedan actuar en la progresión de esta patología, sin embargo el principal problema es la proyección traslacional de los hallazgos obtenidos en animales. Como se ha detallado en esta revisión, un gran número de estrategias que arrojan resultados prometedores en estudios pre-clínicos no demuestran ningún beneficio o se encuentran con importantes efectos secundarios cuando se prueban en seres humanos.

6. BIBLIOGRAFÍA

Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, Varisco Y, Buccarello AL, Antonello K, Lohmann S, Piorkowska K, Gafner V, Atwal JK, Maloney J, Chen M, Gogineni A, Weimer RM, Mortensen DL, Friesenhahn M, Ho C, Paul R, Pfeifer A, Muhs A, Watts RJ. An effector-reduced anti- β -amyloid ($A\beta$) antibody with unique $a\beta$ binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of $A\beta$. *J Neurosci*. 2012;32:9677-89.

Ávila de Grado J. Las proteínas implicadas en la Enfermedad de Alzheimer. En Antonio G. García y Luis Gandía coordinadores, *Fronteras en la Enfermedad de Alzheimer*, Universidad Autónoma de Madrid, 2002, p 69-78

Bard, F, Cannon, C, Barbour, R, Burke, RL, Games, D, Grajeda, H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson-Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Lieberburg I, Motter R, Nguyen M, Soriano F, Vasquez N, Weiss K, Welch B, Seubert P, Schenk D, Yednock T. Peripherally administered antibodies against amyloid -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000; 6: 916-919

Bohrmann B, Baumann K, Benz J, Gerber F, Huber W, Knoflach F, Messer J, Oroszlan K, Rauchenberger R, Richter WF, Rothe C, Urban M, Bardroff M, Winter M, Nordstedt C, Loetscher H. Gantenerumab: a novel human anti- $A\beta$ antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- β binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- β . *J Alzheimers Dis* 2012; 28:49-69.

Burstein AH, Zhao Q, Ross J, Styren S, Landen JW, Ma WW, McCush F, Alvey C, Kupiec JW, Bednar MM. Safety and pharmacology of ponezumab (PF-04360365) after a single 10-minute intravenous infusion in subjects with mild to moderate Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol* 2013; 36: 8-13.

Buttini M, Masliah E, Barbour R, Grajeda H, Motter R, Johnson-Wood K, Khan K, Seubert P, Freedman S, Schenk D, Games D. Beta-amyloid immunotherapy prevents synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005; 25:9096-101.

Carrera I, Etcheverría I, Fernández-Novoa L, Lombardi V, Cacabelos R, Vigo C. Vaccine Development to Treat Alzheimer's Disease Neuropathology in APP/PS1 Transgenic Mice. *Int J Alzheimers Dis* 2012:376138.

Chen G, Chen KS, Kobayashi D, Barbour R, Motter R, Games D, Martin SJ, Morris, RGM. Active beta-amyloid immunization restores spatial learning in PDAPP mice displaying very low levels of beta-amyloid. *Journal of Neuroscience* 2007; 27: 2654-62.

Cramer PE, Cirrito JR, Wesson DW, Lee CY, Karlo JC, Zinn AE, Casali BT, Restivo JL, Goebel WD, James MJ, Brunden KR, Wilson DA, Landreth GE. ApoE-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science*. 2012; 335:1503-6.

D. Purves. Neurociencia, 5a edición. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 2016.

DaSilva K, Brown ME, Westaway D, McLaurin J. Immunization with amyloid-beta using GM-CSF and IL-4 reduces amyloid burden and alters plaque morphology. *Neurobiol Dis* 2006; 23:433-44.

DeMattos RB, Bales KR, Cummings DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8850-8855

DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Paul SM, Holtzman DM. Brain to plasma amyloid-beta efflux: a measure of brain amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* 2002; 295:2264-7.

Dodart JC, Bales KR, Gannon KS, Greene SJ, DeMattos RB, Mathis C, DeLong CA, Wu S, Wu X, Holtzman DM, Paul SM. Immunization reverses memory deficits without reducing brain Abeta burden in Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci* 2002; 5:452-7.

Farlow MR, Andreasen N, Riviere ME, Vostiar I, Vitaliti A, Sovago J, Caputo, Winblad B, Graf A. Long-term treatment with active A β immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2015; 7:23.

Farreras P, Rozman C. *Medicina Interna*, 17a ed. Barcelona, Elsevier, 2012.

Folch J, Ettcheto M, Petrov D, Abad S, Pedrós I, Marin M, Olloquequi J, Camins A. Una revisión de los avances en la terapéutica de la enfermedad de Alzheimer: estrategia frente a la proteína β -amiloide *Neurología* 2015, en prensa.

García S, Coral VRM, Meza DE, Lucino CJ et al. Enfermedad de Alzheimer: una panorámica desde su primera descripción hacia una perspectiva molecular. *Med Int Mex* 2009; 25:300-12.

Giménez-Llort L, Rivera-Hernández G, Marin-Argany M, Sánchez-Quesada JL, Villegas S. Early intervention in the 3xTg-AD mice with an amyloid β -antibody fragment ameliorates first hallmarks of Alzheimer disease. *MAbs*. 2013; 5:665-77.

González Rodríguez VM, Martín Martín C, Martín Prieto M, González Moneo MJ, García de Blas González F, Riu Subirana S. La enfermedad de Alzheimer. *SEMERGEN (España)*, 2004; 30: 18-33

<http://www.aceLOT.com/rxr.html>

<http://www.molecularneurodegeneration.com/content/8/1/36>

<https://biotecnologia.fundaciontelefonica.com/2011/06/03/vacunas-genicas-de-tercera-generacion-i/>

Janus C, Pearson J, McLaurin J, Mathews PM, Jiang Y, Schmidt SD, Chishti MA, Horne P, Heslin D, French J, Mount HT, Nixon RA, Mercken M, Bergeron C, Fraser PE, St George-Hyslop P, Westaway D. A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408:979-82.

Kotilinek LA, Bacskai B, Westerman M, Kawarabayashi T, Younkin L, Hyman BT, Younkin S, Ashe KH. Reversible memory loss in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2002; 22:6331-5.

Laird FM, Cai H, Savonenko AV, Farah MH, He K, Melnikova T et al. BACE1, a Major Determinant of Selective Vulnerability of the Brain to Amyloid- Amyloidogenesis, is Essential for Cognitive, Emotional, and Synaptic Functions. *J Neurosci* 2005; 25: 11693-11709.

Lannfelt L, Möller C, Basun H, Osswald G, Sehlin D, Satlin A, Logovinsky V, Gellerfors P. Perspectives on future Alzheimer therapies: amyloid- β protofibrils - a new target for immunotherapy with BAN2401 in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2014; 6:16.

Lemere CA, Spooner ET, Leverone JF, Mori C, Iglesias M, Bloom JK, Seabrook TJ. Amyloid-beta immunization in Alzheimer's disease transgenic mouse models and wildtype mice. *Neurochem Res* 2003; 28: 1017-27.

Lemere CA. Immunotherapy for Alzheimer's disease: hoops and hurdles. *Molecular Neurodegeneration* 2013; 8:36.

Mandler M, Santic R, Gruber P, Cinar Y, Pichler D, Funke SA, Willbold D, Schneeberger A, Schmidt W, Mattner F. Tailoring the antibody response to aggregated A β using novel Alzheimer-vaccines. *PLoS One*.2015: 10(1).

Manzano S, González JL, Marcos A, Payno M, Villanueva M, Matías-Guiu J. Modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer. *Neurología* 2009; 24(4), 255-262.

Maurer K, Volk, S, Gerbaldo, H. Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet*. 1997; 349: 1546–1549.

Medina M, Avila J. New perspectives on the role of tau in Alzheimer's disease. Implications for therapy. *Biochem Pharmacol* 2014; 88:540-7.

Monsonogo A, Zota V, Karni A, Krieger JI, Bar-Or A, Bitan G, Budson AE, Sperling R, Selkoe DJ, Weiner HL. Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with Alzheimer disease. *J Clin Invest* 2003; 112: 415-22.

Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE, Ugen KE, Dickey C, Hardy J, Duff K, Jantzen P, DiCarlo G, Wilcock D, Connor K, Hatcher J, Hope C, Gordon M, Arendash GW. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408:982-5.

Navarrete F, Pérez-Ortiz JM, Femenía T, García-Gutiérrez MS, García-Payá ME, Leiva-Santana C, Manzanares J. Methods to evaluate cognitive disorders in animal models. *Rev Neurol* 2008; 47: 137-45.

Neurociencia. Purves et al., 2016 (Edit. Médica Panamericana).

Nikolic WV, Bai Y, Obregon D, Hou H, Mori T, Zeng J, Ehrhart J, Shytle RD, Giunta B, Morgan D, Town T, Tan J. Transcutaneous beta-amyloid immunization reduces cerebral beta-amyloid deposits without T cell infiltration and microhemorrhage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 2507-12.

Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y, LaFerla FM. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 2003; 39:409-21.

Pesini P. Clinical trial phase I of a novel active immunization against C-terminal region of A β . World Vaccine Congress 2014. Brussels, Belgium.

Prieto, C., et al., Impacto social de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Madrid, Fundación Española de Enfermedades Neurológicas, 2011, 47 p.

Puli L, Pomeschchik Y, Olas K, Malm T, Koistinaho J, Tanila H. Effects of human intravenous immunoglobulin on amyloid pathology and neuroinflammation in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2012; 9:105.

Qu B, Rosenberg RN, Li L, Boyer P J, Johnston S A. Gene vaccination to bias the immune response to amyloid-beta peptide as therapy for Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2004; 61: 1859-64.

Rantama" ki T, Kempainen S, Autio H, Stave" n S, Koivisto H, et al. The Impact of Bdnf Gene Deficiency to the Memory Impairment and Brain Pathology of APPswe/PS1dE9 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 2013; 8: e68722.

Relkin N, Backes L, Schiff R. Changes in plasma cytokine levels correlate with clinical outcomes in Alzheimer's patients treated with intravenous immunoglobulin. *Alzheimers Dement* 2011; 7:S693.

Rueda N, Martínez-Cué C. Mouse models of Down syndrome and Alzheimer's disease: Similarities and differences. *Recent Advances in Alzheimer Disease*. (2015) 1:191-250.

Savonenko AV, Melnikova T, Laird FM, Stewart KA, Price PL, Wong PC. Alteration of BACE1-dependent NRG1/ErbB4 signaling and schizophrenia-like phenotypes in BACE1-null mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008; 105:5585-90.

Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson-Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Liao Z, Lieberburg I, Motter R, Mutter L, Soriano F, Shopp G, Vasquez N, Vandeventer C, Walker S, Wogulis M, Yednock T, Games

D, Seubert P. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999;400:173-7.

Villegas S. Enfermedad de Alzheimer: nuevas estrategias terapéuticas. *Medicina Clínica* 2015; 145: 76-83.

Wang CM, Devries S, Camboni M, Glass M, Martin PT. Immunization with the SDPM1 peptide lowers amyloid plaque burden and improves cognitive function in the APPswePSEN1 (A246E) transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2010; 39:409-22.

Weiner HL, Lemere CA, Maron R, Spooner ET, Grenfell TJ, Mori C, Issazadeh S, Hancock WW, Selkoe DJ. Nasal administration of amyloid-beta peptide decreases cerebral amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2000 Oct 48:567-79.

Wiessner C, Wiederhold KH, Tissot AC, Frey P, Danner S, Jacobson LH, Jennings GT, Lüönd R, Ortman R, Reichwald J, Zurini M, Mir A, Bachmann MF, Staufenbiel M. The second-generation active A β immunotherapy CAD106 reduces amyloid accumulation in APP transgenic mice while minimizing potential side effects. *J Neurosci* 2011; 31:9323-31.

Wilcock DM, Gharkaholonarahe N, Van Nostrand WE, Davis J, Vitek MP, Colton CA. Amyloid reduction by amyloid-b vaccination also reduces mouse tau pathology and protects from neuron loss in two mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2009; 29:795

Yan R, Vassar R. Targeting the β secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. *Lancet Neurol* 2014; 13: 319–329.

Zarranz JJ. *Neurología*, 5a ed. Madrid, Elsevier, 2012.

AGRADECIMIENTOS

A Carmen, por su disposición y porque sin su ayuda este trabajo no hubiera podido ser.

A mis padres, porque hay unos infinitos más grandes que otros, y luego están ellos.