



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

NUEVAS TERAPIAS DE LA ENFERMEDAD DEL ALZHEIMER: control de la carga amiloide

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2015

Autor: Gema Masiá Plá

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Javier Sáez Valero

ÍNDICE

- RESUMEN.....3
- ANTECEDENTES (introducción).....4-6
- ANTECEDENTES (patología).....6-15
- ANTECEDENTES (terapias actuales).....16-17
- OBJETIVO.....18
- NUEVAS TERAPIAS (inhibidores secretasa).....18-36
- NUEVAS TERAPIAS (inmunoterapia).....37-38
- CONCLUSIONES.....39



RESUMEN

El Alzheimer es una patología neurodegenerativa que esta presente en nuestra sociedad y en nuestro tiempo. Muchas familias lo viven de cerca, y poco a poco notan el deterioro de sus familiares, ya que, se va agravando cada día el síntoma más evidente, la pérdida de memoria. Básicamente, es una enfermedad que no tiene tratamiento específico y que se trata con inhibidores de acetilcolinesterasa y memantina ; tratamiento que simplemente mejora dentro de las posibilidades, la calidad de vida del paciente. Por este motivo, hay diferentes campos abiertos con respecto a nuevas terapias. Como ya se sabe, una de las causas más conocidas de esta patología es la acumulación de oligómeros A β por una mala regulación entre su formación y su eliminación. Es lógico que la disminución de la carga amiloide sea uno de esas vías de tratamiento: Actuando sobre esos oligómeros, o bien cuando ya están formados favoreciendo su eliminación mediante inmunoterapia, o bien disminuyendo su producción, y así impedir su acumulación mediante los inhibidores de las secretasas. En el presente, mundialmente hay varios grupos de investigación multidisciplinarios estudiando estos tratamientos, que presentan varios candidatos basados en lo anteriormente mencionado. Sin embargo , ninguno llega a ser lo que los investigadores buscan, porque es difícil diseñar fármacos específicos, eficientes y seguros al mismo tiempo.

ANTECEDENTES

1.1. Introducción

En los comienzos del siglo XXI es innegable el increíble avance que existe en la ciencia, particularmente en los campos de la Medicina y Farmacia. Dicho avance se ha hecho de notar en poco tiempo; es decir, se ha generado rápidamente una “nueva” ciencia, donde los progresos, unidos al avance tecnológico, se han dado a pasos agigantados. Sin embargo, las expectativas creadas en ocasiones se ven frustradas y este avance se queda estancado en su aplicación en terapia. Tanto es que existe una transición epidemiológica, esto es, que muchas de las enfermedades que antes eran infecciosas están pasando a ser crónicas. Por otro lado se están observando una gran cantidad de enfermedades degenerativas tanto a nivel neuronal como a nivel muscular u óseo. Estas enfermedades degenerativas son relativamente nuevas, al aparecer muchas de ellas asociadas al envejecimiento de la población que se está produciendo en las últimas décadas, los esfuerzos para su estudio son ingentes y necesarios para dar una mejor calidad de vida al paciente. A nivel social estas enfermedades degenerativas son bastante importantes, ya que no sólo afecta al paciente y a su capacidad de valerse por si mismo, sino a las personas que rodean al paciente.

Dentro de estas “nuevas” enfermedades se encuentran las demencias neurodegenerativas asociadas al envejecimiento, en las cuales se da un declive en la función neuronal normal. El Alzheimer es una de estas enfermedades neurodegenerativas, y hace apenas 100 años se diagnosticó el primer caso. Durante varias décadas se le restó importancia a este tipo de enfermedades y era considerada una forma rara de demencia presenil. En 1906, Alois Alzheimer describió las características clínicas y anatomopatológicas de la paciente Auguste D, que con 51 años presentaba un trastorno clínico de delirio celotípico, deterioro progresivo de la memoria y, que

finalmente desarrolló un cuadro de demencia con desorientación, afasia, apraxia, agnosia e incapacidad para realizar las actividades de la vida diaria. Esta paciente falleció a la edad de 56 años en un estado de demencia avanzada.¹

Hoy en día cada vez se incrementa el interés mostrado hacia estas personas que padecen esta enfermedad y sus familias. Normalmente el mayor peso del cuidado recae sobre una persona denominado cuidador principal. Sobre éste va aumentando la carga de forma proporcional con la progresión de la enfermedad, como resultado de esta sobrecarga hay un empeoramiento de la calidad de vida del cuidador. Esto es un factor directo para que disminuya a su vez la calidad de vida del paciente, por lo que se deduce la importancia de mejorar la asistencia tratando las alteraciones de conducta de los afectos de Alzheimer. No es menos importante actuar sobre el cuidador para enseñarle e informarle sobre la enfermedad. Es comprensible que los cuidadores, que la mayoría de las veces son familiares estén afectados psicológicamente, porque ven como alguien cercano a ellos está siendo “devorado” por la patología, y que no hay remedio. Aun existiendo empatía con la situación es difícil contextualizar adecuadamente el sufrimiento del cuidador en el convivencia con la enfermedad y el daño psicológico que le acarrea.

Los pacientes con Alzheimer, excepto en etapas tardías, no manifiestan externamente el gran deterioro que progresivamente van sufriendo. Son personas ancianas con una vida normal y de repente se encuentran que esas pequeñas pérdidas de memoria son la manifestación de un diagnóstico aplastante. La asunción de la patología, en una etapa en la que todavía conservan gran parte de sus capacidades es compleja y pueden entrar en una etapa donde pocas veces son conscientes de lo que no pueden hacer, y fácilmente entran en depresión. Es difícil ser consciente de la pérdida de la identidad propia y que dejas de ser la persona que has sido toda la vida. Debe

¹ Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psychiat. 1907;64:146-8.

ser angustioso querer decir las cosas y no poder porque no te salgan las palabras. Cuando entran en esas pequeñas depresiones, si no son efectivamente tratadas, se puede observar un rápido deterioro y agravamiento de la sintomatología de la enfermedad. Por esta razón es importante controlar tanto los periodos de depresión como de ánimo bajo, y poder tratarlo a nivel farmacológico para que esta progresión tan rápida no se llegue a dar. Hay casos que el deterioro es rapidísimo y en pocos meses la persona esta postrada siendo totalmente dependiente, por otro lado hay personas que conviven con la enfermedad durante años.

1.2. Patología

El Alzheimer (EA) es una proteinopatía que causa degeneración de una gran mayoría de los tipos neuronales que pueblan el cerebro. Esta enfermedad neurodegenerativa se manifiesta como deterioro cognitivo y trastornos conductuales, lo que conduce a una pérdida de la autonomía del enfermo, así como una disminución de la actividad social y laboral del paciente.²

Envejecer a nivel médico se trata de un proceso degenerativo multiorgánico que ocurre antes de la muerte. Los órganos envejecen y se degeneran con el paso del tiempo, y el sistema nervioso es susceptible a este proceso. Con el paso del tiempo disminuye el volumen del cerebro, y esto se debe a un descenso de la densidad sináptica y del volumen de la sustancia blanca de los lóbulos frontales que participan en las capacidades ejecutivas. Este proceso “natural” no debe confundirse con la condición patológica.

El deterioro cognitivo leve (DCL) se trata de una alteración de una o varias funciones cognitivas o intelectuales, que no llega a afectar a la vida diaria del paciente. Hay dos tipos de DCL: en primer lugar se encuentra el amnésico (DCL-A), se trata del más conocido, y en segundo el no amnésico (DCL-NA).³

² Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. Lancet. 2006 ;368:387-403.

³ Molinuevo Guix JL. Role of biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2011;46:39-41.

No todo el DCL evoluciona a enfermedad de Alzheimer (EA), algunos no degeneran a situación patológica y otros evolucionan a otros desordenes que cursan con demencia. Más bien se tiene que plantear que el EA en primera instancia se manifiesta como DCL, tras lo cual claramente se manifiesta como tal con pérdida de capacidad cognitiva y autonomía.

El riesgo de que se desarrolle demencia y la rapidez con la que ocurra es mayor si se trata de DCL amnésico (DCL-A). Se puede afirmar que la manifestación de un DCL se corresponde con una etapa de transición entre el envejecimiento normal y la enfermedad de Alzheimer⁴, y por lo tanto, en estos casos representan enfermedad temprana de Alzheimer.⁵ En DCL, cuando antecede a EA (situación más común), la tasa de conversión a la enfermedad de Alzheimer con demencia clínica es 10-15% por año.^{4, 6}

El síntoma clínico principal de EA es la pérdida de memoria episódica, ocurren olvidos frecuentes, desorientación, reducción de la iniciativa y ausencia de la conciencia de la enfermedad. Tras esto y de manera progresiva, aumenta la pérdida de memoria a corto plazo y afasia, a esto se añaden trastornos en las funciones ejecutivas. Conforme se va desarrollando la enfermedad hay un aumento de la pérdida de autonomía.

Los principales síntomas psicoconductuales de esta enfermedad se comentaran a continuación. La depresión, es una alteración del estado de ánimo que se manifiesta por tristeza y/o anhedonía.

El tipo de ansiedad que de forma más frecuente se asocia al EA es el trastorno de ansiedad generalizada (TAG), en el que parece desempeñar un papel

⁴ Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004; 256:183-94.

⁵ Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR. Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2006; 63: 38-46.

⁶ Visser PJ, Scheltens P, Verhey FR. Do MCI criteria in drug trials accurately identify subjects with pre-dementia Alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1348-54.

importante el desequilibrio entre los diferentes sistemas de neurotransmisión, junto a las lesiones causadas por la EA en determinadas regiones cerebrales.⁷ Conviene no olvidar que la ansiedad se puede manifestar con otras alteraciones conductuales, como es la irritabilidad, y se asocia en la mayoría de los casos a una depresión.

Los pacientes con EA también padecen de conducta motora anómala (CMA), que consiste en una actividad anormal y repetitiva. En muchos casos estos pacientes sufren de agitación que derivan en períodos de agresividad. Por otro lado, pueden verse afectados la alimentación y el sueño.

Hay diferentes formas de clasificar la evolución de la enfermedad, la más conocida es la escala Reisberg que lo define en 7 estadios, los cuales se pueden englobar en 3: leve, moderado y grave. La primera fase que se trata de una demencia leve se encuentran los estadios del 1 al 3, y reúnen los primeros síntomas: pérdida de la memoria inmediata, cambios del comportamiento, problemas de expresión y desconocimiento en algunos momentos del espacio y el tiempo. La segunda fase, es decir una demencia moderada donde se encuentran los estadios 4 y 5, hay un emparejamiento de los síntomas de la fase anterior. Se le suma recordar el pasado, períodos más agresivos y aquí deja de ser autónomo. La última fase es la más grave, dentro de la cual se encuentran los estadios 6 y 7. Hay una pérdida generalizada de la memoria, lenguaje incoherente, trastornos motores, no comprende las situaciones ni las explicaciones. En este momento muchos de los pacientes se encuentran encamados y comienzan las infecciones y el deterioro generalizado.⁸

Dentro de la etiología se encuentra principalmente la acumulación de ciertas proteínas a nivel cerebral. Esta acumulación proviene de dos vías donde la actividad fisiológica no se encuentra normalizada. Estos acúmulos determinan

⁷ Hashimoto H, Monserratt L, Nguyen P, et al. Anxiety and regional cortical glucose metabolism patients with Alzheimer's disease. J Neuropsychiatry Clin Neurosci.2006;28:521-8.

⁸ Portal afa: <http://www.alzheimeralicante.org/que-es-alzheimer/evolucion/>

las placas y los ovillos en el cerebro. Las placas van asociadas a una mala actividad de enzimas denominadas secretasas, que determinan aumentos en los niveles del péptido amiloide⁹, y los ovillos a una hiperfosforilación de la proteína citoesquelética tau.^{10,11} La hipótesis de la cascada amiloide (Figura 1)¹² se podría considerar como la hipótesis central de la etiología, en la cual el evento que desencadena la patología es el desequilibrio entre la producción y la eliminación del péptido amiloide ($A\beta$), acabando con una degeneración neuronal y demencia.¹³

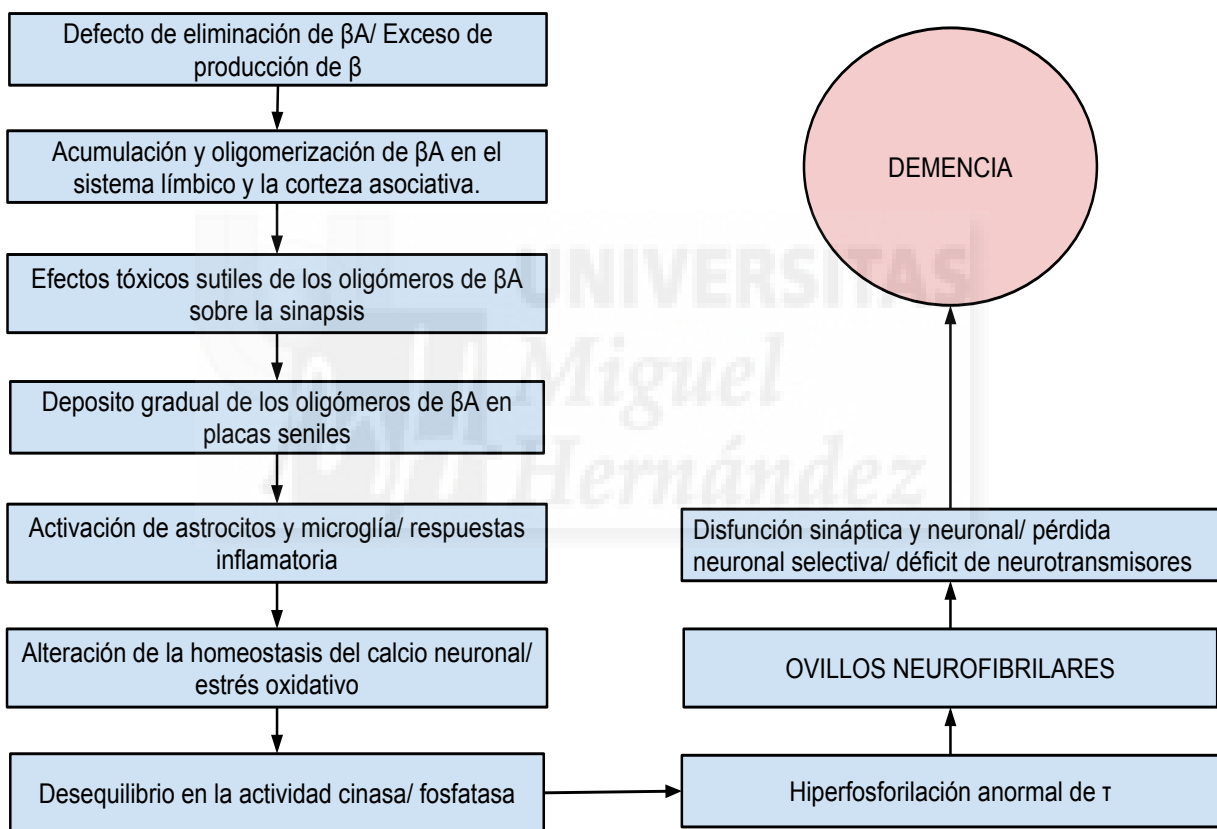


Figura 1. Hipótesis de la cascada amiloide

⁹ Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, Mc Donald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. Proc Natl Acad Sci. 1985; 82:4245-49.

¹⁰ Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. Proc Natl Acad Sci. 1986 ;83:4913-7.

¹¹ Nukina N, Ihara Y. One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein. J Biochem. 1986;99:1541-44.

¹² Modificada: Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. Science. 2002;298:789-91.

¹³ Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science 2002; 297: 353-56.

La proteína precursora amiloide (APP) es una glucoproteína transmembrana tipo I que posee un dominio terminal aminoextracelular de 590-680 aminoácidos (aa) y una cola carboxiterminal citoplásmica de 55 aa. Dicha proteína es un constituyente normal de diferentes tipos celulares, incluyendo neuronas y astrocitos.¹⁴ Sin embargo, las funciones como tal de esta proteína no están del todo claras.

El APP puede ser procesado a partir de α - o β - y γ -secretasas, definiéndose dos vías: la amiloidogénica y la no amiloidogénica, ambas co-existiendo en condiciones fisiológicas. En la vía no amiloidogénica (figura 2)² se da un procesamiento secuencial, primero por la α -secretasa, que cortando en medio del dominio del A β lo que evita su formación; de este modo se libera un fragmento largo sAPP α extracelular y el fragmento C-terminal que permanece ligado a membrana hasta ser cortado por la γ -secretasa.²

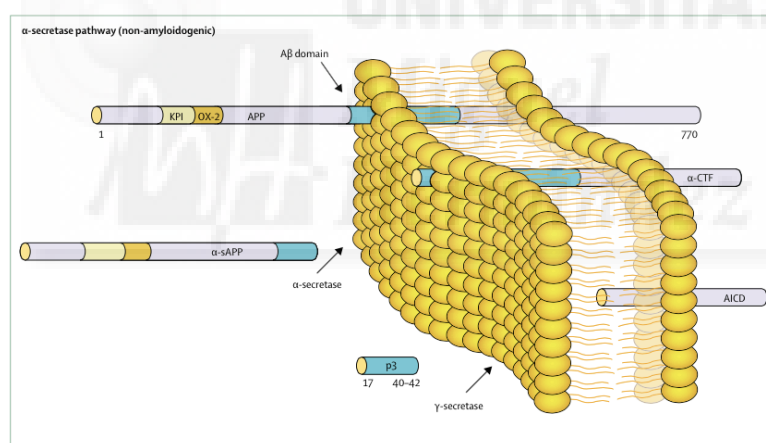


Figura 2: Vía no amiloidogénica.

Para el procesamiento amiloide (Figura 3)² primero corta la β -secretasa, que libera un sAPP β , y el fragmento de membrana, sustrato de γ -secretasa es procesado para rendir el A β y un fragmento corto intracelular.²

¹⁴ Masters CL, Beyreuther K. Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease. En: Dickson DW, ed. Neurodegeneration: The molecular pathology of dementia and movement disorders. Basel: ISN Neuroath Press;2003.p.69-73.

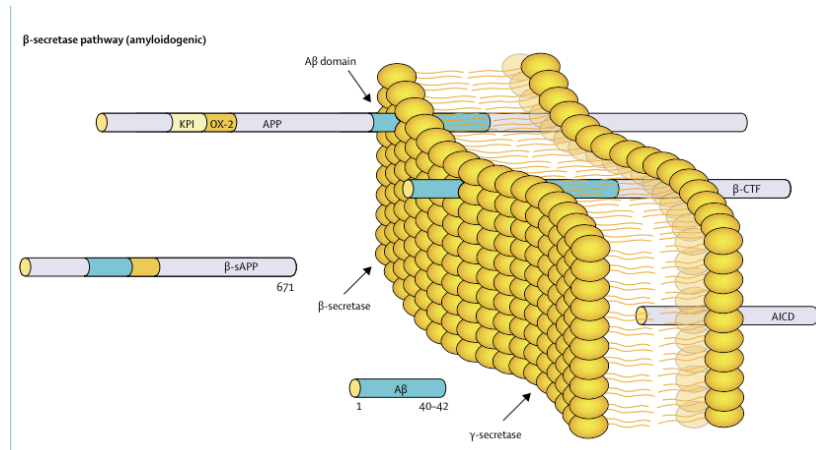


Figura 3: Vía amilogénica

El Aβ generado por esta vía, y principalmente la especie formada por 42 aminoácidos (Aβ42), es muy fibrilar y los oligómeros solubles que forman resultan muy tóxicos. Finalmente el exceso de Aβ queda secuestrado en las placas amiloides propias del Alzheimer.^{15, 16} En este punto se da la investigación de las nuevas terapias que se comentaran más adelante.

Por otro lado en los microtúbulos de las neuronas encontramos la proteína tau, cual principal función es la estabilización de los microtúbulos axonales a través de la interacción con la tubulina (Figura 4)¹⁷. Esta interacción está mediada por el grado de fosforilación de tau, la cual se regula por cinasas y fosfatasas, que determinan la formación de filamentos helicoidales pareados.¹⁷ Hasta este punto no ocurre nada, el problema se da cuando hay una mala regulación y la tau se hiperfosforila creando un conjunto insoluble de filamentos que se llaman

¹⁵ Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT Jr. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 1993; 32: 4693-97

¹⁶ Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron* 2004; 44: 181-93.

¹⁷ Iqbal K, Alonso Adel C, Chen S, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739: 198-210.

ovillos neurofibrilares.¹⁷ La principal cinasa que participa en este proceso patológico se ha identificado como la GSK3 β .¹⁸

La relación entre ovillos intracelulares y placas extracelulares no acaba de entenderse y sigue siendo materia de investigación y discusión.

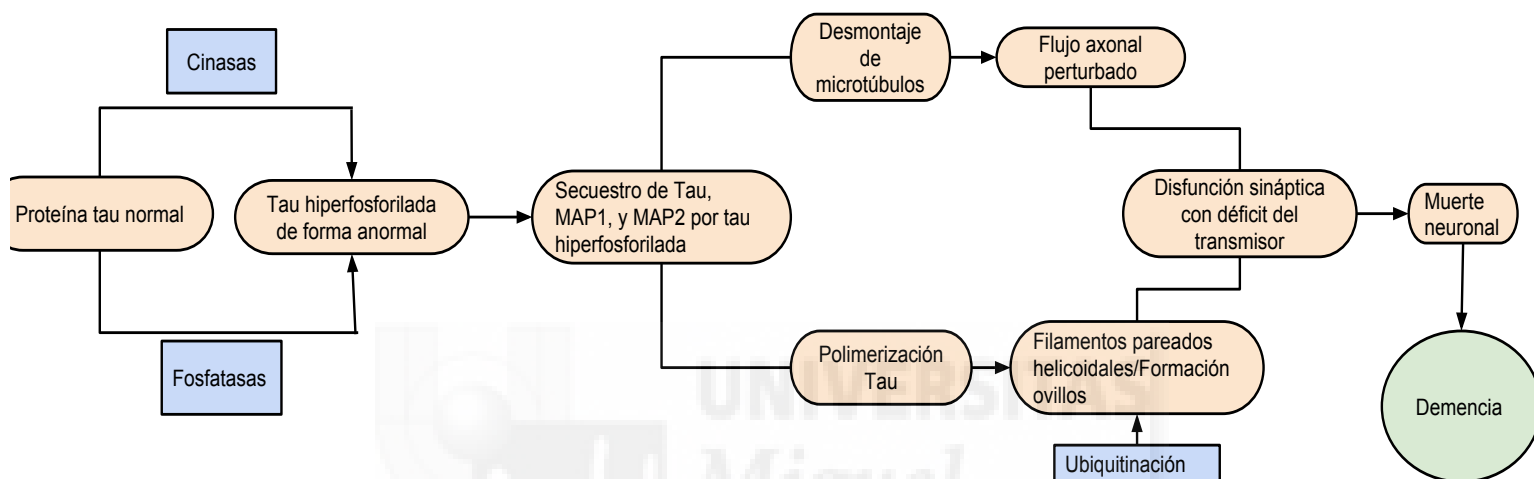


Figura 4: Proteína Tau en la EA

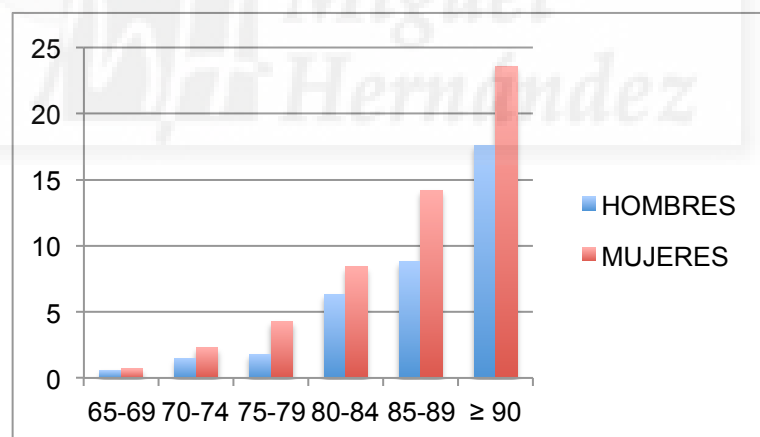
Teóricamente, la prevalencia de una enfermedad depende de la incidencia y de la mortalidad, y en ausencia de estrategias preventivas, los cambios en la prevalencia solamente dependen de la mortalidad. Los estudios de prevalencia permiten conocer el número de “casos” observados en una zona concreta. El problema surge que a pesar de existir un gran número de estudios de prevalencia, aunque se hayan utilizado la misma metodología, las tasas presentan grandes variaciones. Todos los trabajos muestran un incremento exponencial de la prevalencia con la edad, que se dobla cada 4,5 años a partir de los 65 años.¹⁹ Estas variaciones tan significativas se pueden deber a sesgos

¹⁸ Medina M, Avila J. Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des* 2010;16:2790–8.

¹⁹ Jorm AF, Korten AE, Henderson AS. The prevalence of dementia: a quantitative integration of the literatura. *ActaPsychiatr Scand*. 1987;76: 465-79

metodológicos, y a diferencias en la esperanza de vida y en la supervivencia después del inicio de la enfermedad o bien debido a la existencia de variaciones geográficas en la distribución de los factores de riesgo.

De cualquier modo, se calcula que a principios del siglo había unos 24 millones de personas con AD en todo el mundo, dato que se estima que se duplica cada dos décadas, hasta los 81 millones en 2040, como consecuencia del aumento de la esperanza de vida.²⁰ Como se ha mencionado anteriormente la edad y esta enfermedad están íntimamente ligados, por lo que se trata del factor de riesgo más importante. Por otro lado se ha observado que hay una mayor prevalencia en el sexo femenino, aunque este hecho no tiene razones conocidas. Como se puede observar en la siguiente gráfica (Gráfica1)²¹ el aumento de la prevalencia con respecto a la edad es progresivo, a su vez aunque no exista una etiología conocida, hay una diferencia significativa entre mujeres y hombres.



Gráfica 1. Prevalencia de enfermedad de Alzheimer ajustada por edad y sexo en Europa.

²⁰ Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi Consensus study. Lancet 2005;366:2112-17.

²¹ Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, et al. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe. A collaborative study of population-based cohorts. Neurology.2000;54:S4-9.

Respecto a la historia familiar, aproximadamente un 40% de los pacientes con EA presentan una historia familiar de primer grado, esto es que por tener antecedentes familiares de esta enfermedad se presentan de 2 a 3 veces más riesgo con respecto a la población general. En las formas tempranas de la EA hasta el 60% de los pacientes tienen historia familiar²²; aunque estas formas siguen siendo muy minoritarias respecto a la EA esporádica. Dentro de esta forma encontramos 3 genes relacionados que presentan mutaciones asociadas a la aparición de la enfermedad: en el gen que codifica a la APP, y particularmente el de la presenilina 1 y el de la presenilina 2 que son las subunidades catalíticas de la γ -secretasa.^{23,24} En cambio si la enfermedad se presenta en forma tardía no se han identificado mutaciones, sino tan solo factores de riesgo genéticos, siendo el gen más importante por su incidencia el que codifica para la apolipoproteína E (ApoE) y su variantes alélica $\epsilon 4$, aunque existen otros. Ser portador de la variante ApoE 4 no es condición necesaria ni suficiente para padecer la enfermedad, aunque duplica el riesgo de padecerla.²⁵

Hasta aquí se han descrito factores de riesgo que se han confirmado y relacionado con toda la evidencia científica. De otro lado, existen condiciones relacionadas con ámbitos de vida saludable que también son factores de riesgo asociados a esta patología, pero necesitan más estudios, como son: hipercolesterolemia, hipertensión, aterosclerosis, enfermedad coronaria del corazón, fumar, obesidad y diabetes.²⁶

²² Pedersen NL. Reaching the limits of genome-wide significance in Alzheimer disease: back to the environment. *JAMA*.2010;303:1864-5.

²³ Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754-60.

²⁴ Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269: 973-77.

²⁵ Seto-salvia N, Clarimón. Genética en la enfermedad del Alzheimer. *Rev Neurol*.2010;50:360-4.

²⁶ Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 81-104.

En relación con el diagnóstico tiene como base la historia clínica, la exploración clínica, neurológica y psiquiátrica. La neuroimagen, el TAC y la resonancia magnética juegan un papel importante en el diagnóstico a la hora de excluir otras causas de la demencia, como podría ser tumor cerebral o hematoma subdural. Los criterios del Instituto Nacional de Enfermedades Neurológicas y comunicativas y accidente cerebrovascular y enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados Asociación (NINCDS-ADRDA), que se utilizan en clínica fueron publicados hace más de 20 años.²⁷ Estos criterios dependen en gran medida a la exclusión de otras demencias. Un diagnóstico definitivo de EA sólo puede darse por la neuropatología que sufre el paciente. Alrededor del 50% de los pacientes con enfermedad neuropatológica tienen una patología cerebrovascular concomitante^{28, 29, 30}, por otro lado existe una gran superposición entre EA y demencia de cuerpos de Lewy.³¹ Por lo que en conclusión, solamente un tercio de las pacientes definidos como Alzheimer, tiene puramente la patología.³² De acuerdo, con dichos criterios, EA no puede ser realmente diagnosticado hasta que el paciente tenga demencia, es decir hasta que el paciente no muestre señales cognitivas suficientemente graves como para afectar a las actividades sociales o laborales.⁵ Lo ideal dentro del ámbito del diagnóstico clínico de la enfermedad sería encontrar nuevos biomarcadores para detectar la enfermedad y para poder predecirla años antes, con una sensibilidad y una especificidad de no menos del 80%.³³

²⁷ McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of departamento of health and human services task forcé on Alzheimer's disease. *Neurology*.1984;34:939-44.

²⁸ Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, Riley KP, Greiner PA, Markesbery WR. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease: the Nun Study. *JAMA* 1997; 277:813-17.

²⁹ Neuropathology Group of the Medical Research Council Cognitive Function and ageing Study. Pathological correlates of late-onset dementia in a multicentre, community-based population in England and Wales. *Lancet* 2001;357: 169-75.

³⁰ Lim A, Tsuang D, Kukull W, et al. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc*. 1999;47: 564-69.

³¹ Lopez OL, Becker JT, Kaufer DI, et al. Research evaluation and prospective diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Arch Neurol*.2002;59:43-46.

³² Lim A, Tsuang D, Kukull W, et al. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc*. 1999;47: 564-69.

³³ Anon. Consensus report of the Working Group on molecular and biochemical markers of Alzheimer's disease: the Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol Aging*.1998; 19: 109-16.

1.3. Tratamiento actual

Recientemente se está desarrollando a nivel científico nuevas terapias contra el Alzheimer buscando la cura de la enfermedad. Aunque se de este desarrollo e investigación, a la hora de la práctica clínica aún se utilizan tan solo terapias paliativas, que se podría decir que otorgan al paciente y a su entorno una cierta calidad de vida. Dentro de esta terapia actual se encuentran los inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa y la memantina.

Los inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChEIs) se inició como terapia de AD al observarse una neurotransmisión colinérgica deficiente en pacientes. El mecanismo normal del sistema colinérgico es el siguiente; la acetilcolina se encuentra en la neurona presináptica, la cual mediante vesículas y una despolarización vierte el neurotransmisor a la hendidura sináptica. Esta acetilcolina interacciona con receptores que se encuentran en la membrana postsináptica, receptores que pueden ser de tipo muscarínico o nicotínico. La acetilcolinesterasa (AChE) es la enzima que es la que se encarga de hidrolizar la acetilcolina en colina y acetato, deteniendo la señalización. El objetivo de la terapia con AChEIs es preservar los niveles más altos posibles de acetilcolina en la sinapsis, y de esta manera aumentar la actividad cerebral del paciente.³⁴ Dentro de los AChEIs que se emplean en la actualidad se encuentran donepezilo, rivastigmina y la galantamina, habiendo quedado el primero que se desarrolló, la tacrina, ya en desuso por su efectos secundarios a nivel hepático.

Donepezilo tiene como mecanismo de acción la inhibición no competitiva de la AChE. Se administra por vía oral, posee una alta unión a proteínas plasmáticas, una larga semivida de eliminación y su metabolismo es hepático.³⁵

³⁴ Lleó A, Greenberg SM, Growdon JH. Current. Pharmacotherapy for Alzheimer's Disease. Annu Rev Med. 2006;57:513-33.

³⁵ Rang H.P, Dale M.M, Ritter J.M, Flower R.J. Farmacología. Sexta Edición. Barcelona, España; Editorial Elsevier;2008.

El mecanismo de acción de la rivastigmina es diferente al anterior, ya que se trata de un carbamato que inhibe de forma pseudo-irreversible la AChE por carbamitación del enzima. Se administra por vía oral o mediante parches transdérmicos cada 24 h.³⁵

La galantamina se trata de un inhibidor reversible y competitivo de la AChE de origen natural. Su administración es únicamente de forma oral y posee un metabolismo hepático.³⁵

A pesar de las diferencias de acción de estos tres fármacos las reacciones adversas son similares. Como la mayoría de fármacos tiene reacciones adversas que cursan con náuseas y vómitos, anorexia, fatiga e insomnio.

Como se ha comentado, la tacrina era un fármaco de este grupo que se utilizaba mucho pero fue retirado por su alta hepatotoxicidad.^{36,37}

Una vez visto el tratamiento actual, con fármacos que intentan enlentecer el progreso de la patología a nivel paliativo, pero como no van dirigidos hacia el origen de la EA, se entiende la preocupación que hay en el campo. Lo triste de esta enfermedad es no poder frenar su progresión, ya que ,en la actualidad se puede tratar, pero no curar. Aquí entra el juego el trabajo de los investigadores del siglo XXI que desarrollan nuevas vías para encontrar una terapia selectiva que haga frenar e incluso prevenir una enfermedad tan devastadora como es esta. A partir de aquí se expondrán esas nuevas terapias que ahora mismo están siendo estudiadas por estos científicos.

³⁶ Summers WK, Majovski LV, Marsh GM, et al. Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. N. Engl. J.Med.1986;315: 1241-45.

³⁷ Knapp MJ, knopman DS, Solomon PR, et al. A 30-week randomized controlled trial pf high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. JAMA. 1994; 271:985-91.

2. OBJETIVO

La finalidad de mi trabajo de final de grado es la revisión de parte de la bibliografía científica que hoy en día existe sobre el tratamiento en desarrollo de la enfermedad del Alzheimer. De esta manera, se ha dado sólo unas pinceladas sobre la terapia que actualmente se utiliza, que solamente es paliativa, y por otro lado me centraré en las nuevas terapias de las cuales se están llevando a cabo investigaciones. Con estas nuevas terapias se quiere llegar a “curar” la enfermedad porque como se ha visto anteriormente se trata de un problema de interés médico social.

3. NUEVAS TERAPIAS

1.2 INHIBIDORES DE SECRETASAS

Anteriormente se ha concretado como origina el péptido A β , que los oligómeros solubles del mismo son el principal agente patológico del EA y que el exceso de los mismos degenera en las placas amiloide. Recordemos que la proteína de membrana APP sufre un procesamiento proteolítico por diversas secretasas, y que el procesamiento secuencial por β -secretasa y γ -secretasa rinde el A β junto con otros fragmentos de diversos tamaños. Llegado a este punto es lógico que se estén desarrollando inhibidores de dichas dos proteasas para intentar prevenir el exceso de generación de A β en el cerebro. Durante años ha habido una progresión en la investigación de inhibidores de secretasas y se han puesto de manifiesto obstáculos a la hora de su desarrollarlo como tratamiento para esta patología.

1.2.1 INHIBIDORES γ -SECRETASA

La γ -secretasa es un complejo enzimático proteolítico que juega un papel importante en la generación de A β , luego también constituyen diana para la reducción en la producción de A β , y por esta razón se abrió un campo de investigación con muchas esperanzas alrededor de esta idea. Recientemente, hasta la fecha el desarrollo de inhibidores de γ -secretasa no se ha visto que funcionaran como los investigadores esperaban.

Para empezar una línea de investigación sobre la inhibición de un complejo, se debe conocer información acerca de él. En este caso el complejo gamma secretasa está formado por 4 subunidades. La relación de presenilinas con la actividad γ -secretasa ya se sospechó cuando se identificó que las mutaciones que causaba el EA familiar se localizaban principalmente en los genes de presenilina humana (PSEN1 y PSEN2). A partir de este momento se concluyó que las presenilinas (PS) podrían ser susceptibles de inhibición. Tanto la PS1 como la PS2 se procesan por actividad autocatalítica, generando dos fragmentos N- y C-terminales que interaccionando constituyen el centro activo de la actividad γ -secretasa, con cada fragmento conteniendo uno de los residuos aspartil que dan lugar al centro catalítico de la proteasa.³⁸ Hoy en día se conoce que en cada complejo de γ -secretasa hay una PS1 (o en su defecto su homóloga PS2) junto a otras 3 subunidades denominadas nicastrin, APH-1, y PEN-2, que son cofactores esenciales para la actividad γ -secretasa, siendo el conjunto lo que genera la actividad y la estabilidad del complejo.^{39,40,41}

³⁸ Wolfe MS, Xia W, Ostaszewski BL, Diehl TS, Kimberly WT, Selkoe DJ. Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and γ -secretase activity. *Nature*. 1999;398:513–17.

³⁹ De Strooper B, Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active γ -secretase complex. *Neuron*. 2003; 38:9–12.

⁴⁰ Hayashi I, Urano Y, Fukuda R, et al. Selective reconstitution and recovery of functional γ -secretase complex on budded baculovirus particles. *J. Biol. Chem.* 2004; 279:38040–46.

⁴¹ Kimberly WT, LaVoie MJ, Ostaszewski BL, Ye W, Wolfe MS, Selkoe DJ. γ -Secretase is a membrane protein

Además de la posible sustitución de PS1 por PS2, en humanos hay dos variantes para APH-1 y se discute cual puede ser más relevante en la condición de disfunción del complejo γ -secretasa en la EA.³⁹ La actividad γ -secretasa además de en el procesamiento de APP está involucradas en diferentes funciones fisiológicas, procesando otros muchos sustratos como Notch, por lo que es muy lógico que su bloqueo pueda generar potenciales efectos adverso, como ya se verá al repasar el ensayo clínico de un candidato llamado semagacestat. Cabe anticipar que Notch es una proteína transmembrana que funciona como receptor de señales extracelulares, y de esta manera participa en varias rutas de señalización durante el desarrollo. Su principal finalidad es controlar los destinos celulares mediante la amplificación y consolidación de diferencias celulares entre las células adyacentes.⁴² Por ello, se necesita saber cómo interacciona γ -secretasa selectivamente con diferentes sustratos, y como afectan diversas condiciones patológicas y fisiológicas a cada una de las subunidades.

A partir de este punto se va a hacer una revisión de evolución de los candidatos de inhibidores de γ -secretasa (GSI), que se comenzaron a diseñar con observaciones empíricas e intuición química.

El primer modelo fue el L-685,458 (Figura 5)⁴³ se utilizó para acreditar que PS1 constituía el centro catalítico de la γ -secretasa.^{44,45} Este tipo de inhibidores no

complex comprised of presenilin, nicastrin, aph-1, and pen-2. Proc. Natl. Acad. Sci.2003; 100:6382–87.

⁴² Portal pubmed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051880>

⁴³ De Strooper B1, Chávez Gutiérrez L. Learning by failing: ideas and concepts to tackle γ -secretases in Alzheimer's disease and beyond. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2015;55:419-37.

⁴⁴ Esler WP, Kimberly WT, Ostaszewski BL, et al. Transition-state analogue inhibitors of γ -secretase bind directly to presenilin-1. Nat. Cell Biol.2001; 2:428–34.

⁴⁵ Li YM, Xu M, Lai MT, et al. Photoactivated γ -secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. Nature.2000; 405:689–94.

discriminaba entre los diversos complejos o sustratos, y además no se llevaron a cabo ensayos relacionados con la EA.⁴⁶

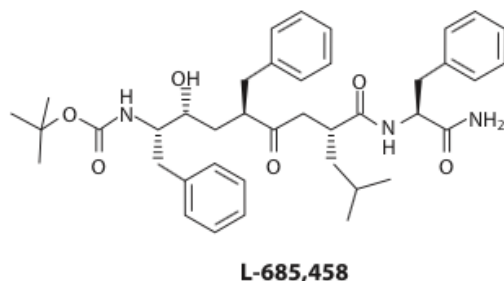


Figura.5. Estructura química L-685,458

El diseño del segundo grupo de candidatos se basó en la unión de los GSI a la PS1 en el centro alostérico. El candidato más estudiado en este grupo fue el DAPT (Figura 6)⁴³, el cual poseía una IC₅₀ de 20 nm para A β en ensayos celulares, y era activo en forma oral aunque muy poco selectivo frente a otros sustratos.⁴⁷

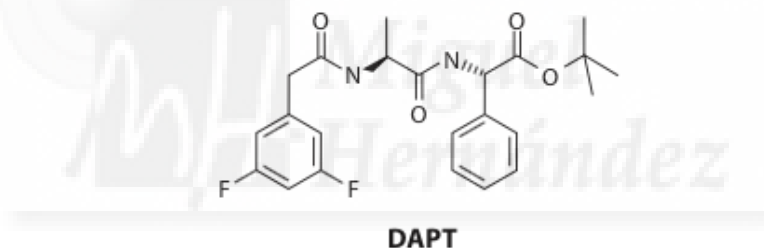


Figura. 6. Estructura química DAPT

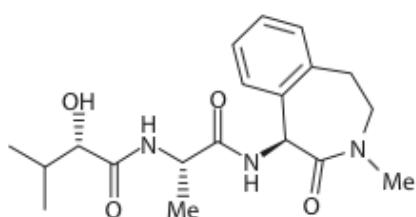
Continuando en este mismo grupo se sintetizaron otros GSI alostéricos que se clasificaron como carboxamida y otros GSI que contienen arilsulfonamida.⁴⁸ Un ejemplo es el semagascetat (Figura 7)⁴³ perteneciente al grupo carboxamida, el

⁴⁶ Kreft AF, Martone R, Porte A. Recent advances in the identification of γ -secretase inhibitors to clinically test the A β oligomer hypothesis of Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 2009; 52:6169–88.

⁴⁷ Dovey HF, John V, Anderson JP, et al. Functional γ -secretase inhibitors reduce beta-amyloid peptide levels in brain. *J. Neurochem.* 2001; 76:173–81.

⁴⁸ Svedruzic ZM, Popovic K, Sendula-Jengic V. Modulators of γ -secretase activity can facilitate the toxic side-effects and pathogenesis of Alzheimer's disease. *PLOS ONE.* 2013; 8:e50759.

cual se explicara más detalladamente. Todos estos GSI inhiben el procesamiento de Notch además de APP, y esta falta de selectividad puede ser conflictiva. Incluso algunos a bajas concentraciones han resultado en aumentos en la generación de A β , un mecanismo “rebote” inesperado y que hasta la fecha no se entiende.⁴⁸



Semagacestat

Figura. 7. Estructura química semagacestat

Para poder evitar estos problemas los investigadores diseñaron el SCH 697466 (Figura 8)⁴³ que administrándolo a dosis intermitentes permitía una señalización suficiente de Notch, pero también regular a la baja la producción de A β .⁴⁹ Sin embargo, este fármaco necesitaba un seguimiento y una dosificación individualizada por paciente. Los investigadores encontraron la vía de desarrollo de inhibidores más selectivos para APP como el avagacestat⁵⁰ (Figura 9)⁴³, aunque también se observaron problemas similares a los observados con el semagacestat, incluyendo efectos adversos y su ensayo clínico también ha sido discontinuado.

⁴⁹ Hyde LA, Zhang Q, Del Vecchio RA, et al. In vivo characterization of a novel γ -secretase inhibitor SCH 697466 in rodents and investigation of strategies for managing notch-related side effects. *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2013;823528.

⁵⁰ Coric V, van Dyck CH, Salloway S, et al. Safety and tolerability of the γ -secretase inhibitor avagacestat in a phase 2 study of mild to moderate Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 2012; 69:1430–40.

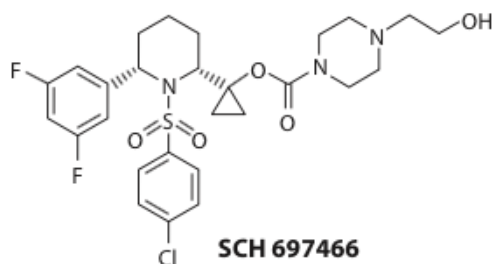


Figura. 8. Estructura química SCH 697466

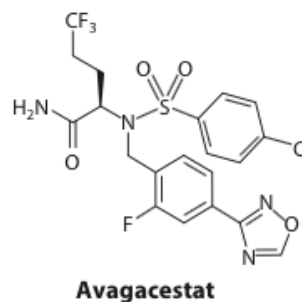


Figura. 9. Estructura química Avagacestat

En un tiempo más presente se desarrollaron nuevos compuestos todavía más selectivos para APP con menor incidencia en la vía Notch, como el ELND006 (Figura 10)⁴³ y ELND007, pero los ensayos se interrumpieron porque se detectó hepatotoxicidad.⁵¹

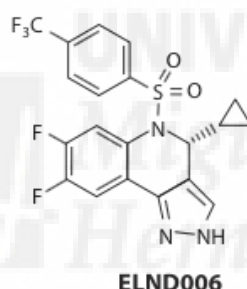


Figura. 10. Estructura química ELND006

El tercer grupo de GSIs consiste en la creación de péptido miméticos. Se trata, como ya se vio en el apdo. anterior de estructuras capaces de reemplazar a un péptido en las interacciones con receptores y enzimas.⁵² Estos péptidos miméticos se unirían a un hipotético lugar de unión del sustrato en el complejo. El primer candidato dentro de esta serie fue un péptido helicoidal que imitaba a

⁵¹ Probst G, Aubele DL, Bowers S, et al. Discovery of (R)-4-cyclopropyl-7,8-difluoro-5-(4-(trifluoromethyl)phenylsulfonyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline (ELND006) and (R)-4-cyclopropyl-8-fluoro-5-(6-(trifluoromethyl)pyridin-3-ylsulfonyl)-4,5-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]quinoline (ELND007): metabolically stable γ -secretase inhibitors that selectively inhibit the production of amyloid- β over Notch. J. Med. Chem. 2013;56:5261–7.

⁵² Portal Wikipedia: http://es.wikipedia.org/wiki/Péptido_mimético

los fragmentos de APP del carboxil terminal (APP-CTF).⁵³ El problema fue que no se logró alcanzar disponibilidad de dicho compuesto por vía oral.

Aunque haya falta de información detallada de la estructura, se han recapitulado datos sobre cómo los diversos inhibidores afectan al complejo de γ -secretasa; esto se debe a la exploración de la cisteína, la reticulación (formación de estructuras tridimensionales), y los estudios realizados de unión competitiva.^{54,55,56}

En conclusión, los estudios hasta la fecha han demostrado la toxicidad y falta de especificidad que cuestiona momentáneamente la aplicabilidad en terapia de los GSIs.

Avanzando en la evolución de nuevos GSIs se abrió una línea de investigación donde se generaron inhibidores selectivos de variantes del complejo γ -secretasa. No hay mucha información disponible por el momento, pero se conoce el desarrollo del MRK-560, un compuesto con perfiles farmacodinámicos orales muy buenos⁵⁷ que roedores apenas mostraban efectos secundarios aún con una posología alta y en períodos amplios de tiempo.⁵⁸

⁵³ Das C, Berezovska O, Diehl TS, et al. Designed helical peptides inhibit an intramembrane protease. *J. Am. Chem. Soc.* 2003; 125:11794–95.

⁵⁴ Tolia A, Horre´K, De Strooper B. Transmembrane domain 9 of presenilin 1 determines the dynamic conformation of the catalytic site of γ -secretase. *J. Biol. Chem.* 2008; 283:19793–803.

⁵⁵ Takagi S, Tominaga A, Sato C, Tomita T, Iwatsubo T. Participation of transmembrane domain 1 of presenilin 1 in the catalytic pore structure of the γ -secretase. *J. Neurosci.* 2010; 30:15943–50.

⁵⁶ Ohki Y, Higo T, Uemura K, et al. Phenylpiperidine-type γ -secretase modulators target the transmembrane domain 1 of presenilin 1. *EMBO J.* 2011; 30:4815–24.

⁵⁷ Best JD, Jay MT, Otu F, et al. In vivo characterization of A β (40) changes in brain and cerebrospinal fluid using the novel γ -secretase inhibitor N-[cis-4-[(4-chlorophenyl)sulfonyl]-4-(2,5-difluorophenyl)cyclohexyl]-1,1,1-trifluoromethanesulfonamide (MRK-560) in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 317:786–90.

⁵⁸ Best JD, Smith DW, Reilly MA, et al. The novel γ secretase inhibitor N-[cis-4-[(4-chlorophenyl)sulfonyl]-4-(2,5-difluorophenyl)cyclohexyl]-1,1,1-trifluoromethanesulfonamide (MRK-560) reduces amyloid plaque deposition without evidence of Notch-related pathology in the Tg2576 mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007; 320:552–58.

Se evidenció que este fármaco era aproximadamente 30 veces más selectivo para PS1 que para PS2.⁵⁹

Mientras que en principio un GSI inhibiría la actividad de γ -secretasa de manera genérica y resulta difícil avanzar en la especificidad, se conocen pequeños compuestos naturales y sintéticos que parecen afectar específicamente a la actividad carboxipeptidasa de la γ -secretasa, y de esta manera afectarían de manera diferente a los distintos péptidos A β .⁶⁰ Dentro de este grupo se encuentran unos compuestos que específicamente disminuyen la generación de la especie más tóxica de A β , el A β 42 y se desarrollan bajo el nombre de moduladores de γ -secretasa (GSM). Con estos compuestos se han hecho investigaciones y han demostrado en animales que pueden proteger contra la generación de péptidos fibrilares y tóxicos con mínima interferencia en la señalización Notch. En este grupo se incluyen algunos anti-inflamatorios no esteroideos que han demostrado disminuir la cantidad de A β 42 en cultivos celulares y ratones.^{61, 62} Entre estos compuestos el R-flurbiprofeno, un compuesto cuya actividad fue estudiada en un ensayo clínico de fase III.⁶³ Otro compuesto de esta serie llegó a la clínica fue CHF5074, pero no se observaron efectos sobre los niveles de A β en líquido cefalorraquídeo (LCR).⁶⁴

⁵⁹ Borgegard T, Gustavsson S, Nilsson C, et al. Alzheimer's disease: presenilin 2-sparing γ -secretase inhibition is a tolerable A β peptide-lowering strategy. *J. Neurosci.* 2012; 32:17297–305.

⁶⁰ Kukar T, Murphy MP, Eriksen JL, et al. Diverse compounds mimic Alzheimer disease-causing mutations by augmenting A β 42 production. *Nat. Med.* 2005; 11:545–50.

⁶¹ Weggen S, Eriksen JL, Das P, et al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A β 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature.* 2001; 414:212–16.

⁶² Eriksen JL, Sagi SA, Smith TE, et al. NSAIDs and enantiomers of flurbiprofen target γ -secretase and lower A β 42 in vivo. *J. Clin. Investig.* 2003; 112:440–49.

⁶³ Green RC, Schneider LS, Amato DA, et al. Effect of tarenflurbil on cognitive decline and activities of daily living in patients with mild Alzheimer disease: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2009; 302:2557–64.

⁶⁴ Ross J, Sharma S, Winston J, et al. CHF5074 reduces biomarkers of neuroinflammation in patients with mild cognitive impairment: a 12-week, double-blind, placebo-controlled study. *Curr. Alzheimer Res.* 2013; 10:742–53.

Con el paso de los años se han realizado mejoras con respecto a la potencia y la penetración en el cerebro de los GSM. La mayoría del trabajo se ha desarrollado con una nueva generación, los ácidos carboxílicos de los GSM, que son derivados de AINE. Estos incluyen GSM-1 y -2, y EVP-0015962⁶⁵, que disminuyen significativamente el A β 42, aumentando las especies cortas y menos tóxicas como el A β 38, y sin afectar Notch. El problema ha surgido cuando al aumentar la potencia ha generado un aumento de la hidrofobicidad y tendencia a hepatotoxicidad.⁶⁶

El segundo grupo de los GSM que se han creado no son derivados de AINE, y son los llamados GSM heterocíclicos. Están caracterizados por poseer un resto imidazol, y disminuyen tanto A β 40 como A β 42, mientras aumenta la producción de A β 37 y A β 38.⁶⁷

Últimamente se ha propuesto una serie de nuevos derivados, que son más solubles y cuya biodisponibilidad oral es buena y la penetración en el cerebro razonable.⁶⁸ Sin embargo no se ha proporcionado información de la hepatotoxicidad. Y para acabar se conoce que se han diseñado también compuestos derivados de plantas.^{69,70}

⁶⁵ Rogers K, Felsenstein KM, Hrdlicka L, et al. Modulation of γ -secretase by EVP-0015962 reduces amyloid deposition and behavioral deficits in Tg2576 mice. *Mol. Neurodegener.* 2012; 7:61.

⁶⁶ Gijzen HJM, Mercken M. γ -Secretase Modulators: Can we combine potency with safety? *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2012;295207.

⁶⁷ Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, et al. Modulation of γ -secretase reduces β -amyloid deposition in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron.* 2010; 67:769–80.

⁶⁸ Wagner SL, Zhang C, Cheng S, et al. Soluble γ -secretase modulators selectively inhibit the production of the 42-amino acid amyloid β peptide variant and augment the production of multiple carboxy-truncated amyloid β species. *Biochemistry.* 2014; 53:702–13.

⁶⁹ Loureiro RM, Dumin JA, McKee TD, et al. Efficacy of SPI-1865, a novel gamma-secretase modulator, in multiple rodent models. *Alzheimer's Res. Ther.* 2013; 5:19.

⁷⁰ Chen F, Eckman EA, Eckman CB. Reductions in levels of the Alzheimer's amyloid β peptide after oral administration of ginsenosides. *FASEB J.* 2006; 20:1269–71.

La elucidación de un modelo atómico para el complejo γ -secretasa es un paso indispensable para el desarrollo de la terapia basada en γ -secretasa, para que sea efectiva, selectiva y segura en la EA. En cualquier caso, la información estructural detallada sobre estos complejos abrirá la puerta a redoblar los esfuerzos de investigación.

Una vez visto el desarrollo general de los GSI se va hacer un repaso más profundo a un ensayo de uno de los candidatos llamado semagacestat. En perspectiva los comienzos fueron un tanto apresurados, y diversos obstáculos que se presentaron en el camino han ralentizado las investigaciones. Esto fue lo que ocurrió ya que en el momento del desarrollo no se tenía mucho conocimiento de la biología y los componentes de los candidatos a fármacos. De la misma forma faltaba información acerca de la estructura del complejo γ -secretasa, ni se conocía como interactuaban con los sustratos.⁷¹

Así el semagacestat demostró eficiencia en la disminución de $A\beta$ en cultivos celulares y animales, y fue llevado rápidamente a ensayo clínico. De esta manera, aunque se presentaba la limitación en su uso clínico, por efectos adversos por el bloqueo de la señalización Notch⁷², la empresa que llevaba esta investigación decidió avanzar hasta la fase III en el ensayo con una dosis que había sido probada en fase II sin obtener una disminución significativa de $A\beta$ en el LCR.⁷³ El hallazgo del ensayo más impactante fue que había una disminución cognitiva en dos sistemas clínicos de puntuación⁷⁴, y aunque la interpretación cognitiva es compleja, y se debía investigar más antes de tener

⁷¹ Haass, C., Schlossmacher, M.G., Hung, A.Y, et al. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature*.1992;359:322–325.

⁷² Henley, D.B., Sundell, K.L., Sethuraman, G., et al. Safety profile of semagacestat, a gamma-secretase inhibitor: IDENTITY trial findings. *Curr. Med. Res. Opin.* 2014;30:2021–2032.

⁷³ Karran, E., and Hardy, J. A critique of the drug discovery and phase 3 clinical programs targeting the amyloid hypothesis for Alzheimer disease. *Ann. Neurol.*2014; 76:185–205.

⁷⁴ Doody, R.S., Raman, R., Farlow, M., et al.; Alzheimer's Disease Cooperative Study Steering Committee; Semagacestat Study Group (2013). A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 2014;369:341–350.

una conclusión drástica, se puede considerar críticamente que las prisas en su desarrollo que han llevado a efectos adversos ha traído consigo que se cierren parte de las investigaciones relacionadas. Así, aunque se había demostrado que había una disminución parcial y crónica de la actividad γ -secretasa en ratones transgénicos modelos de la EA.^{75,76} En cambio, el ensayo en humanos no pudo probar la hipótesis, ya que se alternan periodos de actividad normal con picos cortos de inhibición completa de γ -secretasa en el cerebro, y se cuestionaba la oportunidad de todos los GSIs.

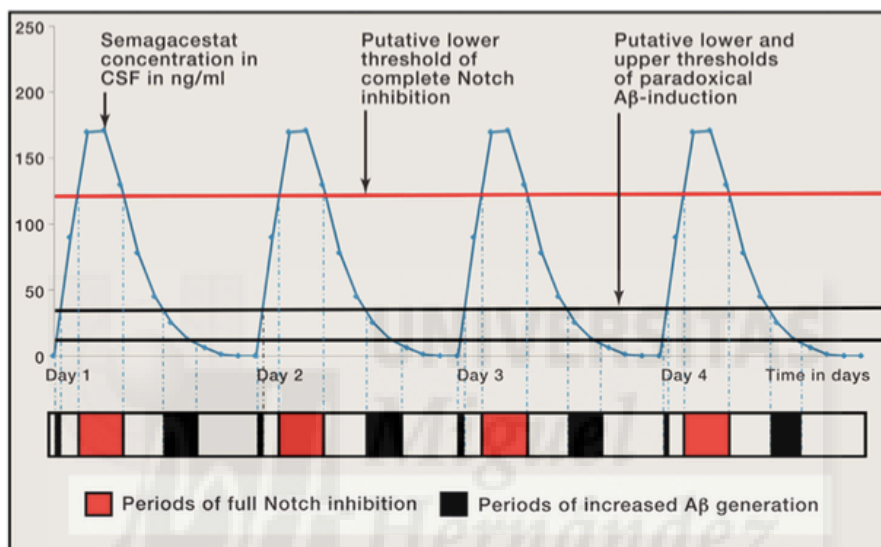


Figura. 11. Fluctuaciones teóricas de semagacestat en LCR

En la figura 11⁷⁷ se pretende mostrar las fluctuaciones teóricas de semagacestat en el LCR de pacientes. Los umbrales para la inducción de A β (líneas negras) y la inhibición de Notch (línea roja) son sólo ilustrativos ya que se desconocen las verdaderas concentraciones críticas para estos efectos en humanos in vivo.

⁷⁵ Ma, G., Li, T., Price, D.L., and Wong, P.C. APH-1a is the principal mammalian APH-1 isoform present in gamma-secretase complexes during embryonic development. *J. Neurosci.* 2005; 25:192–198.

⁷⁶ Serneels, L., Dejaegere, T., Craessaerts, K., et al. Differential contribution of the three Aph1 genes to gamma-secretase activity in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005;102: 1719–1724.

⁷⁷ Bateman, R.J., Siemers, E.R., Mawuenyega, K.G., et al. A gamma-secretase inhibitor decreases amyloid-beta production in the central nervous system. *Ann. Neurol.* 2009;66:48–54.

También se determinó que en tejidos periféricos la actividad γ -secretasa fue fuertemente inhibida durante el ensayo y se asume que por esta razón varios pacientes mostraron problemas de piel, pérdida de peso, vómitos, etc.⁷⁴ De este modo podría ser que el declive cognitivo fuera como consecuencia de estas reacciones adversas que los debilitaron. Una solución a este problema es aumentar el régimen con menor dosificación en cada pauta y así evitar parte de esa toxicidad periférica. Pero esta cuestión necesita un estudio más detallado, ya que podría conducir a error.

Los efectos sobre el cerebro se estudiaron por separado, ya que no se registraron cambios en los niveles de A β en el cerebro.⁷⁴ Mediante isotopos se comprobó que con una dosis de 140 mg en un régimen disminuía en un 52 % la generación de A β durante un período de 12 h.⁷⁷ En estos experimentos se encontró a su vez, que la concentración máxima de fármaco 194 ng/ml se alcanzó en el LCR.⁷⁷ Aunque la IC50 in vivo no era conocida, se basaron en el IC50 celular durante el ensayo, y se alcanzó una inhibición casi completa de toda la actividad γ -secretasa en el cerebro, aunque en períodos cortos.

La contemplación que afirma que los niveles de A β no se vieron afectados es algo desconcertante. Se podría prever que no hay efectos significativos en los niveles de A β en el LCR. Sin embargo se podría esperar una disminución de A β si semagacestat se tratara de un inhibidor clásico de la proteasa, donde se trataría de un mecanismo alosterico que afectaría a la generación de A β de una manera bifásica, y se daría un aumento en la liberación de A β a bajas concentraciones.⁷⁸ Un argumento a estos problemas que encontraron podría ser que el régimen de dosificación hacía que aumentara la generación de A β de forma transitoria, hecho que neutralizaba los efectos de A β en el LCR.

⁷⁸ Lanz, T.A., Karmilowicz, M.J., Wood, K.M., et al. Concentration-dependent modulation of amyloid-beta in vivo and in vitro using the gamma-secretase inhibitor, LY-450139. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;319:924–933.

Anteriormente se ha mencionado que el obstáculo principal de este campo es la falta de información, y de esta manera poder crear la estructura idónea de los candidatos a fármacos. Así, la realidad es que hace falta mucha más investigación para poder desarrollar fármacos efectivos y eficientes. Este progreso a nivel de información permitiría también entender como las mutaciones genéticas en PS1 y PS2 causan EA. El conocer como modular γ -secretasa con selectividad sobre los diferentes sustratos es necesario para poder crear fármacos selectivos que sólo afectaran a APP. En un inicio se vio a los GSI y GSM con esperanza para encontrar un tratamiento efectivo, pero poco a poco los investigadores se han dado cuenta de esta falta de información donde basar las investigaciones.

1.2.2 INHIBIDORES β -SECRETASA

La β -secretasa es una actividad enzimática que se debe a la proteína transmembrana tipo I denominada BACE1⁷⁹, una aspartil proteasa (son una familia de enzimas proteasas que utilizan un residuo aspartato para la catálisis de los sustratos peptídicos) con un par de residuos aspartil en su dominio catalítico. Las características estructurales de su centro activo son similares a otras aspartil proteasas de la familia de la pepsina.⁷⁹

El inicio del diseño de los inhibidores se basó en la similitud que posee la zona catalítica de la proteasa del VIH y de la renina con la de β -secretasa⁸⁰, así su desarrollo se basó en otros fármacos ya existentes contra otras aspartil proteasas. Aunque es controvertido, se entiende que la β -secretasa hidroliza APP y genera A β principalmente dentro de endosomas de neuronas. Por lo tanto, un inhibidor clínicamente eficaz para la β -secretasa debe tener la

⁷⁹ Hong L., Koelsch G., Lin X., et al. Structure of the protease domain of me- mpsin 2 (beta-secretase) complexed with inhibitor. Science .2000;290:150–153.

⁸⁰ Ghosh A. K., Gemma S. and Tang J. Beta-secretase as a therapeutic target for Alzheimer's disease. Neurotherapeutics.2008; 3:399– 408.

capacidad de penetrar la barrera hematoencefálica (BBB) y las membranas neuronales. Además deben poseer buena absorción, distribución, excreción, y propiedades metabólicas como fármaco. Para el desarrollo de la selectividad de estos inhibidores se compara con otras enzimas que puedan presentar actividad β -secretasa, como la memapsina 1 o BACE2, su homólogo más cercano y más abundante a nivel periférico, y la catepsina D, el cual es la proteasa más abundante en células humanas.⁸¹

A partir de aquí se va hacer una descripción de los diferentes candidatos de Inhibidores de β -secretasa, en un primer lugar estudios de eficacia en modelos animales, y en segundo lugar aquellos candidatos fármacos extrapolados a humanos.

Los primeros estudios preclínicos que llegaron a demostrar la capacidad de estos inhibidores para reducir $A\beta$; se llevaron a cabo en ratones transgénicos modelos amiloides denominados Tg2576. A estos ratones se les inyectó una serie de inhibidores derivados de la isoftalamida en una edad entre 4-6 meses, y se fue midiendo la cantidad de $A\beta$ en diferentes tiempos. De manera global los resultados fueron excelentes y demostraron la disminución de $A\beta$.⁸²

El primer inhibidor de β -secretasa que expuso tránsito a través de BBB, y a su vez reducción de $A\beta$ en el cerebro, era un derivado peptídico del primer inhibidor potente diseñado llamado OM99.2.⁸³ Por otro lado no sólo se ha demostrado eficacia en ratones, sino que se ha disminuido la carga de $A\beta$ en modelos con primates.⁸⁴ Y de esta cuestión nace el respaldo de muchos

⁸¹ Ghosh A. K. Aspartic acid proteases as therapeutic targets in *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* (Mannhold R., Kubinyi H. and Folkers G., eds), Vol. 45, pp. 441–479. Wiley- VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. (2010)

⁸² Ghosh A. K., Kumaragurubaran N., Hong L. et al. Design, synthesis, and X-ray structure of potent memapsin 2 (beta-secretase) inhibitors with isophthalamide derivatives as the P2-P3 ligands. *J. Med. Chem.* 2007;50:2399–2407.

⁸³ Ghosh A. K., Shin D., Downs D., et al. Design of potent inhibitors for human brain memapsin 2 (b-secretase). *J. Am. Chem. Soc.* 2000; 122:3522–3523.

⁸⁴ Sankaranarayanan S., Holahan M. A., Colussi D. et al. First demonstration of cerebrospinal fluid and plasma Ab lowering with oral administration of a b-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 inhibitor in nonhuman primates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009;328:131–140.

laboratorios, que apoyan su argumento en que los inhibidores si reducen la cantidad de $A\beta$ en varios modelos animales. Pero la parte de eficacia más difícil de demostrar es poder extrapolar a humanos, y que de verdad frene el declive cognitivo de EA. El mejor modelo que se asemeja a los humanos es el de ratones transgénicos, ya que el EA en ratones es muy parecido al EA temprano presentado en humanos.

Recientemente se informó de un inhibidor llamado GRL-8234 (figura 12)⁸⁵, donde a los ratones se les inyectó continuamente el fármaco, lo que redujo la cantidad de $A\beta$ en cerebro y plasma en un 50% con respecto a los controles.⁸⁶ Dentro de la investigación se tuvo en cuenta que en estos ratones transgénicos el deterioro cognitivo comienza alrededor de los 6 meses, continuando toda la vida. Sin embargo, se presentó una limitación, en períodos más cortos de infusión del fármaco o el inicio del tratamiento más tarde no demostraba beneficios significativos.⁸⁶

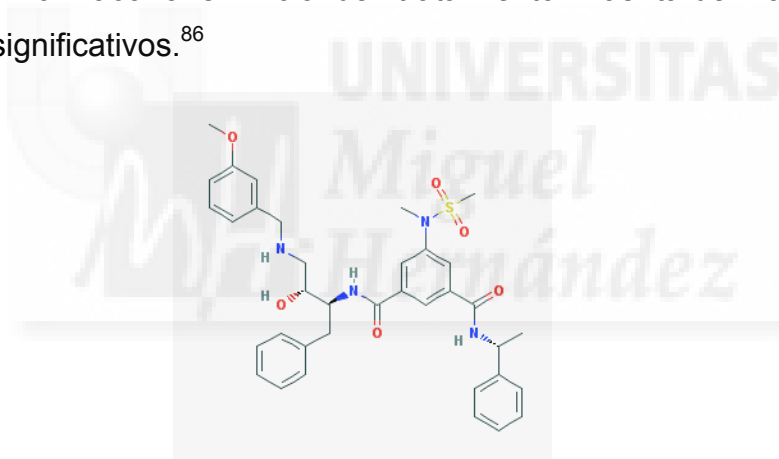


Figura 12. Estructura química de GRL-8234

⁸⁵ Portal Pubmed : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/imagefly.cgi?cid=24882306&width=300&height=300>

⁸⁶ Chang W., Huang X., Downs D., et al. b-Secretase inhibitor GRL-8234 rescues age-related cognitive decline in APP transgenic mice. FASEB J.2011; 25:775–784.

Otro inhibidor que se llevó a estudios en fase preclínica fue el TAK-070 (figura 13)⁸⁷ en ratones transgénicos Tg2576 de 5 meses de edad.⁸⁸ Se dio una reducción moderada de A β , y mejoras en el rendimiento cognitivo tras 9 días de la administración del fármaco. El obstáculo que se encontró fue que en estos ratones, como se ha mencionado; el deterioro no comienza hasta más tarde, y en 9 días no se puede medir con precisión una disminución significativa.^{89,90}

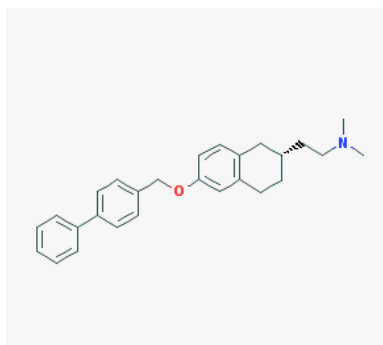


Figura 13. Estructura química de TAK-070

Hasta aquí se ha dado una pincelada sobre los estudios más conocidos llevados a cabo en animales. Y a partir de este punto se da un paso más, y se van a nombrar candidatos llevados a fase clínica en ensayos aunque por desgracia sólo han sido unos pocos.

El primer ensayo que entro en Fase I de forma pública fue el inhibidor CTS-21166. De forma general presentó una buena potencia y una buena selectividad. El ensayo preclínico se llevó a cabo en ratones transgénicos de 13 meses con una dosificación del fármaco de 4 mg/ Kg que redujo

⁸⁷ Portal pubmed :<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/imagefly.cgi?cid=10112962&width=300&height=300>

⁸⁸ Fukumoto H., Takahashi H., Tarui N. et al. A noncompetitive BACE1 inhibitor TAK-070 ameliorates Abeta pathology and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. J. Neurosci.2010; 30:11157–11166.

⁸⁹ Westerman M. A., Cooper-Blacketer D., Mariash A. et al. The relationship between Ab and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. J. Neurosci.2002; 22:1858–1867.

⁹⁰ Lesne S., Koh M. T., Kotilinek L., et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. Nature.2006; 440:352– 357.

aproximadamente un tercio de la cantidad de A β en el cerebro. Una vez en fase I se llevó a cabo el estudio en varones jóvenes y sanos, evaluando tanto la seguridad como las respuestas preliminares de A β . Estos sujetos fueron divididos en dos grupos, un grupo de los cuales recibió un vehículo con disolvente simplemente, mientras que el otro recibió el vehículo con inhibidor en seis concentraciones diferentes hasta alcanzar 225 mg. De esta manera se observó una reducción de A β dependiente de dosis en plasma, y se alcanzó una inhibición del 80% con la dosis más alta tras las 3 horas de la administración. A su vez se han llevado a cabo estudios con otra vía de administración y se han obtenido resultados semejantes. Sin embargo, aún teniendo éxito en fase I no se ha continuado con su desarrollo en fases más avanzadas.^{91,92,93}

Continuando con los candidatos más relevantes llevados a ensayos en humanos, la compañía farmacéutica Lilly reportó datos sobre un compuesto denominado LY2811376⁹⁴ (figura 14)⁹⁵. Así, este compuesto presentó in vitro una potencia moderada y buena selectividad, mientras que in vivo a dosis bajas resultó una fuerte eficacia.⁹⁴ Se observó, tras una administración oral forzada en ratones transgénicos amiloides del tipo PDAPP de dosis 10, 30 ó 100 mg/Kg del fármaco, una reducción en la dosis respuesta, determinándose en distintos fragmentos de APP, como a nivel cortical, sAPP β y C99 (fragmento

⁹¹ Hey J. A., Koelsch G., Bilcer G., et al. Single Dose Administration of the b-Secretase Inhibitor CTS21166 (ASP1720) Reduces Plasma Ab40 in Human Subjects. In: International Conference on Alzheimer's Disease (ICAD). Chicago, IL; 2008.

⁹² Koelsch G. Beta-Secretase Inhibitor CTS-21166 Reduces Plasma Abeta 40 in Human Subjects. In: Symposium on Alzheimer's Disease. Keystone; 2008.p. 24–28.

⁹³ Hsu H. H. Clinical trials for disease-modifying drugs such as BACE inhibitors, in BACE. In: Lead Target for Orchestrated Therapy of Alzheimer's Disease (John V., ed.). NJ, USA; John Wiley & Sons, Hoboken;2010.p. 197–216.

⁹⁴ Boggs LN, Lindstrom T, Watson B, et al. Proof-of-concept pharmacodynamic assessment of a prototypic BACE1 inhibitor at steady-state using IV infusion dosing in the PDAPP transgenic mouse model of Alzheimer's Disease. In: International Conference on Alzheimer's Disease. Honolulu; Alzheimer's Association; 2010.p. 3-304.

⁹⁵ May PC, Willis BA, Lowe SL, et al. The potent BACE1 inhibitor LY2886721 elicits robust central A β pharmacodynamic responses in mice, dogs, and humans. J Neurosci. 2015 ;35:1199-210.

carboxi-terminal que permanece en membrana tras el corte por β -secretasa)⁹⁶, como para el A β soluble. De la misma manera con una sola dosis de forma oral de 10 mg/Kg produjo un efecto continuo sobre los marcadores nombrados anteriormente en LCR, plasma y en el hipocampo de los ratones PDAPP en un período de entre 6-9 horas.⁹⁴ LY2811376 también ha sido ensayado en perros, donde también se logró una disminución de A β mediante dosis orales.⁹⁶

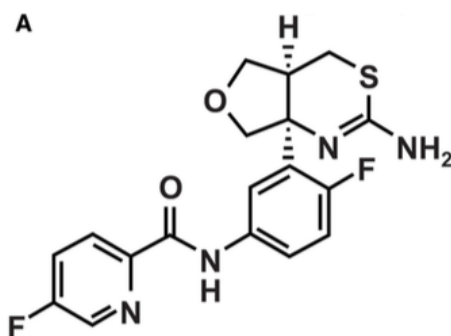


Figura 14. Estructura química de LY2811376

La seguridad, la farmacocinética y la farmacodinamia de este compuesto se estudió en fase I por dos métodos diferentes: con una única dosis ascendente (SAD), y con dosis múltiples ascendentes (MAD) durante 14 días, ambos se llevaron a cabo en voluntarios sanos. En general el estudio fue seguro y bien tolerado por los sujetos, sobre todo con dosis que oscilaban entre 5-90 mg. De todos modos, surgieron efectos adversos, pero fueron leves y se pudieron controlar, aunque más tarde fueron discontinuados por la irregularidad en ciertas pruebas bioquímicas. De forma más detallada en el estudio SAD, se observó una fuerte relación entre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, con lo que demostró una reducción dosis dependiente, que fue estadísticamente significativa de A β 40 y A β 42 en plasma. Del mismo modo, una dosis única de 35 mg de LY2886721 produjo una fuerte (40% respecto al valor basal) y estable reducción de A β 40 y A β 42 en LCR. Comparando con el estudio MAD, las respuestas en plasma observadas en el último día de la

⁹⁶ Dale Schenk, Guriqbal S. Basi, and Menelas N. Pangalos. Treatment strategies targeting amyloid β -protein. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012 Sep 1;2(9)

dosificación fueron mayores que en SAD a dosis comparables. Por otro lado, se mostró respuesta farmacodinámica mayor en LCR lumbar muestreado 24 h después de la última dosificación en comparación con las evaluaciones de LCR en SAD.⁹⁵A pesar de obtener resultados esperanzadores, los estudios relacionados con LY2811376 han sido discontinuados y no se ha podido indagar más en humanos, ya que se obtuvieron datos bioquímicos hepáticos anómalos en diversos pacientes.^{96,97}

Mediante una examinación de estas dos estrategias de intervención en la carga amiloide, a través del bloqueo de la actividad γ -secretasa y de la β -secretasa, hemos visto que sólo los GSI han llegado a ensayos clínicos de fase III, que son aquellos que verifican la eficacia y la seguridad del nuevo fármaco a corto y largo plazo, en la indicación concreta y en la población concreta para la que será autorizado, en un número mayor de pacientes, y en condiciones clínicas más próximas a las de la población en que se utilizara en el futuro. Por otro lado los inhibidores de β -secretasa han llegado hasta fase II donde se amplían simplemente la información que se obtiene de fase I, y se busca la dosis óptima del fármaco. Ninguna de las vías de investigación ha logrado pasar la barrera y alcanzar estudios de farmacovigilancia, que se tratan estudios de post-comercialización y se mide la efectividad, por ello de la acción farmacológica realmente aplicable.

⁹⁷ Folch J, Ettcheto M, Petrov D, et al. Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: Strategies for combating β -amyloid protein. *Neurologia*. 2015 May 11. pii: S0213-4853(15)00064-X.

1.3 INMUNOTERAPIA A β

Como se ha podido observar una de las limitaciones descritas en las investigaciones anteriores, que hacían discontinuar los ensayos y descartar los candidatos era el poder ser selectivo y atravesar la BBB sin generar efectos adversos graves. En paralelo, se ensayó camino hacia otra forma de tratar la enfermedad y sus causas, la llamada inmunoterapia contra A β .

Todo este camino empezó cuando una serie de investigadores aportaron unos datos sorprendentes, tras la inmunización contra el A β de ratones transgénicos PDAPP, a los que se le administraba de forma intraperitoneal agregados A β una vez al mes durante un período de un año. Esta forma de inmunización se denomina inmunización activa, con la cual se generan anticuerpos policlonales hacia A β , donde se refleja una respuesta que disminuye la carga de la placa amiloide, distrofia neurítica e inflamación asociada a los cambios cerebrales en estos animales.⁹⁸ No sólo se abrió el campo de la inmunización activa sino que vino acompañado del inicio también de investigación en inmunización pasiva. A partir de ahora daré un breve repaso a ambas.

En primer lugar, la inmunización activa fue llevada a ensayos preclínicos y se dieron casos de efectos adversos muy graves, tal como la meningoencefalitis, por lo que se han ido descartando⁹⁶ y se ha superpuesto la inmunización pasiva comentada a continuación.

Para finalizar la sección, la inmunoterapia pasiva utilizando anticuerpos monoclonales anti-A β humanizados posee una ventaja con respecto a la activa, y es que es más fácil detener los efectos adversos secundarios graves que se puedan observar durante el ensayo. A pesar de haber varios candidatos se

⁹⁸ Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*. 1999;400: 173–177.

estudiará más a fondo las investigaciones de dos de estos anticuerpos monoclonales humanizados: LY2062430 y Bapineuzumab.

Bapineuzumab se trata de un anticuerpo específico amino-terminal derivado del anticuerpo monoclonar murino 3D6, el cual mejora la solubilidad de las placas, reduce significativamente los niveles totales de A β en el cerebro, la inflamación, la distrofia neurítica, y disminuye la pérdida de sinapsis en ratones transgénicos.⁹⁹ De este compuesto se han llevado a cabo varios ensayos y se han alcanzado estudios de fase III, pero a pesar de reducir los niveles de carga de la placa, e incluso tau, en LCR, no pudo demostrar un beneficio clínico en pacientes con EA de leve a moderada.^{100,101}

LY2062430, deriva del anticuerpo murino m266, y es específico para los aminoácidos 16-24 de A β . Se ha demostrado que reduce los niveles cerebrales de A β en SNC, aunque hay datos contradictorios con respecto a la eliminación de la placa amiloide en los cerebros de los ratones transgénicos. No se han publicado aún los ensayos clínicos de este compuesto, pero se están desarrollando, y se están administrando por vía oral.¹⁰²

⁹⁹ Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid β -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med.* 2000;6: 916–919.

¹⁰⁰ Salloway S, Sperling R, Fox NC, et al. Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2014;370:322–33.

¹⁰¹ Blennow K, Zetterberg H, Rinne JO, et al. Effect of immunotherapy with bapineuzumab on cerebrospinal fluid biomarker levels in patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2012;69:1002–10.

¹⁰² E. M. Knight & S. Gandy. Immunomodulation and AD – Down But Not Out. *J Clin Immunol.* 2014 ;34 Suppl 1:S70-3.

4. CONCLUSIONES

Como conclusión puedo decir que se han visto diferentes frentes abiertos en la terapia “curativa” (lo ideal sería curarla antes de tenerla, es decir prevenirla) de EA, y que todos ellos han tomado vertientes distintas, pero en un futuro la terapia como tal de esta enfermedad no se tratara de coger uno de estos caminos, si no será la unión de todos ellos como terapias coadyuvantes unas de otras y así conseguir el objetivo de todas estas investigaciones, curar o prevenir esta enfermedad tan devastadora.

Con todo esto que se ha desarrollado hasta la fecha, da lugar a un sentimiento en parte desalentador porque no hay todavía nada que ofrezca una solución clara. Se han desarrollado muchos estudios, pero a nivel de tratamiento real para pacientes ninguno es aplicable. Pero se puede mirar la parte buena de todas estas investigaciones, ya que se han descubierto las bases moleculares de EA, y se necesita este conocimiento basal para ir subiendo escalones y no sólo encontrar un fármaco milagroso, sino encontrar un tratamiento específico y eficiente que ayude a los pacientes y a sus familias.