



# **FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

## **ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD INMUNOLÓGICA Y NUEVAS TERAPIAS FARMACOLÓGICAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2023

**Autor: SOFÍA FERRER RODRÍGUEZ**

Modalidad: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tutor/es: ESTHER CAPARRÓS CAYUELA

## ÍNDICE

1.ABREVIATURAS .....	3
2.RESUMEN .....	4
3.ABSTRACT .....	5
4.ANTECEDENTES .....	6
4.1.Enfermedad de Alzheimer: conceptos básicos de la enfermedad.....	6
4.2.Enfermedad de Alzheimer: tratamientos farmacológicos. ....	7
4.3.Enfermedad de Alzheimer: principales áreas del cerebro afectadas.....	7
4.4.Papel de la barrera hematoencefálica como barrera fisiológica.....	9
4.5.Sistema inmune innato y sistema inmune adaptativo. ....	9
4.6.Tipos de inmunización: activa y pasiva. ....	11
4.7.Funciones de las proteínas $\beta$ -amiloide y tau.....	12
5.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	14
6.MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	17
7.1. PAPEL DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO EN EL ALZHEIMER.....	17
7.1.1. Neuroinflamación y respuesta inmune.....	17
7.1.2. Microglía y respuesta inmune innata. ....	20
7.1.3.Respuesta inmune adaptativa y enfermedad de Alzheimer. ....	23
7.2. ESTUDIO DE NUEVAS INMUNOTERAPIAS BASADAS EN LAS PROTEÍNAS $\beta$ -AMILOIDE Y TAU PARA EL TRATAMIENTO DEL ALZHEIMER. ....	25
7.2.1. Inmunoterapias dirigidas al $\beta$ -amiloide.....	25
7.2.2. Inmunoterapias dirigidas a la proteína tau .....	28
7.2.3. Inmunoterapias combinadas: el futuro. ....	32
7.3. POSIBLE RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD PERIODONTAL Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	32
7.3.1. Inflamación. ....	33
7.3.2. Colonización bacteriana.....	34
7.3.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	35
8. CONCLUSIONES.....	38
9. BIBLIOGRAFÍA .....	39

# 1. ABREVIATURAS

<b>ARIA</b>	Anomalías de imagen relacionadas con el amiloide
<b>APOE</b>	Apolipoproteína E
<b>BHE</b>	Barrera hematoencefálica
<b>A<math>\beta</math></b>	Beta-amiloide
<b>MHC</b>	Complejo mayor de histocompatibilidad
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>EP</b>	Enfermedad periodontal
<b>ERO</b>	Especie reactiva de oxígeno
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón gamma
<b>IL</b>	Interleucina
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquídeo
<b>LPS</b>	Lipopolisacáridos
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipasa
<b>MPLA</b>	Monofosforil Lípido A
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>NFT</b>	Ovillos neurofibrilares
<b><i>Pg</i></b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<b>CAP37</b>	Proteína antimicrobiana catiónica de 37 kDa
<b>MAP</b>	Proteína asociada a microtúbulos
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva
<b>APP</b>	Proteína precursora amiloide
<b>LPR1</b>	Proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad 1
<b>RAGE</b>	Receptor de productos finales de glicación avanzada
<b>TREM2</b>	Receptor desencadenante expresado en células mieloides 2
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central

## 2. RESUMEN

El sistema inmunológico está formado por un conjunto de estructuras, células y moléculas cuya función principal es la protección y defensa de nuestro organismo. Para ello, recurre a la activación de dos tipos de respuesta: la inmune innata y la adaptativa, empleando cada una de ellas células y mecanismos distintos. Cuando se trata de la acción del sistema inmunológico en el Sistema Nervioso Central se producen pequeñas variaciones. En el Sistema Nervioso Central se encuentran células y mecanismos de defensa adicionales que no existen en el resto del organismo, como son la microglía o la barrera hematoencefálica. Su función es aportar una protección adicional al cerebro y la médula espinal debido a la extremada sensibilidad que presentan y su importancia para el funcionamiento normal del organismo.

La Enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa de elevada prevalencia que se caracteriza por la neuroinflamación, la formación de placas seniles de péptido  $\beta$ -amiloide y la acumulación de ovillos neurofibrilares de tau hiperfosforilada en el cerebro. Estas tres características constituyen la fisiopatología de la Enfermedad de Alzheimer. La evidencia reciente sugiere que el sistema inmunológico tiene un papel fundamental en el desarrollo y la progresión de la Enfermedad de Alzheimer.

Esta revisión bibliográfica para Trabajo Fin de Grado se basa en el estudio sobre los posibles mecanismos que relacionan sistema inmunitario y enfermedad de Alzheimer. Además, también resaltaré la creciente relación existente entre esta patología y la Enfermedad Periodontal, la cual supone una nueva área de investigación científica.

En la actualidad, la Enfermedad de Alzheimer no tiene cura. Sin embargo, en los últimos años hay numerosos estudios en funcionamiento de posibles inmunoterapias, tanto activas como pasivas, basadas en las proteínas causantes de la enfermedad ( $\beta$ -amiloide y tau) con el fin de conseguir que esta enfermedad sea, en un futuro, inofensiva. Esta revisión evaluará algunas de estas inmunoterapias y sus posibles efectos si se usaran en combinación.

### 3. ABSTRACT

The immunological system is made up of a set of structures, cells and molecules whose main function is the protection and defense of our body. To do this, it resorts to the activation of two types of response: the innate immune response and the adaptive one, each using different cells and mechanisms. When it is about the action of the immunological system on the Central Nervous System, small variations come about. In the Central Nervous System there are cells and additional defense mechanisms that do not exist in the rest of the organism, such as microglia or the blood-brain barrier. Its function is to provide additional protection to the brain and spinal cord due to the extreme sensitivity they present and their importance for the normal functioning of the organism.

Alzheimer's disease is a highly prevalent neurodegenerative disease characterized by neuroinflammation, the formation of senile plaques of  $\beta$ -amyloid peptide, and the accumulation of neurofibrillary balls of hyperphosphorylated tau in the brain. These three characteristics constitute the pathophysiology of Alzheimer's disease. Recent evidence suggests that the immunological system plays a critical role in the development and progression of Alzheimer's disease.

This bibliographic review for Final Degree Project is based on the study of the possible mechanisms that relate the immune system and Alzheimer's disease. In addition, it will also highlight the growing relationship between this pathology and periodontal disease, which represents a new area of scientific research.

Currently, Alzheimer's disease has no cure. However, in recent years there have been large studies underway on possible immunotherapies, both active and passive, based on the disease-causing proteins ( $\beta$ -amyloid and tau) in order to make this disease, in the future, harmless. This review will rate some of these immunotherapies and their possible effects if used in combination.

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1. Enfermedad de Alzheimer: conceptos básicos de la enfermedad.

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta a la memoria, el pensamiento y el comportamiento de las personas que la padecen. Esta enfermedad presenta un alto impacto en la sociedad actual, siendo la causa más común de demencia en ancianos en todo el mundo. Su prevalencia y carga de enfermedad aumentan con la edad. <sup>(1)</sup>

La enfermedad se desarrolla principalmente en tres etapas:

- Etapa preclínica: no hay manifestaciones clínicas, sin embargo, los cambios fisiológicos en el cerebro ya se están produciendo. Pueden pasar años desde que se desarrolle la condición hasta que aparezcan los síntomas clínicos.
- Etapa leve: ya hay manifestaciones clínicas de la enfermedad, incluyendo: pérdidas de memoria a corto plazo, cambios en el comportamiento o dificultad para la realización de tareas diarias.
- Etapa avanzada: los síntomas clínicos evolucionan hasta el punto de afectar drásticamente en la propia independencia del paciente. Hay pérdidas de memoria a largo plazo, demencia y deterioro físico. En esta etapa el paciente ya no se vale por sí mismo y es totalmente dependiente de otros, como los familiares.

La causa exacta de la enfermedad se desconoce, sin embargo, son numerosos los elementos que se asocian a su aparición: herencia genética, sexo, edad, factores ambientales, factores sociales o diversas patologías incluyendo diabetes mellitus tipo II o hipertensión.

Las características patológicas de la EA son la neuroinflamación crónica, la presencia de placas seniles cerebrales que contienen péptidos de  $\beta$ -amiloide y la formación de ovillos neurofibrilares que contienen proteína tau, procedente de su hiperfosforilación. <sup>(2)</sup>

## **4.2. Enfermedad de Alzheimer: tratamientos farmacológicos.**

Actualmente, no hay una cura definitiva para el Alzheimer. Únicamente se dispone de tratamientos farmacológicos sintomáticos y temporales, careciendo de la prevención de pérdida neuronal, atrofia cerebral y deterioro cognitivo. <sup>(3)</sup>

Estos tratamientos farmacológicos solo incluyen cuatro medicamentos:

- Antagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA): Memantina. En pacientes con EA, se ha demostrado una hiperproducción de glutamato y, por ende, su acumulación en los receptores NMDA. Esto provoca un exceso en la entrada de calcio a las neuronas, lo que conlleva a neurodegeneración. Este fármaco bloquea selectivamente los receptores NMDA e impide la excesiva entrada de calcio.
- Inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE): Donezepilo, Galantamina y Rivastigmina. Se ha observado una disminución de los receptores nicotínicos  $\alpha 7$  en pacientes con EA, dando lugar a la apoptosis de neuronas colinérgicas y disminución de los niveles de acetilcolina (ACh) en el cerebro. Estos fármacos aumentan dichos niveles, ralentizando la progresión de la enfermedad. <sup>(4)</sup>

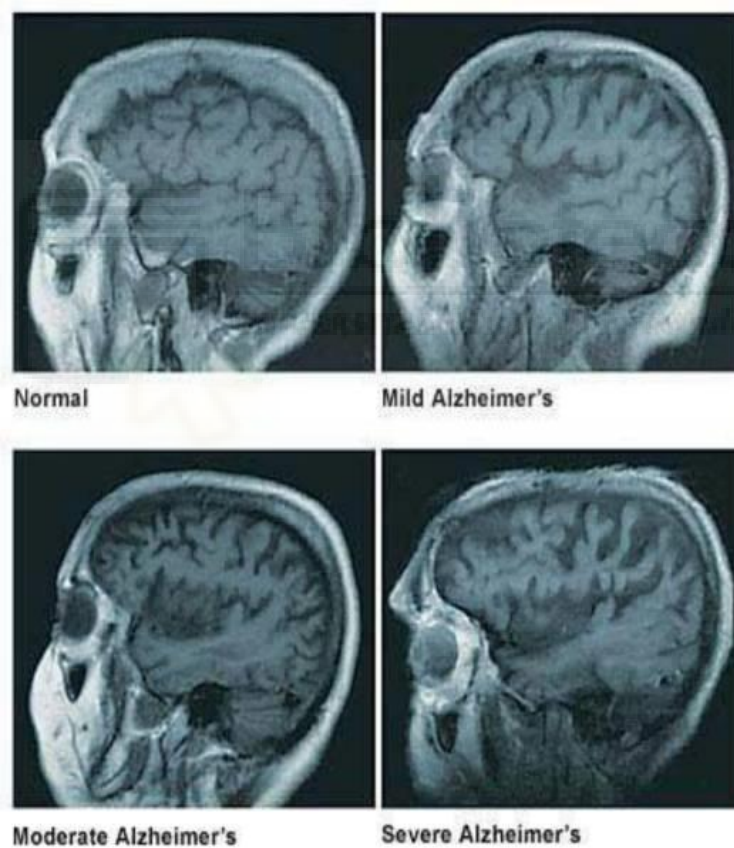
## **4.3. Enfermedad de Alzheimer: principales áreas del cerebro afectadas.**

La Enfermedad de Alzheimer afecta de manera selectiva a varias zonas del cerebro relacionadas con la memoria y la cognición. Estas áreas incluyen:

- Hipocampo: se trata de una de las primeras áreas afectadas por la EA. Es una estructura cerebral ubicada en el lóbulo temporal, formando así parte del sistema límbico, asociado a las emociones y el comportamiento. El hipocampo está muy involucrado en los procesos visuales espaciales y en el almacenamiento de la memoria y los recuerdos.
- Corteza entorrinal: área del cerebro localizada en el lóbulo temporal necesaria para la memoria espacial y la orientación.

- Corteza cerebral: constituye la capa externa del cerebro y es responsable de numerosas funciones cognitivas como el lenguaje, el razonamiento y el comportamiento social.

A medida que la enfermedad se desarrolla, se produce la muerte neuronal y la atrofia cerebral, dando lugar a la afectación de todos los lóbulos y áreas del cerebro. Se trata de una enfermedad que, en última instancia es fatal, ya que el cerebro llega a olvidar como bombear la sangre e incluso como respirar. Todo este proceso produce cambios estructurales en el cerebro de manera progresiva, alcanzándose una pérdida significativa tanto de masa como de volumen cerebral. <sup>(4)</sup>



**FIGURA 1.** Los surcos y fisuras de la corteza cerebral se van haciendo más amplios a medida que avanza la enfermedad. Se produce la atrofia cerebral y la pérdida de masa cerebral. Tomada de Mashal Y, Abdelhady H, Iyer AK. <sup>(4)</sup>



#### **4.4. Papel de la barrera hematoencefálica como barrera fisiológica.**

El sistema inmunitario en el Sistema Nervioso Central (SNC) presenta células inmunitarias especializadas cuya función principal es proteger al cerebro y la médula espinal de posibles infecciones y de daño tisular. Una de las principales estructuras que mantiene la integridad del tejido nervioso es la barrera hematoencefálica (BHE).

La BHE es una estructura multicelular compleja que separa el SNC de la circulación sistémica con el fin de aportarle protección. Se trata de un componente esencial del sistema inmunitario en el SNC. La BHE ayuda a la prevención del daño tisular que se pueda llegar a producir debido a inflamación crónica y protege al SNC de las infecciones. <sup>(5)</sup>

La BHE está formada principalmente por una capa de células endoteliales que se encuentran selladas de manera hermética a lo largo del árbol vascular permitiendo que no exista drenaje linfático y una muy baja permeabilidad. En condiciones normales, la BHE:

- Regula el transporte de moléculas entre el interior y el exterior del SNC.
- Mantiene el funcionamiento normal de las neuronas.
- Evita la posible neurotoxicidad que pueda ser provocada por patógenos, células sanguíneas o componentes neurotóxicos. <sup>(6)</sup>

Sin embargo, cuando se produce alteración en estados de enfermedad, la permeabilidad de la BHE se puede desregular permitiendo la entrada al cerebro de componentes dañinos para el SNC. Esta descomposición de la BHE se asocia con numerosas patologías, entre ellas varias enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la Enfermedad de Alzheimer. <sup>(6)</sup>

#### **4.5. Sistema inmune innato y sistema inmune adaptativo.**

El sistema inmunitario se compone de dos tipos de inmunidad: inmunidad innata e inmunidad adaptativa. El sistema inmune innato constituye la primera

línea de defensa ante la entrada de antígenos en el cuerpo o ante un desajuste producido en el propio sistema inmunitario. Cuando se activa el sistema inmune innato, se produce una respuesta inmediata y antígeno-inespecífica, pero incapaz de generar memoria inmunológica. Se compone de una gran variedad de células entre las que destacan macrófagos, neutrófilos, mastocitos y el sistema del complemento. Cuando se trata del SNC, los macrófagos pasan a denominarse microglía, constituyendo el grupo de células primordial para su correcto funcionamiento.

Por otro lado, el sistema inmune adaptativo se activa cuando la respuesta innata no ha sido lo suficientemente efectiva para la eliminación del patógeno. En este caso, la respuesta que se genera es más especializada, pero no es inmediata ya que es necesario un tiempo de exposición para activarla. La respuesta es antígeno-específica y sí que genera memoria inmunológica. Esto supone que, tras una primera activación con un antígeno, será capaz de responder en próximas ocasiones al mismo antígeno de manera más rápida y eficaz. Las células que producen esta respuesta inmune son:

- Linfocitos B, mediadores de la respuesta adaptativa humoral. Presentan inmunoglobulinas con función de receptor en su membrana que, tras su secreción, pasan a denominarse anticuerpos. Son las únicas células capaces de producir anticuerpos, los cuales reconocen antígenos específicos. Tras identificarlos, se activan, proliferan y diferencian en células plasmáticas y células memoria.
- Linfocitos T, mediadores de la respuesta adaptativa celular. Mediante la presentación antigénica producida a través del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), principalmente por los macrófagos y células dendríticas, se produce la activación de los linfocitos T. Mientras que los linfocitos T citotóxicos (células T CD8) reconocen antígenos presentados por el MHC-I, los linfocitos T colaboradores (células T CD4) los reconocen si son presentados por el MHC-II.

#### 4.6. Tipos de inmunización: activa y pasiva.

Tanto la inmunización activa como la pasiva son métodos empleados principalmente para la prevención de enfermedades infecciosas a través de la activación del sistema inmunológico. Sin embargo, actualmente se pueden emplear estos métodos de inmunización para enfermedades de carácter no infeccioso con el fin de prevenir su aparición o disminuir su gravedad.

- Inmunización activa

Se trata de la administración de una vacuna capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos por parte del sistema inmunológico del individuo para prevenir la enfermedad. A raíz de una exposición falsa al antígeno, este tipo de inmunización genera memoria inmunológica en el individuo.

Cuando se trata de inmunoterapias activas, lo que se generan son anticuerpos endógenos a largo plazo como resultado de las respuestas celulares y humorales generadas. <sup>(7)</sup>

- Inmunización pasiva

Se trata de la administración directa de anticuerpos específicos para conseguir protección inmediata, aunque temporal contra la enfermedad ya que ninguno de nuestros propios linfocitos ha producido esos anticuerpos y, por tanto, no se crea memoria inmunológica. Estos anticuerpos pueden haberse generado en el laboratorio o se pueden haber obtenido a raíz de personas que ya hayan sido inmunizadas previamente.

Las inmunoterapias pasivas se basan en la administración de anticuerpos monoclonales. Se consideran más efectivas en personas de edad avanzada en las que la capacidad de respuesta a las vacunas es reducida. Sin embargo, este tipo de inmunización requiere dosis repetidas y, por tanto, más gasto. <sup>(7)</sup>

Estas formas de inmunización mencionadas son artificiales, ya que son fabricadas por el hombre. Sin embargo, ambos tipos existen en forma de

inmunización natural: la inmunización activa natural se desarrolla de manera propia tras una infección, mientras que en la pasiva natural se transfieren anticuerpos de la madre al hijo durante el embarazo a través de la placenta (IgM) y a través de la leche materna (IgA).

#### 4.7. Funciones de las proteínas $\beta$ -amiloide y tau.

- Proteína  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ).

Esta proteína se encuentra habitualmente en el cerebro ya que es producida de manera natural por el cuerpo. La función principal de esta proteína se piensa que está relacionada con la transmisión de la información entre neuronas y su protección frente al estrés oxidativo, aunque todavía no se logra comprender completamente. <sup>(8)</sup>

Es a raíz de una proteína transmembrana presente en las neuronas denominada Proteína Precursora Amiloide (APP) como se sintetiza el  $\beta$ -amiloide. A través de la escisión de la APP producida por  $\beta$ -secretasas y  $\gamma$ -secretasas se obtiene el péptido  $A\beta$ . <sup>(8)</sup>

En condiciones normales,  $A\beta$  se suprime naturalmente del cerebro a través de mecanismos de eliminación de desechos celulares. Sin embargo, si se produce alguna alteración en su eliminación y el péptido  $A\beta$  se acumula en el cerebro, se podrá desencadenar la EA. La acumulación anormal dará lugar a la formación de placas amiloides en el cerebro, las cuales son neurotóxicas. El efecto final producido por las placas formadas implica la muerte neuronal y la pérdida de la función cognitiva.

La formación de placas amiloides es considerado un sello patológico específico de la Enfermedad de Alzheimer.

- Proteína tau.

La proteína tau es una Proteína Asociada a Microtúbulos (MAP) que se encuentra principalmente en el SNC, concretamente en las neuronas, aunque también se puede expresar en astrocitos. Se compone de seis isoformas distintas de la proteína, que es muy soluble y presenta una alta capacidad de regulación de microtúbulos, por lo que desempeña una importante función en la señalización celular, la plasticidad sináptica y la regulación de la estabilidad genómica. <sup>(9)</sup>

Los microtúbulos son estructuras importantes que se encuentran en el citoplasma de las neuronas y forman parte del transporte de nutrientes y otras moléculas en el interior celular, igual que en la formación y el mantenimiento de la forma celular. Si hay una alteración o una acumulación en exceso de la proteína, se pueden desestabilizar los microtúbulos y dañar a las neuronas, produciendo degeneración neuronal.

En condiciones normales, tau en su estado fosforilado estabiliza los microtúbulos. En pacientes con algunas enfermedades neurodegenerativas como la EA, se produce la excesiva fosforilación de tau que deriva en tau hiperfosforilada, lo que finalmente conduce a la desestabilización de los microtúbulos y, por ende, a la neurodegeneración. <sup>(4)</sup>

Son varias las especies de tau que son consideradas como tóxicas. Entre ellas se encuentran las formas solubles mal plegadas y las hiperfosforiladas. Cuando la acumulación anormal de tau en las neuronas tiene lugar, se produce la agregación proteica, propiciando la formación de los denominados ovillos neurofibrilares (NFT), característica principal e inicial de la Enfermedad de Alzheimer. <sup>(10)</sup>

Las tauopatías son un grupo de enfermedades neurodegenerativas entre las que se encuentra la EA que presentan manifestaciones clínicas y patológicas bien diferenciadas entre sí, pero que se caracterizan por la acumulación anormal de la proteína tau en el cerebro en forma de neurofibrillas. <sup>(11)</sup>

## 5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### HIPÓTESIS

El sistema inmunitario y componentes de la microbiota oral participan en el desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer. El reciente estudio de nuevas inmunoterapias supone un avance futuro para el tratamiento de la enfermedad.

### OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este Trabajo Fin de Grado es investigar los mecanismos inmunológicos involucrados en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, además de buscar nuevas terapias inmunológicas basadas en las proteínas  $\beta$ -amiloide y tau para su tratamiento. También se explorará la posible relación entre la enfermedad periodontal y la enfermedad de Alzheimer con el fin de avanzar en la comprensión y el tratamiento de esta enfermedad neurodegenerativa.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar el papel del sistema inmunológico en la enfermedad de Alzheimer.
- Explorar las nuevas inmunoterapias para el tratamiento del Alzheimer basadas en las proteínas  $\beta$ -amiloide y tau.
- Estudiar la posible relación entre la enfermedad periodontal y la enfermedad de Alzheimer.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

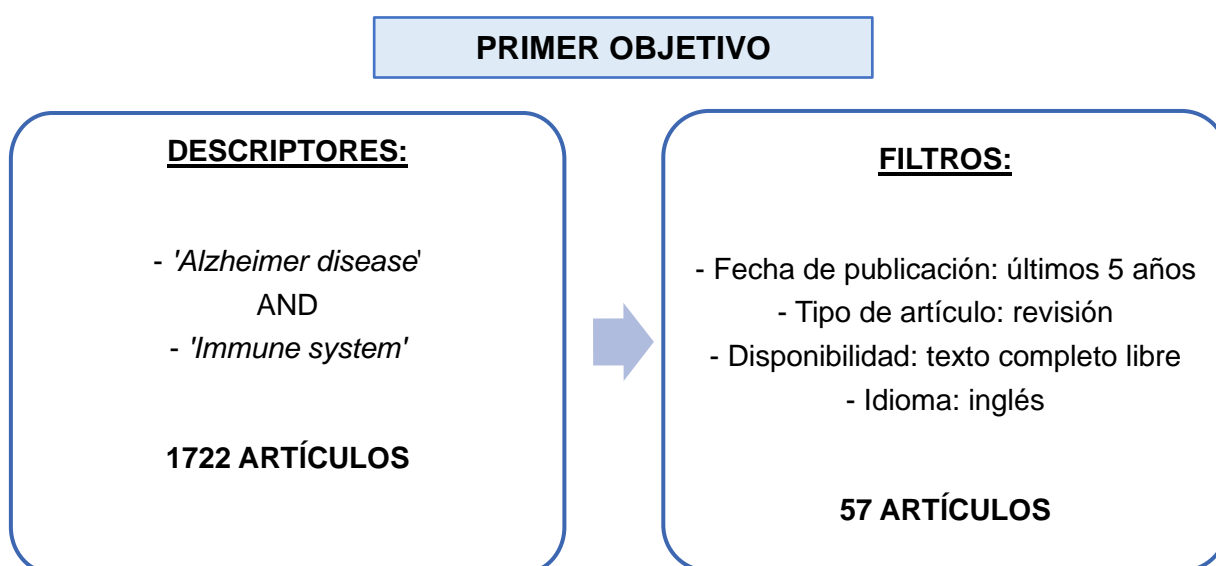
Esta revisión bibliográfica se ha realizado a partir de documentos científicos obtenidos en la base de datos Medline, a través del buscador PubMed.

Se ha utilizado una estrategia de búsqueda basada en el uso de palabras clave denominadas 'descriptores' para obtener la información requerida. Para ello, se ha recurrido a la búsqueda de *Descriptores en Ciencias de la Salud* (DeCS) con el fin de encontrar las palabras clave en español y obtener su traducción en inglés: MeSH terms (*Medical Subject Headings*), los cuales han sido utilizados para buscar información en la base de datos.

Después de obtener los descriptores adecuados, se han aplicado filtros para restringir la búsqueda debido al elevado número de artículos obtenido inicialmente.

Por último, se ha hecho una selección de los artículos en función de su relevancia y su relación con el tema a tratar, obteniendo un total de 35 artículos para la realización de la revisión.

A continuación, se adjunta un gráfico del proceso de búsqueda para cada uno de los objetivos:



## SEGUNDO OBJETIVO

### DESCRIPTORES:

- 'Alzheimer disease'  
AND
- 'Immunotherapy'  
AND
- 'Tau proteins'  
OR  
'Amyloid beta-peptides'

**169 ARTÍCULOS**



### FILTROS:

- Fecha de publicación: últimos 5 años
- Tipo de artículo: Revisión
- Idioma: inglés

**24 ARTÍCULOS**

## TERCER OBJETIVO

### DESCRIPTORES:

- 'Alzheimer disease'  
AND
- 'Periodontal disease'  
OR 'Periodontitis'

**124 ARTÍCULOS**



### FILTROS:

- Especie: humanos
- Fecha de publicación: últimos 5 años
- Tipo de artículo: revisión
- Idioma: inglés

**24 ARTÍCULOS**



## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. PAPEL DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO EN EL ALZHEIMER.

A lo largo de los últimos años, el papel del sistema inmune en las enfermedades neurodegenerativas ha experimentado un cambio significativo. Inicialmente, era considerado como un mero espectador pasivo en la cascada patogénica de este tipo de enfermedades, pero en la actualidad se sitúa en el centro de la investigación científica. <sup>(12)</sup>

Concretamente, la relación entre el sistema inmunológico y la enfermedad de Alzheimer (EA) es muy compleja y aún no se entiende completamente. A pesar de ello, está en constante investigación con el fin de comprenderla más a fondo.

#### 7.1.1. NEUROINFLAMACIÓN Y RESPUESTA INMUNE.

La inflamación crónica y la respuesta inmune juegan un papel fundamental en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Esta inflamación crónica se produce debido a la activación prolongada de los macrófagos residentes del cerebro, conocidos como microglía, que da lugar a la liberación de factores proinflamatorios neurotóxicos que provocan efectos perjudiciales en las células cerebrales, contribuyendo al desarrollo y progresión de la enfermedad. <sup>(2)</sup>

En la mayoría de los órganos, dicha inflamación es reversible por la capacidad de regeneración tisular inherente, pero cuando se trata del Sistema Nervioso Central, la atrofia y pérdida neuronal es irreversible. <sup>(13)</sup>

En la EA, la activación de la microglía ocurre en respuesta a las manifestaciones patológicas características de la enfermedad. Estas incluyen la acumulación anormal en el cerebro de placas seniles extracelulares de proteína beta-amiloide ( $A\beta$ ) y la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares de agregados tau hiperfosforilados. <sup>(14)</sup>

Hay otras células que presentan un papel fundamental en la EA: las células gliales o astrocitos. Estas células envuelven a las neuronas y les proporcionan soporte y los nutrientes necesarios para su correcto funcionamiento. Además, forman parte de la BHE, ayudando a su mantenimiento. Sin embargo, ante la acumulación de A $\beta$  característica de la EA, se ha comprobado que estas células interactúan con la microglía en la neuroinflamación y daño neuronal. Se ha estipulado que la liberación de mediadores proinflamatorios por parte de la microglía puede inducir cambios en la morfología de los astrocitos y producir neurotoxicidad. Por tanto, en el SNC, la deposición de péptidos A $\beta$  en el cerebro desencadena una respuesta inmune en la microglía y los astrocitos. <sup>(12,15)</sup>

Los péptidos A $\beta$  son los componentes principales de las placas seniles y son producidos a partir de una proteína conocida como Proteína Precursora Amiloide (APP) que se localiza en las membranas celulares de las neuronas. Los péptidos principales de A $\beta$  son: A $\beta_{1-40}$  y A $\beta_{1-42}$ , formados por 40 y 42 aminoácidos respectivamente. El péptido A $\beta_{1-40}$  es mayoritario y menos tóxico, mientras que A $\beta_{1-42}$  se encuentra en menor proporción y presenta mayor toxicidad. El aumento de la proporción de A $\beta_{1-42}$  se ha asociado con la formación de placas amiloides y, por tanto, con la patogénesis de la EA. <sup>(2)</sup>

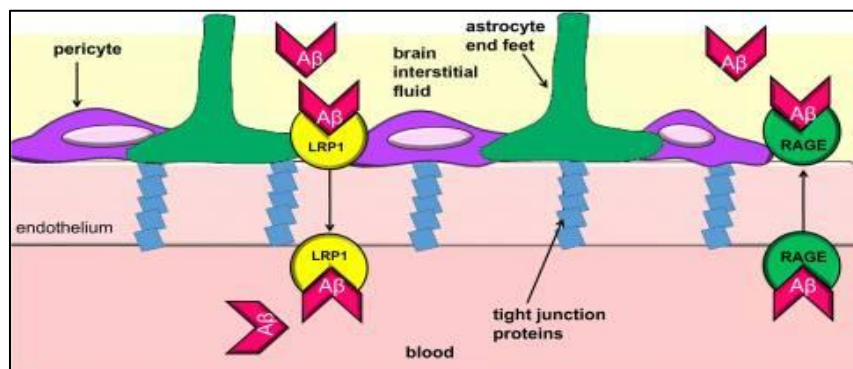
Por otro lado, diversos estudios recientes basados en modelos animales y reflejados en la revisión realizada por Correia AS y colaboradores <sup>(15)</sup> han relacionado el estrés crónico y la EA. En uno de ellos se ha observado que, ante situaciones de estrés crónico, la microglía se puede activar de manera prolongada dando lugar a la liberación de mediadores inflamatorios y especies reactivas de oxígeno, contribuyendo así a la neuroinflamación. En otro de sus estudios, se ha detectado que el estrés crónico supone un aumento de los niveles de péptido A $\beta$  en el cerebro. Esto se debe a que el estrés continuo provoca una alteración en la integridad de la BHE, dando lugar a una disminución en el transporte de A $\beta$  desde el cerebro a la circulación sanguínea, produciendo así su acumulación en el cerebro. <sup>(15)</sup>

La relación entre el cortisol y la EA también está siendo objeto de estudio. Este glucocorticoide conocido como 'hormona del estrés' actúa sobre el sistema

inmunológico, ya que ayuda al cuerpo en su respuesta al estrés y a reducir la inflamación. Sin embargo, ante situaciones de estrés prolongado, los niveles de cortisol pueden mantenerse elevados de manera continua, produciendo efectos negativos sobre el cerebro e inflamación crónica. <sup>(15)</sup>

Otro componente relevante en la neuroinflamación producida en la EA es el Receptor de Productos Finales de Glicación avanzada (RAGE). Este receptor es expresado en niveles bajos tanto por células del sistema inmunológico como la microglía, como por células cerebrales (neuronas, astrocitos y células del endotelio vascular). Sin embargo, en la EA se produce una interacción entre RAGE y A $\beta$  que da lugar a inflamación y, por tanto, al aumento de la expresión de dicho receptor. De hecho, se ha llegado a observar dicho aumento en los cerebros de pacientes con EA. <sup>(2)</sup>

RAGE es el receptor principal que permite el transporte de A $\beta$  de la circulación sanguínea al cerebro a través de la BHE, mientras que la Proteína Relacionada con el Receptor de Lipoproteínas de Baja Densidad 1 (LRP1) facilita la eliminación de A $\beta$  del cerebro a la sangre. Al igual que la expresión de RAGE se ve incrementada en la EA, la de LRP1 disminuye, dando lugar a la acumulación de A $\beta$  en el cerebro. <sup>(2)</sup>



**FIGURA 2.** A $\beta$  atraviesa la BHE mediante el transporte mediado por el receptor, de la sangre al cerebro a través de RAGE y del cerebro a la sangre mediante LRP1. La BHE presenta células endoteliales que se conectan mediante proteínas de unión estrecha. Los pericitos y los pies astrocíticos al rodear a las células endoteliales contribuyen al mantenimiento de la BHE. Tomada de Stock AJ, Kasus-Jacobi A, Pereira HA. <sup>(2)</sup>

### 7.1.2. MICROGLÍA Y RESPUESTA INMUNE INNATA.

Las células con función macrofágica en el SNC constituyen la **microglía**. Estas células presentan una importancia fundamental en la patogénesis de la enfermedad, principalmente por ser las encargadas de la fagocitosis en el SNC y por su papel modulador en la neuroinflamación. <sup>(1)</sup>

Cuando la microglía está en reposo, con el fin de buscar posibles patógenos en el medio, presenta una morfología estirada o ramificada. Sin embargo, cuando se activa en respuesta a la acumulación de proteína A $\beta$  en la EA, se produce la fragmentación de sus ramas, dando lugar a la microglía distrófica de morfología ameboide. Esto conlleva a la liberación de citoquinas proinflamatorias, principalmente Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e Interleucina 6 (IL-6), pero también de reactantes de fase aguda, como la Proteína C Reactiva (PCR), quimiocinas, factores de crecimiento, receptores del complemento, moléculas de histocompatibilidad y especies reactivas de oxígeno, entre otras. <sup>(2,15)</sup> La liberación prolongada de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 provoca una hiperactivación de las quinasas produciéndose el aumento de tau hiperfosforilada característico de la EA. <sup>(4)</sup> Por lo tanto, cabe esperar que los individuos con EA exhiban una mayor presencia de microglía distrófica en comparación con aquellos que no presenten la enfermedad. <sup>(1)</sup>

La activación de la microglía puede producir diferentes efectos en la patogénesis, tanto beneficiosos como perjudiciales, que dependerán de la etapa de la enfermedad en la que se encuentre. Mientras que, en las primeras fases de la EA, la microglía podría limitar la acumulación de placas de A $\beta$  a través de la fagocitosis y presentar un efecto neuroprotector, en las fases tardías, a medida que la activación e inflamación se cronifican, la microglía sobrepasa su capacidad de eliminación de A $\beta$  provocando la formación de agregados tau hiperfosforilados y la neuroinflamación. Esto dará lugar a disfunción neuronal y daño cerebral. <sup>(13,14)</sup>

Otra de las funciones que presenta la microglía es su íntima interacción con las neuronas. Participa en la formación de nuevas neuronas (neurogénesis) y en

la eliminación selectiva de conexiones sinápticas neuronales innecesarias (poda sináptica). Ambos procesos son necesarios para el correcto desarrollo del SNC, pero además han de continuar activos durante toda nuestra vida, siendo esenciales para la plasticidad sináptica. <sup>(1)</sup>

Al referirnos a la respuesta inmune innata en la EA, hay otros mecanismos que hay que tener en cuenta, siendo uno de ellos el **sistema del complemento**. El sistema del complemento mecanismo efector de la inmunidad innata. Está formado por proteínas que actúan en cascada y que, en el SNC, participan en la poda sináptica, principalmente C1q, C3 y C4. Estas proteínas identifican y marcan las sinapsis dañadas para que, posteriormente, sean eliminadas por la microglía. Se ha comprobado que, en los pacientes con EA, este proceso de poda es más activo de lo normal, dando lugar a una excesiva eliminación neuronal. <sup>(1,15)</sup>

Recientemente se ha demostrado que la **lipoproteína lipasa (LPL)**, una enzima esencial en el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas, también se expresa en el cerebro y participa activamente en la función microglial y en el metabolismo y la fagocitosis de A $\beta$ .

Actualmente, se está investigando la relación entre la EA y algunos polimorfismos en el gen de la LPL. Parece ser que la mutación S447X (LPL de ganancia de función) puede actuar como factor de protección en el desarrollo de la EA a través de una mayor absorción de proteínas, mientras que la mutación N291S (LPL de pérdida de función) se ha asociado a un mayor riesgo de EA. Varios estudios, incluyendo el realizado por D. Bruce K y colaboradores <sup>(16)</sup> corroboran esta asociación debido a que se ha observado una sobrerrepresentación de la mutación N291S y, por el contrario, una subrepresentación de la variante S447X en pacientes con EA. <sup>(16)</sup>

También se han relacionado las apolipoproteínas ApoC-II (activadores de LPL) y ApoC-III (inhibidores de LPL) con el aumento y la disminución del riesgo de desarrollar EA, respectivamente. Sin embargo, se requiere de una mayor investigación en este campo para determinar de manera empírica en papel de LPL en la neuropatogénesis de la EA. <sup>(16)</sup>

Por otro lado, la **apolipoproteína E (APOE)** también se ha asociado con la patogénesis de la EA. APOE se expresa en niveles muy elevados en el cerebro y está implicado tanto en el metabolismo como en la agregación y deposición de A $\beta$ . <sup>(16,17)</sup> Las isoformas principales de APOE son: APOE- $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 y  $\epsilon$ 4. Se ha vinculado a las personas portadoras de la isoforma APOE- $\epsilon$ 4 con un mayor riesgo de padecer EA mientras que, por el contrario, la isoforma APOE- $\epsilon$ 2 se ha relacionado un papel protector ante la EA. <sup>(1,14)</sup>

Otro factor a tener en cuenta es el gen TREM2 que codifica al **Receptor Desencadenante Expresado en Células Mieloides 2 (TREM2)**, el cual es expresado por la microglía. Este gen desempeña un papel importante en las primeras etapas de la EA al participar en la activación de la microglía y facilitar la eliminación de A $\beta$  y la actividad fagocítica tau. <sup>(14,18)</sup> Sin embargo, algunas variantes raras de este gen asociadas a la EA, como las mutaciones en el gen encargado de la fagocitosis, pueden alterar esta función y disminuir la capacidad de la microglía para ejercer dichas funciones, contribuyendo así a la disfunción y muerte neuronal y a la progresión de la enfermedad. <sup>(2,18)</sup>

La primera línea de defensa periférica del sistema inmune innato son los **neutrófilos**, los cuales también se ven implicados en la patogénesis de la EA. A pesar de que son reguladores de inflamación, su actividad continuada en enfermedades inflamatorias sistémicas como la EA puede contribuir en el daño a los tejidos. El estudio sobre el papel de los neutrófilos en la EA está siendo un foco de investigación científica. Se han obtenido algunas conclusiones:

- Se ha observado un aumento de neutrófilos en los vasos sanguíneos y el parénquima cerebrales en pacientes con EA. Por lo general, estas células no atraviesan la BHE, sin embargo, como parte de la respuesta inmunológica en ciertas enfermedades inflamatorias sí la atraviesan. <sup>(2)</sup>
- También se ha comprobado un aumento en los niveles de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) en los neutrófilos circulantes en pacientes

con EA, provocando así un mayor estrés oxidativo y contribuyendo a la patogénesis de la enfermedad. <sup>(14)</sup>

Hay tres proteínas granulares de neutrófilos con influencia en la EA: la Proteína Antimicrobiana Catiónica de 37 kDa (CAP37), la elastasa de neutrófilos y la catepsina G. Sus funciones principales son la defensa del huésped y la actuación como mediadores de inflamación. Se ha descubierto que CAP37 activa la microglía de morfología ameboide y aumenta la liberación de citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estos hallazgos indican la posibilidad de que estas proteínas granulares puedan ejercer un papel importante en la neuroinflamación. De hecho, se observó un aumento en la liberación de CAP37 en cerebros de pacientes con EA. Además, dicho aumento se ha visualizado principalmente en las regiones del cerebro más afectadas por la patología, como los lóbulos temporal, parietal y frontal, mientras que no se contempló en el lóbulo occipital. Todo esto, ha llevado a plantear que el péptido A $\beta$  sea un factor causal en la expresión de CAP37. <sup>(2)</sup>

### 7.1.3. RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

Mientras que las células inmunes innatas han sido un gran foco de estudio en la investigación de la EA, el conocimiento sobre el papel de las células inmunes adaptativas no está del todo claro y es más limitado. Cada vez hay más evidencia de que la inmunidad adaptativa celular y sus interacciones neurológicas están relacionadas con esta enfermedad, por lo que se ha convertido en objeto de investigación en la EA. Actualmente, ha surgido la necesidad de comprender dichas células, en concreto, los linfocitos T.

Según la revisión realizada por Bettcher BM y colaboradores <sup>(13)</sup>, diversas investigaciones han demostrado que la regulación de la inmunidad en los linfocitos T periféricos está alterada en la EA. Esto supone que las distribuciones alteradas y los estados de activación de los linfocitos T periféricos están implicados en la patogénesis de la EA. <sup>(13)</sup>

Los linfocitos T, como respuesta a la acumulación de A $\beta$  pueden atravesar la BHE, infiltrarse en el cerebro y formar parte de la respuesta inflamatoria.

Recientemente, en los pacientes con EA, se ha descrito la presencia de linfocitos T en el hipocampo, foco principal de neurodegeneración en esta patología. Además, se ha observado en esta región cerebral una mayor expresión de MHC, tanto de MHC-I como MHC-II. <sup>(1)</sup>

El estudio realizado por Correia AS y colaboradores <sup>(15)</sup>, analizó la participación de los linfocitos T CD4+, en concreto, de los Th17, en la patogénesis y neuroinflamación producida en la EA. Se observó que, tras atravesar la BHE, estas células producían las citoquinas proinflamatorias IL-17 e IL-22 contribuyendo así a la inflamación. Para comprobarlo, se hizo otro estudio en modelos de ratones de EA sobre los cuales se inyectaron anticuerpos neutralizantes IL-17 (IL-17Ab) y lo que se obtuvo fue la disminución de la neurodegeneración, la mejora de la memoria y la reducción de factores proinflamatorios, lo que resaltó la importancia de los linfocitos Th17 en la EA. <sup>(15)</sup>

Por otro lado, se realizaron análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) y se descubrió una mayor presencia de linfocitos T CD8+ activados en pacientes con EA en comparación con los controles. Este hallazgo se ha relacionado con el deterioro cognitivo de esta patología. <sup>(1,13,19)</sup> Además, se ha vinculado la infiltración de linfocitos T CD8+ con la patología tau. <sup>(13,19)</sup>

Los linfocitos T CD8+ secretan IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-17, unas citoquinas que pueden aumentar la permeabilidad de la BHE y promover la entrada de linfocitos T en el cerebro. Además, pueden aumentar la expresión de MHC-I en las neuronas haciéndolas más susceptibles a la acción de los linfocitos T CD8+. Estas acciones podrían contribuir al daño neuronal, a los problemas de cognición y a la apoptosis. <sup>(19)</sup>

Por otro lado, los linfocitos B, encargados de la generación de anticuerpos, también podrían estar implicados en la EA. En el cerebro de estos pacientes se acumulan anticuerpos específicos contra A $\beta$ . Se ha sugerido que pueden formar



complejos inmunológicos en el cerebro por unión a la proteína A $\beta$  y, por tanto, tener una función de protección en pacientes con EA.

Es importante tener en cuenta que se requiere una mayor investigación para respaldar de manera sólida esta relación entre el sistema inmune adaptativo y la enfermedad de Alzheimer puesto que no se comprende completamente y que se trata de un campo de investigación en desarrollo. <sup>(1,13,15,19)</sup>

## **7.2. ESTUDIO DE NUEVAS INMUNOTERAPIAS BASADAS EN LAS PROTEÍNAS $\beta$ -AMILOIDE Y TAU PARA EL TRATAMIENTO DEL ALZHEIMER.**

El hecho de que solamente se disponga de tratamientos sintomáticos para el Alzheimer ha priorizado la búsqueda de terapias modificadoras que consigan revertir la enfermedad o incluso evitar su aparición. La inmunoterapia es uno de los enfoques más clínicos que se estima que tendrá un impacto significativo en el campo de la terapéutica de la EA. <sup>(20)</sup>

Se han definido dos dianas terapéuticas principales para el desarrollo de estas inmunoterapias en la EA: la hipótesis del  $\beta$ -amiloide y la hipótesis tau. <sup>(4)</sup>

### **7.2.1. INMUNOTERAPIAS DIRIGIDAS AL $\beta$ -AMILOIDE.**

Durante las últimas décadas, la comunidad científica se ha enfocado en la proteína  $\beta$ -amiloide para el tratamiento de la EA. Se han realizado numerosos ensayos clínicos de inmunoterapias dirigidas a A $\beta$ , pero todas ellas han producido resultados insatisfactorios. <sup>(7,11)</sup> Esto se debe a que, a pesar de que en diversos ensayos se consiguió reducir significativamente los niveles de A $\beta$ , esto no supuso ninguna modificación en el desarrollo de la EA. <sup>(9)</sup>

Hay diversas teorías acerca de los motivos por los cuales no se produjo el efecto deseado con dichas terapias. Una de ellas es que la carga de A $\beta$  en el cerebro no está relacionada con el nivel de demencia y que, por tanto, su acumulación es insignificante para la neurodegeneración. <sup>(20)</sup> Otra teoría es que,

aunque inicialmente se reduzca la carga de A $\beta$ , es posible que el tratamiento no consiga mantener exitosamente las concentraciones cerebrales para eliminar A $\beta$ . <sup>(4)</sup> Mientras tanto, otros relacionan la ineficacia terapéutica con el desarrollo de la enfermedad, ya que la agregación de A $\beta$  ocurre años previos a aparición de los síntomas. Por tanto, se propone su uso antes de que se produzca la acumulación de A $\beta$  y cause neurotoxicidad. <sup>(2,9,21)</sup>

A continuación, se comentan algunos de los ensayos clínicos dirigidos al A $\beta$  más relevantes para el tratamiento de la EA:

### **INMUNOTERAPIAS ACTIVAS**

- AN1792

AN1792 fue la primera vacuna anti-A $\beta$  probada clínicamente. Se trataba de un anticuerpo monoclonal formado por el péptido A $\beta_{1-42}$  como inmunógeno, conjugado a QS-21 como adyuvante. Mostró resultados positivos en la reducción de la placa amiloide en alrededor del 20% de los pacientes tratados. Sin embargo, estos ensayos se interrumpieron en la fase II debido a que hubo casos de meningoencefalitis aséptica mediada por linfocitos T. <sup>(7,18,22)</sup>

- AMILOMOTIDE (CAD106)

Amilomotide, formada por el péptido A $\beta_{1-6}$  y usando su región N-terminal como determinante antigénico de células B, fue la primera vacuna en entrar en ensayos de fase II/III. Desafortunadamente, el estudio se detuvo por producir cambios imprevistos en el volumen cerebral y la función cognitiva de los pacientes tratados. <sup>(7)</sup>

### **INMUNOTERAPIAS PASIVAS**

- ADUCANUMAB (BIIB037)

Aducanumab ha conseguido ser la primera, y de momento única, terapia modificadora de EA en comercializarse. Fue en junio de 2021, cuando la FDA

(Food and Drug Administration) aprobó este fármaco en Estados Unidos bajo el nombre de Aduhelm. <sup>(22)</sup> Esta aprobación ha generado controversia dentro del colectivo científico por diversas razones:

- No cumple con los criterios de valoración primarios para ralentizar el deterioro cognitivo, a pesar de eliminar las placas de A $\beta$ . <sup>(18)</sup>
- No se ha conseguido cambiar el trascurso de la enfermedad. Sigue siendo inevitable e incurable, y no prevenible y curable. <sup>(22)</sup>
- Se trata de un fármaco de aprobación acelerada, es decir, su eficacia y seguridad siguen en estudio. <sup>(7)</sup>

Aducanumab es un anticuerpo monoclonal IgG1 completamente humano que se une al extremo N-terminal del A $\beta$ . Se ha obtenido de un repositorio de linfocitos B que se recolectó de ancianos que carecían de signos de deterioro cognitivo basándose en la suposición de que producirían anticuerpos frente a la EA. <sup>(18)</sup> Por otro lado, se seleccionó el isotipo IgG1 por el bajo riesgo que presenta de producir inflamación generalmente clasificados como anomalías de imagen relacionadas con el amiloide (ARIA). <sup>(21)</sup>

Se ha observado que Aducanumab reduce las placas de A $\beta$  con dependencia de la dosis y el tiempo en los pacientes con EA, pero dicha disminución no produce cambios en la función cognitiva. <sup>(7,21)</sup>

Independientemente de la polémica generada, este fármaco aporta la primera esperanza sobre la posibilidad de ralentizar e incluso prevenir la neurodegeneración asociada a la EA. Además, sirve como incentivo para continuar con la investigación y el desarrollo de nuevas inmunoterapias. <sup>(22)</sup>

- CRENEZUMAB (RG7412)

Crenezumab fue el primer anticuerpo monoclonal desarrollado contra el A $\beta$  oligomérico, que está más asociado a la EA. Se trata de un anticuerpo IgG4 humanizado destinado a limitar la inflamación al estimular la fagocitosis por parte de la microglía. <sup>(21)</sup> En los ensayos clínicos de fase II se observó que crenezumab

disminuyó los niveles de oligómeros A $\beta$  en la mayoría de los pacientes tratados, sin embargo, la carga amiloide no se redujo y tampoco se apreciaron cambios relevantes asociados a la ralentización de la cognición. Por tanto, se detuvieron los ensayos clínicos de crenezumab. <sup>(18)</sup>

- DONANEMAB (LY3002813)

Donanemab es un anticuerpo monoclonal IgG1 que se une al epítipo A $\beta$  piroglutamato N-terminal y que fue desarrollado a raíz del anticuerpo IgG2a mE8 murino, el cual se cría a través de la inmunización de activa de ratones con A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Donanemab mostró una alta disminución de la placa amiloide y aproximadamente la mitad de los participantes alcanzaron un estado amiloide negativo a las 52 semanas. Sin embargo, la mayoría de los pacientes tratados sufrieron reacciones inmunológicas contra el anticuerpo debido a su poder inmunogénico. Actualmente, se siguen realizando ensayos para evaluar su eficacia y seguridad. <sup>(7,18)</sup>

Se han probado otras inmunoterapias pasivas dirigidas al A $\beta$  como Lecanemab (BAN2401), Solanezumab (LY20622430) o Gantenezumab (RO4909832), pero tampoco han proporcionado los resultados esperados.

### 7.2.2. INMUNOTERAPIAS DIRIGIDAS A LA PROTEÍNA TAU.

La inmunoterapia dirigida a tau es el nuevo foco de estudio de los investigadores debido al fracaso de las terapias dirigidas al A $\beta$ . <sup>(3,9,20)</sup> De hecho, parece que esta proteína presenta mayor relación con la progresión de la enfermedad y la neurodegeneración que la A $\beta$ . <sup>(3,11)</sup>

No obstante, enfocarse en la proteína tau presenta ciertas complicaciones ya que hay una inmensa variedad de especies fisiológicas y patológicas de tau. <sup>(20)</sup> En el SNC, hay 6 isoformas de tau y cada una de ellas presenta más de 80 posibles espacios de fosforilación. Además, presentan muchas posibles modificaciones postraduccionales como la hiperfosforilación, glicación o

agregación, entre otros, que complican más aún el estudio de estas inmunoterapias. <sup>(23)</sup>

Hay que tener en cuenta que estas inmunoterapias están en sus inicios y aún se están empezando a desarrollar. <sup>(23)</sup> A pesar de todos estos obstáculos, los resultados positivos obtenidos en ensayos preclínicos y, actualmente, en ensayos clínicos, parecen apuntar a que centrarse en la proteína tau supondrá un avance en el tratamiento de la EA. <sup>(3)</sup>

Las terapias en investigación se destinan a la prevención de la agregación patológica de tau, a estabilizar los microtúbulos y a bloquear los ‘tauones’. Para comprender estas inmunoterapias hay que familiarizarse con este término. La propagación patológica de las isoformas tau entre neuronas es semejante a priones y se denominan ‘tauones’. <sup>(20)</sup>

A continuación, se exponen algunas de las inmunoterapias en estudio para la EA enfocadas en la proteína tau:

### **INMUNOTERAPIAS ACTIVAS**

- AADvac1

AADvac1 es la primera vacuna tau probada en humanos durante ensayos clínicos. Se trata de un anticuerpo, DC8E8, capaz de discriminar entre tau patológica y tau fisiológica que emplea un péptido tau sintético dirigido a los aminoácidos 294-305 de la secuencia tau y cuyo inmunógeno es KLH (Hemocianina lapa ojo de cerradura). <sup>(23,24)</sup> Durante los ensayos de fase I se determinó que AADvac1 era:

- Segura: carecía de efectos adversos importantes, siendo la inflamación en el lugar de inyección el más frecuente. <sup>(18,20,23,24)</sup>
- Eficaz: la vacuna presentaba buena inmunogenicidad en prácticamente el 100% de los pacientes. <sup>(9,23,24)</sup>

Estos resultados llevaron a AADvac1 a los ensayos clínicos de fase II. En esta etapa, se administraron 40 µg de AADvac1 o placebo vía subcutánea una vez al mes durante seis meses. Posteriormente, se inyectaron dosis de refuerzo trimestrales hasta alcanzar un total de once dosis administradas. Finalmente, se realizó un seguimiento de dos años. <sup>(23)</sup>

De nuevo, se consideró que la vacuna era segura y eficaz: los pacientes generaban una cantidad considerable de anticuerpos contra tau (1.5 µg/ml), los biomarcadores sanguíneos de cadena ligera de neurofilamentos (NfL) indicaron una reducción en el deterioro cognitivo y los biomarcadores patológicos de tau específicos del LCR, pTau181 y pTau217, también se redujeron hasta alcanzar niveles normales. <sup>(7,18,20)</sup>

Actualmente, se está realizando un ensayo en fase III de esta vacuna tan prometedora para la EA. <sup>(23)</sup>

- ACI-35

ACI-35 es una vacuna tau que contiene 16 copias de tau sintética encapsuladas en liposomas y que son capaces de reconocer los residuos patológicos de fosforilación pSer396 y pSer404 de tau. <sup>(7,24)</sup> En esta vacuna, para potenciar la estimulación de la respuesta inmunitaria en los pacientes, se usó MPLA (Monofosforil Lípido A) como adyuvante. <sup>(23)</sup>

Durante los primeros ensayos clínicos, se observó que la vacuna presentaba buena tolerancia, sin embargo, se tuvo que rediseñar debido a que la respuesta inmune provocada era baja. A la vacuna de segunda generación, ACI.35.030, se le añadieron un segundo adyuvante y un epítipo para activar al receptor HLA-DR en las células T. Tras estas modificaciones, se observó una mejoría en la inmunogenicidad de la vacuna: se produjeron 50 veces más anticuerpos y dichos anticuerpos se unían a tau fosforilada específicamente, mientras que la seguridad de la vacuna seguía siendo positiva. Esto ha llevado a la realización de ensayos clínicos más avanzados de esta vacuna. <sup>(23,24)</sup>

## INMUNOTERAPIAS PASIVAS

Actualmente hay una infinidad de inmunoterapias pasivas dirigidas a la proteína tau en ensayos clínicos. Desafortunadamente, no hay mucha información sobre ellos debido a que son tan recientes que los distintos laboratorios no han llegado a publicar los resultados obtenidos. Se espera que de aquí a unos años podamos conocer el verdadero alcance de estas terapias.

Estas son algunas de las que han sido publicadas hasta el momento:

- SEMORINEMAB (RO7105705)

Semorinemab es un anticuerpo monoclonal anti-tau extracelular humanizado diseñado para enlazarse a las 6 isoformas de tau y proteger a las neuronas de la potencial degeneración producida por tau. A pesar de presentar un buen perfil de seguridad en los ensayos clínicos, hay controversia sobre su efectividad. Se demostró que, tras 13 semanas de tratamiento se redujeron los niveles de tau patológica de manera dependiente de la dosis. Sin embargo, los niveles de tau en el plasma sanguíneo también aumentaron comprometiendo así la estabilización de la periferia. Este efecto es conocido como 'sumidero periférico'. Actualmente, hay diversos ensayos en curso para tratar de solventar este problema y hacer de Semorinemab una posibilidad futura para el tratamiento de la EA. <sup>(18,20)</sup>

- JNJ-63733657

Este anticuerpo monoclonal humanizado reconoce el dominio medio de tau, ya que recientemente se ha respaldado la idea de que ubicar el punto de mira sobre esta región en la inmunización pasiva parece ser más eficaz que el N-terminal. Este fármaco parece ser capaz de eliminar 'semillas' de tau patógena y de disminuir la propagación de la patología asociada a tau. <sup>(21)</sup> Ha demostrado ser seguro y tolerable. Actualmente, se encuentra en ensayos de fase II para evaluar su eficacia en la neurodegeneración en pacientes con EA. <sup>(7)</sup>

- BIIB076 (NI-105)

Este anticuerpo monoclonal anti-tau es una IgG1 humana que presenta afinidad por tau reconociendo tanto formas monoméricas y fibrilares como tau aislada en cerebros de pacientes con EA. Por el momento, este fármaco no se ha probado en humanos. Los ensayos preclínicos realizados en monos cynomolgus mostraron la reducción significativa de los niveles de tau en el LCR de los animales tratados con dosis altas. Demostró un buen perfil de seguridad que lo ha llevado al inicio de ensayos clínicos en fase I en humanos. <sup>(18,23)</sup>

### 7.2.3. INMUNOTERAPIAS COMBINADAS: EL FUTURO.

El desarrollo en el campo de la investigación sobre ensayos clínicos experimentales e inmunoterapias ha proporcionado grandes avances en el conocimiento de la enfermedad de Alzheimer. Ha permitido la identificación de las proteínas patológicas causantes de la enfermedad y la evaluación de la viabilidad de las terapias modificadoras de la enfermedad. No obstante, numerosos estudios como el realizado por Plotkin SS y colaboradores <sup>(18)</sup> o por Vander Zanden CM y colaboradores <sup>(21)</sup>, reconocen la necesidad de inmunoterapias combinadas para abordar la EA debido a la complejidad de la enfermedad. La propuesta actual es la combinación de inmunoterapias pasivas dirigidas a A $\beta$  y tau, esperándose un resultado con alto potencial terapéutico. De momento, no hay ensayos que reflejen esta combinación. <sup>(18,21)</sup>

### **7.3. POSIBLE RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD PERIODONTAL Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.**

La microbiota oral humana se compone de, aproximadamente, 800 microorganismos que forman una película en la superficie dental con el fin de mantener la salud oral. En condiciones normales, son las bacterias Gram positivas las que dominan dicha microbiota. Sin embargo, cuando este equilibrio



se altera, la composición puede cambiar y dar lugar a un predominio de bacterias anaerobias Gram negativas. Esta disbiosis oral puede derivar en la enfermedad periodontal (EP) o periodontitis. <sup>(25)</sup>

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica muy común, siendo una de las infecciones orales más frecuentes en la población adulta. De hecho, es considerada la segunda enfermedad oral más común, después de la caries dental. <sup>(25,26)</sup> Los síntomas de la EP incluyen: rojez de encías, sangrado e inflamación, también conocido como gingivitis, resorción ósea alveolar y, en grupos de edad avanzada, pérdida dental que afecta a la capacidad de masticación. <sup>(27)</sup>

La inflamación producida en la EP ocurre como una respuesta inmunológica para gestionar la disbiosis bacteriana. No obstante, en individuos susceptibles, dicha respuesta es ineficaz y no se regula correctamente, provocando la destrucción de los tejidos periodontales que sustentan los dientes (encía, hueso alveolar y ligamento periodontal). <sup>(17)</sup> Algunas de las causas que pueden llevar al desarrollo de la EP comprenden: mala higiene bucal, tabaquismo, abuso de azúcares o ácidos, e incluso factores genéticos. <sup>(25)</sup>

La relación entre la EP y la EA lleva muy poco tiempo siendo investigada. Sin embargo, se ha detectado que padecer EP crónica aumenta el riesgo de padecer EA y que la presencia de EP en pacientes con EA aumenta significativamente el deterioro cognitivo. <sup>(25)</sup>

Por ello, cada vez son más los estudios que vinculan de manera indirecta ambas enfermedades a través de la combinación de las siguientes hipótesis:

### 7.3.1. INFLAMACIÓN.

Tanto la EP como la EA se caracterizan por ser enfermedades inflamatorias. Los pacientes que padecen EP crónica presentan, en comparación con pacientes sanos, niveles inferiores de marcadores antiinflamatorios, como IL-10 <sup>(28)</sup> y niveles aumentados de neutrófilos en sangre y de mediadores

proinflamatorios, entre los que se incluyen IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  y PCR. <sup>(17)</sup> Curiosamente, esta desregulación de marcadores también ocurre en la EA.

Se hipotetiza que los marcadores proinflamatorios producidos a nivel local en la periodontitis se diseminan hacia el torrente sanguíneo a través de los nervios periféricos, empleando el nervio trigémino como principal vía de transporte. De este modo, podrían alcanzar al SNC, en particular al cerebro, y estimular a la microglía para inducir neuroinflamación y degeneración, ambas características de la EA. <sup>(26)</sup> Esta asociación nace del vínculo existente entre la periodontitis y el inicio, la exacerbación y la patogénesis de múltiples enfermedades inflamatorias sistémicas. <sup>(29)</sup>

Falta mucho por aprender con respecto a esta relación de enfermedades, sin embargo, no se puede negar la similitud entre las vías fisiopatológicas en el establecimiento de ambas patologías y las características proinflamatorias, tanto celulares como moleculares, que ambas presentan. <sup>(30)</sup>

### 7.3.2. COLONIZACIÓN BACTERIANA.

La periodontitis es una enfermedad principalmente infecciosa y hay numerosas bacterias implicadas en ella. Al igual que en el caso de los mediadores proinflamatorios, se piensa que los periodontopatógenos alcanzan el SNC a través de la circulación sistémica o mediante la invasión directa a través de los nervios periféricos. <sup>(26,30)</sup> En cualquiera de los casos, la llegada de estos patógenos altera el funcionamiento del sistema inmunológico. <sup>(25)</sup>

Las bacterias orales que se consideran clave en la asociación entre la EP y la EA son:

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Prevotella intermedia*
- *Treponema denticola*
- *Tannerella forsythensis*

- *Campylobacter rectus*
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- *Fusobacterium nucleatum*

De hecho, a través de un estudio realizado por Borsa L y colaboradores <sup>(25)</sup> sobre el tejido cerebral de pacientes fallecidos con EA en comparación con controles, se observó una presencia bastante más elevada de estas bacterias orales en los pacientes afectados por dicha patología. Concretamente, siete veces más. <sup>(25)</sup>

Se considera que la coordinación entre los distintos periodontopatógenos es necesaria para la patogenicidad. Sin embargo, hasta el momento la mayoría de los estudios enfocados en la relación EP y EA se han centrado únicamente en uno de ellos: *Porphyromonas gingivalis*. <sup>(17,25)</sup>

### 7.3.3. *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) es considerado el patógeno clave de la periodontitis crónica. Pertenece al conocido como 'consorcio rojo de bacterias', el cual se relaciona con la progresión de la EP más grave y con mayor velocidad de progresión. <sup>(31)</sup>

Se trata de una bacteria que, en pacientes sanos, no se suele encontrar en la flora oral y, en caso de estar presente, es en concentraciones muy bajas en las que pueden ser controladas por el sistema inmunológico. Sin embargo, en pacientes con EP estas concentraciones son mucho más elevadas y la bacteria es capaz de producir toxicidad, evitando al sistema inmunológico.

El proceso a través del cual actúa *Pg* es un circuito de retroalimentación positiva entre la disbiosis y la respuesta inflamatoria producida. Se podría decir coloquialmente que se trata de un círculo vicioso que propicia la patogénesis de la EP. <sup>(17)</sup>

*Pg* es el periodontopatígeno predominante en los cerebros de pacientes fallecidos con EA. Se ha demostrado su presencia en autopsias cerebrales de pacientes afectados, además de haberse encontrado en el LCR de pacientes vivos con EA. En estudios realizados en ratones se observó que *Pg* aumentaba la producción de  $A\beta_{1-42}$  y, por tanto, la formación de placas amiloides en el cerebro. <sup>(27)</sup>

Una gran cantidad de ensayos han considerado a *Pg* como una bacteria única, capaz de producir inmunosupresión en el huésped al infectar a numerosas células inmunitarias. Esta información no debería ser del todo sorprendente, teniendo en cuenta la gran variedad de factores de virulencia que expresa con el fin de engañar y evitar al sistema inmunitario: <sup>(27)</sup>

>Gingipainas: proteasas capaces de degradar e inactivar citoquinas antiinflamatorias como IL-4 e IL-5 a la vez que activan y estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ . Su abundancia se ha relacionado con la carga de la proteína tau y, por ende, con la EA. Esto se debe a que las gingipainas cortan la proteína tau asociada a microtúbulos, promoviendo su fosforilación. De hecho, se han observado gingipainas en autopsias cerebrales de pacientes con EA. Por otro lado, se ha comprobado que la inhibición de este factor de virulencia redujo la carga del patógeno, la neuroinflamación y la neurodegeneración. A todo esto, también contribuyen las siguientes respuestas inmunitarias que producen en el huésped: modificación de la señalización y la función celular, escisión de los receptores de linfocitos T y la degradación del fibrinógeno a LPS. <sup>(17,25,27)</sup>

A través de un estudio en ratones realizado por Li C, Yu R y Ding Y <sup>(27)</sup>, se observó que al proporcionar inhibidores de gingipainas o antibióticos de amplio espectro como el moxifloxacino se podría bloquear la neurodegeneración producida por dichas proteasas. En consecuencia, la carga de *Pg* y de IL-1 $\beta$  disminuían en el cerebro del ratón. Este hecho ha abierto nuevas investigaciones sobre los tratamientos de la EP y la EA. <sup>(27)</sup>

>Lipopolisacáridos (LPS): endotoxinas estimuladoras del sistema inmunológico que pueden inducir neuroinflamación crónica. Estimulan la

producción de mediadores proinflamatorios que producen un aumento de los niveles de A $\beta$  y la hiperfosforilación de tau, causando neurodegeneración. <sup>(26)</sup>

>Fimbrias: filamentos pilosos presentes en la superficie bacteriana de *Pg* que pueden potenciar la acción proinflamatoria y actuar sobre el potencial de invasión y colonización. <sup>(27)</sup>

>Ceramidas: dihidroceramida de fosfoetanolamina (PEDHC) y dihidroceramida de folfoglicerol (PGDHC). Promueven la liberación de Prostaglandina E2 por parte de IL-1 $\beta$  en las encías, la apoptosis de fibroblastos gingivales y la generación de osteoclastos. <sup>(27)</sup>

>Cápsula (CPS o antígeno K): además de estimular la liberación de mediadores proinflamatorios, aumentan la resistencia a la fagocitosis leucocitaria polimorfonuclear y las posibilidades de unión al epitelio gingival. <sup>(27)</sup>

A pesar del papel que *Pg* presenta, hay que destacar que su participación no tiene por qué ser necesaria en la correlación existente entre la EP y la EA. Esto se ha estudiado a través de un ensayo proporcionado a raíz de modelos de ratón con EA en el que se indujo periodontitis en ausencia del patógeno. Los resultados obtenidos fueron los mismos: aumento de los niveles de A $\beta$  y participación en la neuroinflamación. <sup>(17)</sup>

Toda esta nueva información obtenida recientemente a raíz de ensayos clínicos plantea un nuevo enfoque para la prevención y el tratamiento de la EA. Se ha sugerido la posibilidad de que erradicar *Pg* o el tratamiento de la EP podría ayudar a prevenir o retrasar la aparición de la EA. Sin embargo, queda mucho por conocer sobre esta asociación ya que no hay numerosos estudios basados en el tema, pero un mundo de posibilidades podría abrirse ante nuevos descubrimientos sobre la relación entre EP y EA. <sup>(25)</sup>

## 8. CONCLUSIONES

Tras la realización de esta revisión bibliográfica para mi Trabajo Fin de Grado sobre el estudio de la actividad inmunológica en la enfermedad de Alzheimer, se puede concluir que:

- El sistema inmunológico tiene un papel fundamental en la aparición y el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas, concretamente, de la enfermedad de Alzheimer. La inflamación crónica inducida por la microglía parece ser clave para la patogénesis de la enfermedad. Sin embargo, aún falta mucho por conocer sobre hasta donde es capaz de influir el funcionamiento del sistema inmunológico en el Alzheimer.
- El estudio emergente de nuevas inmunoterapias dirigidas a la proteína tau para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer está obteniendo resultados prometedores en los ensayos clínicos, a falta de terminar dichos ensayos.
- El futuro del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer se basará en el empleo de inmunoterapias dirigidas al péptido beta-amiloide en combinación con las dirigidas a la proteína tau.
- En los últimos años, el estudio de la posible relación entre la enfermedad periodontal y la enfermedad de Alzheimer ha abierto nuevas puertas en la investigación científica. La posibilidad de que la prevención y el tratamiento de la enfermedad periodontal pueda influir en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer aporta un nuevo enfoque de estudio para conocer más sobre esta patología tan influyente a la par que desconocida.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Heavener KS, Bradshaw EM. The aging immune system in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Semin Immunopathol.* 2022 Sep;44(5):649–57.
2. Stock AJ, Kasus-Jacobi A, Pereira HA. The role of neutrophil granule proteins in neuroinflammation and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2018 Dec;15(1):240.
3. Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol.* 2020 Nov;887: 173554.
4. Mashal Y, Abdelhady H, Iyer AK. Comparison of Tau and Amyloid- $\beta$  Targeted Immunotherapy Nanoparticles for Alzheimer's Disease. *Biomolecules.* 2022 Jul 18;12(7):1001.
5. Keaney J, Campbell M. The dynamic blood-brain barrier. *FEBS J.* 2015 Nov;282(21):4067–79.
6. Chen Z, Li G. Immune response and blood–brain barrier dysfunction during viral neuroinvasion. *Innate Immun.* 2021 Feb;27(2):109–17.
7. Song C, Shi J, Zhang P, Zhang Y, Xu J, Zhao L, et al. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting  $\beta$ -amyloid and beyond. *Transl Neurodegener.* 2022 Dec;11(1):18.
8. Zhang H, Li X, Wang X, Xu J, Elefant F, Wang J. Cellular response to  $\beta$ -amyloid neurotoxicity in Alzheimer's disease and implications in new therapeutics. *Anim Models Exp Med.* 2023 Feb;6(1):3–9.
9. Hoskin JL, Sabbagh MN, Al-Hasan Y, Decourt B. Tau immunotherapies for Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2019 Jun 3;28(6):545–54.
10. Jadhav S, Avila J, Schöll M, Kovacs GG, Kövari E, Skrabana R, et al. A walk through tau therapeutic strategies. *Acta Neuropathol Commun.* 2019 Dec;7(1):22.
11. Hromadkova L, Ovsepian SV. Tau-Reactive Endogenous Antibodies: Origin, Functionality, and Implications for the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *J Immunol Res.* 2019 Aug 6;2019:1–11.
12. Prokop S, Lee VMY, Trojanowski JQ. Neuroimmune interactions in Alzheimer's disease—New frontier with old challenges? In: *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* Elsevier; 2019;183–201.
13. Bettcher BM, Tansey MG, Dorothee G, Heneka MT. Peripheral and central immune system crosstalk in Alzheimer disease — a research prospectus. *Nat Rev Neurol.* 2021 Nov;17(11):689–701.

14. Van Olt L, Roks SJM, Kamermans A, Verhaar BJH, Van Der Geest AM, Muller M, et al. Contribution of Gut Microbiota to Immunological Changes in Alzheimer's Disease. *Front Immunol*. 2021 May 31;12:683068.
15. Correia AS, Cardoso A, Vale N. Highlighting Immune System and Stress in Major Depressive Disorder, Parkinson's, and Alzheimer's Diseases, with a Connection with Serotonin. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 7;22(16):8525.
16. D. Bruce K, Tang M, Reigan P, H. Eckel R. Genetic Variants of Lipoprotein Lipase and Regulatory Factors Associated with Alzheimer's Disease Risk. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 6;21(21):8338.
17. Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol*. 2021 Jul;21(7):426–40.
18. Plotkin SS, Cashman NR. Passive immunotherapies targeting A $\beta$  and tau in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2020 Oct;144:105010.
19. Stojić-Vukanić Z, Hadžibegović S, Nicole O, Nacka-Aleksić M, Leštarević S, Leposavić G. CD8+ T Cell-Mediated Mechanisms Contribute to the Progression of Neurocognitive Impairment in Both Multiple Sclerosis and Alzheimer's Disease? *Front Immunol*. 2020 Nov 19;11:566225.
20. Bittar A, Bhatt N, Kayed R. Advances and considerations in AD tau-targeted immunotherapy. *Neurobiol Dis*. 2020 Feb;134:104707.
21. Vander Zanden CM, Chi EY. Passive Immunotherapies Targeting Amyloid Beta and Tau Oligomers in Alzheimer's Disease. *J Pharm Sci*. 2020 Jan;109(1):68–73.
22. Golde TE. Disease-Modifying Therapies for Alzheimer's Disease: More Questions than Answers. *Neurotherapeutics*. 2022 Jan;19(1):209–27.
23. Sandusky-Beltran LA, Sigurdsson EM. Tau immunotherapies: Lessons learned, current status and future considerations. *Neuropharmacology*. 2020 Sep;175:108104.
24. Ji C, Sigurdsson EM. Current Status of Clinical Trials on Tau Immunotherapies. *Drugs*. 2021 Jul;81(10):1135–52.
25. Borsa L, Dubois M, Sacco G, Lupi L. Analysis the Link between Periodontal Diseases and Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Sep 3;18(17):9312.
26. Sansores-España D, Carrillo-Avila A, Melgar-Rodriguez S, Díaz-Zuñiga J, Martínez-Aguilar V. Periodontitis and alzheimer's disease. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal*. 2021;e43–8.



27. Li C, Yu R, Ding Y. Association between Porphyromonas Gingivalis and systemic diseases: Focus on T cells-mediated adaptive immunity. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Nov 17;12:1026457.
28. Desta NT. Pathophysiological association between periodontal disease and Alzheimer's disease: Importance of periodontal health in the elderly. *J Oral Biosci.* 2021 Dec;63(4):351–9.
29. Konkel JE, O'Boyle C, Krishnan S. Distal Consequences of Oral Inflammation. *Front Immunol.* 2019 Jun 25;10:1403.
30. Wang RPH, Ho YS, Leung WK, Goto T, Chang RCC. Systemic inflammation linking chronic periodontitis to cognitive decline. *Brain Behav Immun.* 2019 Oct;81:63–73.
31. Pisani F, Pisani V, Arcangeli F, Harding A, Singhrao SK. Locus Coeruleus Dysfunction and Trigeminal Mesencephalic Nucleus Degeneration: A Cue for Periodontal Infection Mediated Damage in Alzheimer's Disease? *Int J Environ Res Public Health.* 2023 Jan 5;20(2):1007.

