



## **FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

# Dabigatrán, un anticoagulante oral de acción directa con potencial terapéutico en el tratamiento de la enfermedad del Alzheimer

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Enero 2021

**Autora: Lorena Calleja Bonifacio**

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Francisco Navarrete Rueda

## ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1. Aspectos epidemiológicos y etiológicos de la enfermedad del Alzheimer (EA).....	4
2.2. Clínica de la EA: sintomatología y diagnóstico.....	5
2.3. Fisiopatogenia de la EA.....	8
2.4. Abordaje farmacológico de la EA y sus limitaciones.....	9
2.5. La trombina como mediador patológico común en la EA y las enfermedades cardiovasculares: disfunción endotelial e inflamación.....	11
3. OBJETIVOS.....	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA.....	19
5.1. Potencial terapéutico del dabigatrán frente a los inhibidores indirectos de la trombina en el tratamiento la EA.....	19
5.2. Potencial terapéutico del dabigatrán en el tratamiento de la EA.....	21
6. DISCUSIÓN.....	30
7. CONCLUSIONES.....	33
8. ANEXO: ABREVIATURAS.....	34
9. BIBLIOGRAFÍA.....	35

## 1. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo y multifactorial que se ha convertido en la forma más común de demencia entre las personas mayores. Hoy en día, los tratamientos farmacológicos disponibles para la EA se limitan a paliar los síntomas e intentar retrasar la progresión de la enfermedad, pero en ningún caso la previenen o modifican su curso. Ante la creciente evidencia científica a cerca de implicación de las patologías vasculares en el desarrollo de la EA, la trombina ha demostrado desempeñar un importante papel como mediador común en ambas. Por ello, el objetivo principal de este trabajo ha sido recopilar información sobre el potencial terapéutico del anticoagulante oral dabigatrán en la mejora de la patogenia de la EA, por ser un inhibidor directo de la trombina con un buen perfil de seguridad.

Para la selección de referencias bibliográficas analizadas se ha llevado a cabo una búsqueda científica en Medline, a través de su buscador PubMed. Las publicaciones se han seleccionado siguiendo diferentes criterios de inclusión y exclusión. Además, en la búsqueda se ha empleado también la base de datos de ensayos clínicos americana *clinicaltrials.gov*.

Los resultados han sido obtenidos principalmente de ensayos preclínicos y han sido agrupados en 2 bloques, el primero está dirigido a comparar la eficacia del dabigatrán frente a los inhibidores indirectos de la trombina en el tratamiento de la EA y el segundo se centra en el potencial terapéutico a largo plazo del dabigatrán en el tratamiento de la EA.

El tratamiento oral a largo plazo con dabigatrán previene la deposición de fibrina en el cerebro de la EA, disminuyendo la patología amiloide y la neuroinflamación y manteniendo la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE) y la perfusión sanguínea central en ratones. Estos hechos influyen en la preservación de la cognición sugiriendo que el dabigatrán puede ser especialmente útil en las etapas iniciales de la EA como tratamiento crónico, abriendo las puertas al siguiente paso en investigación, los ensayos clínicos.

**Palabras clave:** enfermedad de Alzheimer, dabigatrán, trombina.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. Aspectos epidemiológicos y etiológicos de la enfermedad del Alzheimer (EA)**

La enfermedad del Alzheimer (EA) es la causa principal de demencia a nivel mundial. Se trata de un trastorno neurodegenerativo gradual y progresivo que, a día de hoy, no presenta cura. Esta patología afecta principalmente a adultos mayores de 65 años, produciendo una disminución de la capacidad cognitiva lo suficientemente grave como para interferir en las actividades de su vida diaria<sup>1,2,3</sup>.

La prevalencia del Alzheimer aumenta de manera exponencial a medida que la población envejece. Actualmente, entre un 5% y un 8% de la población mayor de 60 años sufre la enfermedad y se prevé que el número total de personas con Alzheimer se triplique para 2050 alcanzando los 152 millones, según datos de la OMS. En 2013, la EA fue clasificada como una patología de prioridad mundial durante la cumbre internacional del G8 sobre la demencia donde, además, se remarcó la importancia de conseguir una cura o terapia modificadora disponible para 2025. Por todo ello, la EA constituye uno de los grandes retos sanitarios del siglo XXI<sup>1,4,5</sup>.

En lo que se refiere a su etiología, además del aumento de la edad como principal componente desencadenante de la enfermedad, un gran número de factores de riesgo han sido identificados en su desarrollo. En concreto se hará hincapié en las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares como principales factores de riesgo, puesto que el abordaje terapéutico que se propone en este trabajo para la EA está dirigido a los trastornos relacionados con el sistema circulatorio a través del uso del fármaco anticoagulante oral dabigatrán. A su vez, la depresión, la diabetes, la anemia, las afectaciones de la glándula tiroides, el tabaquismo, el sedentarismo, el incremento de las concentraciones de homocisteína, el uso de estrógenos en las mujeres, el uso de antiinflamatorios y, por supuesto, el componente genético son algunos de los factores de riesgo de la EA<sup>1,2</sup>.

En el ámbito de la genética cabe destacar que el Alzheimer posee carácter heterogéneo, presentándose de dos formas: esporádica o familiar. El Alzheimer esporádico suele aparecer a partir de los 65 años (Alzheimer de inicio tardío) y constituye un 99% de los casos de enfermedad. Entre los genes implicados en su desarrollo destaca el gen APOE, principalmente, de su isoforma  $\epsilon 4$ . Este gen es el encargado de codificar la apolipoproteína  $\epsilon$  (Apo E), péptido cuya alta afinidad por la proteína beta-amiloide ( $A\beta$ ) la convierte en un factor de riesgo para la acumulación neuronal de  $A\beta$  y por tanto la formación de placas amiloides causantes de la EA, como se verá más adelante. Sin embargo, a pesar de la alta heredabilidad presente en los casos de Alzheimer esporádico, sus genes no juegan un papel muy importante, sino que su progresión es principalmente de carácter idiopático, es decir, impulsada por la combinación de los distintos factores ambientales comentados<sup>1,2,6</sup>.

A diferencia del Alzheimer esporádico, en el Alzheimer familiar los genes implicados constituirán una causa directa de la enfermedad. Sin embargo, este tipo de Alzheimer es poco frecuente, constituye un 1% de los casos totales de enfermedad y se presenta antes de los 65 años (Alzheimer de edad temprana). Esta forma de Alzheimer está principalmente relacionada con mutaciones en los genes PSEN 1, PSEN 2 y APP, los cuales codifican la presenilina-1, la presenilina-2 y la proteína precursora amiloide (APP) respectivamente. Al igual que en el Alzheimer esporádico estas 3 mutaciones también provocarán una alteración a nivel de la producción o el metabolismo de  $A\beta$ <sup>5,6</sup>.

## **2.2. Clínica de la EA: sintomatología y diagnóstico**

Este trastorno neurodegenerativo se caracteriza principalmente por la aparición progresiva de tres síntomas cardinales: el deterioro de la memoria, un déficit en la función ejecutiva y resolución de juicios o problemas y, por último, los síntomas conductuales o psicológicos.

El deterioro de la memoria es la principal y más temprana manifestación clínica de la EA. Sigue un determinado patrón de desarrollo conforme avanza la enfermedad, afectando en primer lugar a la memoria reciente por ser la única

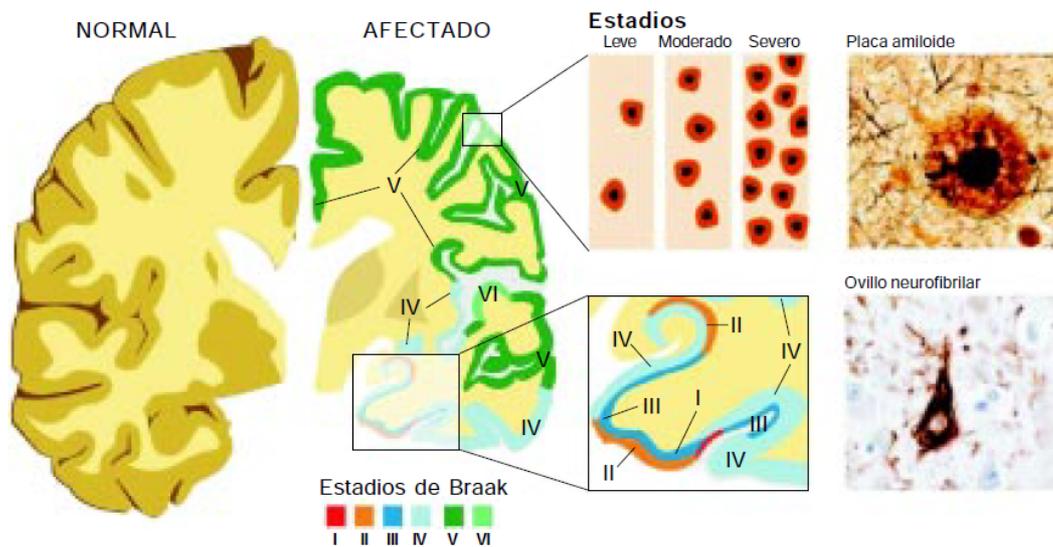
que depende del hipocampo y de la corteza entorrinal, primeras áreas afectadas de la enfermedad. Más adelante, tendrá lugar un déficit de la memoria encargada de los procedimientos y el aprendizaje motor y, a continuación, un déficit a nivel visual y espacial. La memoria que se verá afectada en la última etapa de la enfermedad será aquella relacionada con el vocabulario y los conceptos<sup>3</sup>.

El deterioro de la función ejecutiva se verá reflejado en una peor organización y desmotivación por parte del paciente, el cual mostrará además una falta de perspicacia, disminución de la capacidad de razonamiento e incluso incapacidad para completar tareas conforme progresa la enfermedad. En esta etapa, es común que el paciente sufra de anosognosia, es decir, que subestime sus déficits e incluso trate de justificar sus incapacidades<sup>3</sup>.

Los síntomas neuropsiquiátricos son especialmente comunes en los estadios medio y tardío de la EA. En un principio se produce apatía e irritabilidad, pero más adelante tienen lugar alteraciones en el comportamiento tales como agitación, agresión, deambulación e incluso psicosis<sup>3</sup>.

Además de los síntomas cardinales, otros signos han sido descritos, como las alteraciones del sueño, que ocurren de manera muy temprana, la apraxia, una vez que los déficits en la memoria y el lenguaje son evidentes y las convulsiones, que suceden poco frecuentemente y en las últimas etapas de la enfermedad. De manera muy común, el Alzheimer se presentará como demencia mixta, es decir, asociado a otros procesos patológicos, destacando principalmente la combinación de Alzheimer y Párkinson que podría dificultar el diagnóstico por influir en el cuadro clínico de la enfermedad<sup>3</sup>.

Actualmente, el diagnóstico definitivo de la EA se realiza mediante un estudio histopatológico *post-mortem* en el que se evalúa tanto la presencia como la distribución de placas amiloides y ovillos neurofibrilares depositados en las neuronas. Destaca el método topográfico de los estadios de Braak (figura 2)<sup>1,7,8</sup>.



**Figura 2.** Representación esquemática del hemisferio de una persona sana en comparación con el hemisferio de un paciente afectado por la EA. Se observan los diferentes estadios patológicos del cerebro; leve, moderado y severo en correlación con el número de placas seniles presentes. A su vez se muestra la progresión de la distribución del daño provocado por los ovillos neurofibrilares recogida en los estadios de Braak como sistema de estratificación. Según la región cerebral afectada y los síntomas presentes en cada momento, se diferenciarán siete estadios de lesión<sup>6</sup>.

Por otro lado, el diagnóstico clínico de la EA consta de distintas pruebas. Comenzando por una anamnesis del paciente en la que se analiza su historial médico y antecedentes familiares, será también de utilidad la historia de los cambios cognitivos y de comportamiento del paciente desde el punto de vista de sus familiares. A continuación, se procederá a evaluar el grado de disfunción cognitiva a través de unos cuestionarios escritos destinados a ser completados por el paciente. Destacan el Mini-Mental State Examination (MMSE) y la Evaluación Cognitiva de Montreal (MoCA), ambos poseen limitaciones a la hora de evaluar tanto el estado de ánimo como el pensamiento<sup>8,9</sup>.

El paso siguiente en el diagnóstico será la realización de un examen físico y neurológico completo y, en casos complejos, con el fin de descartar lesiones

cerebrales estructurales como pueden ser los tumores, se podrán incluir pruebas de neuroimagen como la resonancia magnética (RMN) y la tomografía computerizada (TAC)<sup>3,5</sup>.

Por otro lado, debido a la necesidad de diagnosticar el Alzheimer de forma precoz con el objetivo de retrasar todo lo posible el avance de la enfermedad, el estudio de los cambios en ciertos biomarcadores moleculares se ha convertido en un foco muy importante de investigación. Los principales biomarcadores fisiopatológicos estudiados son la proteína A $\beta$  42 y la proteína Tau, ambos se localizan a nivel del líquido cefalorraquídeo y la obtención de concentraciones que se encuentren dentro de los rangos de normalidad servirán prácticamente como criterio de exclusión de la EA<sup>5</sup>.

### **2.3. Fisiopatogenia de la EA**

La sintomatología de esta enfermedad posee una base cerebral en la que se ven afectados distintos tipos de neuronas. Inicialmente destaca el daño colinérgico, manifestado por la aparición de dos tipos de alteraciones neuroanatómicas diferenciadas: las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares. La hipofunción en la producción de neurotransmisores tanto colinérgicos como glutamatérgicos y la apoptosis neuronal serán también procesos principales de este deterioro funcional a nivel cerebral<sup>1,10</sup>.

Las placas neuríticas, también denominadas placas seniles o placas amiloides, son lesiones microscópicas que se presentan en forma de depósitos esféricos extracelulares distribuidos entre las neuronas. Su interior está principalmente contenido por filamentos de proteína A $\beta$ , de la cual existen dos especies; A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42, péptidos que derivan del catabolismo en condiciones patológicas de la proteína APP. Dicho proceso se conoce como vía amiloidogénica y, dado que sus fragmentos resultantes (A $\beta$ ) son de carácter insoluble, será posible la formación de agregados proteicos de carácter tóxico, las placas neuríticas. Por el contrario, en condiciones fisiológicas, el catabolismo de la APP seguirá la vía no amiloidogénica, dando como resultado otros fragmentos solubles y que por tanto no generarán toxicidad neuronal<sup>11</sup>.

Los ovillos neurofibrilares son unas estructuras intracitoplasmáticas formadas en las neuronas por acumulación de diversas proteínas, siendo tau el péptido principal. La misión de Tau es estabilizar el ensamblaje de los microtúbulos que corren a lo largo de los axones neuronales siendo esenciales para el transporte intracelular. En la EA, debido a la agregación extracelular de A $\beta$  en forma de placas neuríticas, se produce una hiperfosforilación de Tau que hará que se acumule formando agregados intracelulares con aspecto de maraña, los ovillos neurofibrilares, impidiendo así el transporte de nutrientes y la transmisión de señales eléctricas. Cabe destacar que los ovillos han demostrado poseer una mayor correlación con el Alzheimer que las placas<sup>1,11</sup>.

#### **2.4. Abordaje farmacológico de la EA y sus limitaciones**

En la actualidad, el tratamiento farmacológico del Alzheimer se centra exclusivamente en la mejora de la sintomatología mediante la modulación de la actividad de ciertos neurotransmisores como la acetilcolina y el glutamato. Con esto se consigue un mantenimiento de la función cognitiva y una mejora de los trastornos de conducta pero, dado que el tratamiento disponible no previene, modifica o revierte la progresión de la enfermedad, el avance del Alzheimer continúa siendo inevitable<sup>3</sup>.

En primer lugar, para el tratamiento de los síntomas cognitivos existen dos tipos de fármacos cuyo uso está autorizado en el tratamiento de la EA: los inhibidores de la acetilcolinesterasa (IACE) y los moduladores de la transmisión glutamatérgica.

Los IACE utilizados son el donepezilo, la galantamina y la rivastigmina. Estos fármacos se unen a la enzima acetilcolinesterasa (ACE) impidiendo la fijación de acetilcolina y su consiguiente inactivación por hidrólisis. Ante la imposibilidad de la enzima para fijar la acetilcolina se producirá un aumento de la biodisponibilidad de dicha molécula en el cerebro. Cabe destacar además la capacidad de la galantamina para provocar cambios alostéricos en los receptores nicotínicos, potenciando así la acción de la acetilcolina. La acetilcolina es el principal neurotransmisor del sistema colinérgico, resulta indispensable para que tenga

lugar la transmisión del impulso nervioso tanto a nivel central como periférico, encargándose de regular diversas funciones como la contracción muscular, los ciclos del sueño, la percepción del dolor, el aprendizaje o la memoria<sup>3,12</sup>.

Los IACE son además capaces de unirse a la enzima butirilcolinesterasa (BuCE) realizando la misma función. La diferencia radica en que la ACE es diez veces más abundante en el cerebro que la BuCE, mientras que en la periferia predomina la BuCE, por lo que su inhibición conllevará un mayor número de reacciones adversas de carácter colinérgico como náuseas, vómitos, diarrea, mareos o mialgias. La aparición e intensidad de los síntomas dependerá de la dosis, la sensibilidad del paciente y la intensidad de inicio del tratamiento. Ante este último factor, con el fin de desarrollar cierto grado de tolerancia a las reacciones adversas, conviene incrementar la dosis poco a poco durante los primeros tres meses, lo que se conoce como período de estabilización<sup>3</sup>.

Los tres fármacos están indicados para el tratamiento de los síntomas en las etapas temprana y moderada de la EA, sin embargo, el donepezilo es también eficaz en la etapa avanzada. Además, todos ellos poseen muy buena absorción oral y no presentan diferencias clínicamente relevantes. No obstante, la rivastigmina se suele administrar vía transdérmica a través de parches, ello facilita su dosificación y mejora el cumplimiento de los pacientes, permitiendo alcanzar la dosis máxima de fármaco en un plazo menor de tiempo<sup>3,13</sup>.

En cuanto al grupo de fármacos moduladores del glutamato, destaca la memantina, la cual actúa como agonista parcial con baja afinidad por el receptor de glutamato NMDA, ejerciendo un bloqueo no competitivo y reversible sobre éste. Con esto se consigue mantener la actividad glutamatérgica imprescindible para que haya una actividad cerebral normal, es decir, sin interferir en los procesos de memoria y aprendizaje dependientes del glutamato, pero contrarrestando la neurotoxicidad que dicho neurotransmisor pueda causar. Las reacciones adversas de la memantina pueden ser confundidas con las del propio proceso patológico siendo las siguientes: fatiga, alucinaciones, confusión, vértigo, mareo, somnolencia y estreñimiento. Se trata de un fármaco que puede ser administrado vía oral tanto en monoterapia como acompañado de IACE y

que está indicado para etapas moderadas y avanzadas de la enfermedad, pero también en aquellos casos leves o moderados en los que el paciente no tolera los IACE<sup>3</sup>.

En segundo lugar, y en lo referente al tratamiento de síntomas conductuales no cognitivos de la EA, los fármacos empleados se adecuarán al tipo de trastorno. De esta manera, que para la depresión se utilizarán, por su perfil de seguridad y eficacia clínica, los ISRS y otros antidepresivos como la venlafaxina y la mirtazapina. Los síntomas psicóticos serán tratados con antipsicóticos atípicos, y en caso de ansiedad, se recomienda el uso de benzodiazepinas. Por último, para los síntomas maniformes se utilizarán fármacos antiepilépticos<sup>3</sup>.

Ante la limitación de los tratamientos comentados al ámbito exclusivo de la mejora de la sintomatología, actualmente la ciencia trata de dirigir sus investigaciones al ámbito de la patogenia a través de dos estrategias, la neuroreparadora, cuyo objetivo es el reemplazo de las poblaciones neuronales degeneradas y la neuroprotectora que se centra en la protección de las células neuronales frente a la apoptosis, actuando sobre la patología amiloide, la patología tau y la vía neuroinflamatoria, estudiada en esta revisión<sup>3</sup>.

## **2.5. La trombina como mediador patológico común en la EA y las enfermedades cardiovasculares: disfunción endotelial e inflamación.**

Puesto que el fármaco objeto de estudio es el anticoagulante oral dabigatrán, cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir de manera directa la trombina, conviene dar una visión general de esta proteína y su implicación en el desarrollo de la EA.

La trombina es una enzima indispensable en la cascada de coagulación por su papel en la agregación plaquetaria mediante la conversión del fibrinógeno soluble en fibrina insoluble, factor imprescindible para la formación del coágulo. Interviene además en muchas otras funciones del cuerpo como la adhesión celular, la migración celular, la angiogénesis y la inflamación, todo ello resulta

posible dada su capacidad para activar los receptores activados por proteasa (PARs) en las células. Gran parte de la actividad inflamatoria de la trombina se debe a su capacidad para generar disfunción endotelial<sup>1</sup> al alterar la forma de las células endoteliales, afectando al diámetro de los vasos y aumentando la permeabilidad, sucesos que provocarán una activación endotelial que derivará en una mayor liberación de proteínas proinflamatorias. En concreto, será la fibrina la encargada de inducir la expresión de dichas proteínas, mediando así el proceso inflamatorio y jugando un papel muy importante en el desarrollo de la EA, como se verá más adelante en la revisión de los ensayos clínicos del dabigatrán. La liberación de dichas proteínas proinflamatorias provocará a su vez estrés oxidativo<sup>2</sup>, aumento de citoquinas, permeabilidad de la barrera y adhesión leucocitaria lesionando así las células endoteliales. Por todo ello, la trombina se encuentra implicada en el desarrollo de varias enfermedades vasculares a nivel periférico, como la diabetes y la aterosclerosis, factores de riesgo de la EA<sup>14,15,16,17</sup>.

Además de esto, la lesión celular conduce a una mayor liberación de trombina, por lo tanto, la trombina es capaz de actuar también de manera autocrina, es decir, estimulando su propia secreción y creando así un ciclo nocivo de autoalimentación que hace que el incremento de trombina sea tanto causa como consecuencia de las enfermedades cardiovasculares. En el caso por ejemplo de la aterosclerosis (trastorno vascular inflamatorio), se han hallado niveles elevados de trombina y del receptor PAR alrededor de las placas ateroscleróticas<sup>15,16</sup>.

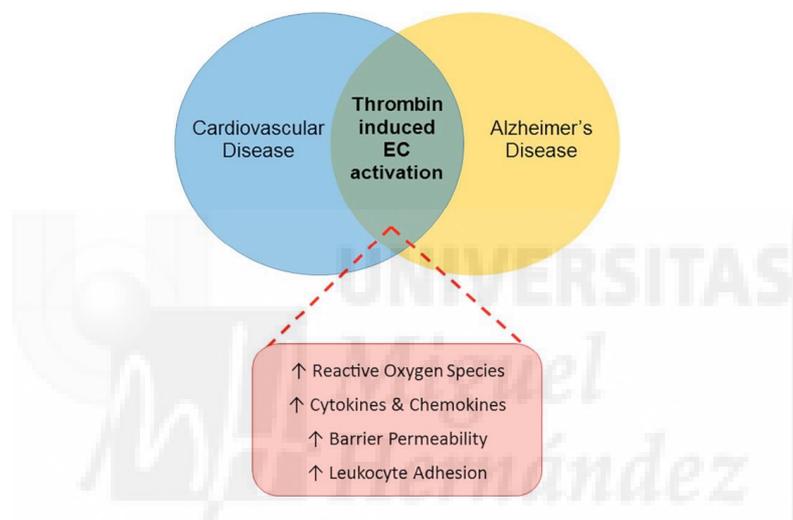
A nivel de la BHE, la trombina daña la permeabilidad, aumentándola y facilitando así la entrada al cerebro de trombina y otras sustancias dañinas, como

---

<sup>1</sup> Disfunción endotelial: desequilibrio entre los factores vasodilatadores y vasoconstrictores derivados del endotelio. Puede ser la causa o la consecuencia de enfermedades vasculares y actúa como marcador de factores de riesgo cardiovascular.

<sup>2</sup> Estrés oxidativo: incremento intracelular excesivo de especies reactivas de oxígeno (ROS) que conlleva a un cambio estructural y funcional en la célula acelerando su envejecimiento y favoreciendo la apoptosis. Las ROS en condiciones normales poseen una actividad oxidativa esencial para el equilibrio del organismo.

mediadores inflamatorios de la sangre. Esto resultará esencial ya que se ha visto que, a nivel del SNC, la trombina actúa de la misma manera que en la periferia, es decir, provocando disfunción endotelial. La diferencia es que, al ser a nivel de la microvasculatura cerebral, las células endoteliales que se activarán para desencadenar el proceso inflamatorio serán las de los astrocitos, la microglía, la BHE y las neuronas, cuya lesión por exposición a la trombina tendrá efectos neurotóxicos tales como la apoptosis, que promoverán, en este caso, la neurodegeneración. Por tanto, se puede decir que la trombina se considera un mediador patológico común y clave en las patologías vasculares y la EA<sup>15,18</sup>.



**Figura 3:** La trombina como inductor común de la activación endotelial en la EA y las enfermedades cardiovasculares<sup>15</sup>.

Niveles tanto de trombina como del receptor de trombina PAR-1 se encuentran por tanto elevados en aquellos pacientes que padecen la EA, detectándose trombina tanto en los ovillos neurofibrilares como en las placas seniles. Esto se debe a que la trombina además induce la agregación de TAU y también la secreción de APP en las células endoteliales, además de alterar su procesamiento a fragmentos e incrementar los niveles de APOE en el hipocampo. Además de esto, la proteína A $\beta$  resultante del catabolismo de APP promueve la síntesis de trombina<sup>15</sup>.

En conclusión, hoy en día existe una fuerte evidencia científica a cerca de la simultaneidad en la aparición de patologías vasculares y degenerativas en hasta

un 80% de los casos. Además, se sabe que la EA y los accidentes cerebrovasculares comparten un conjunto de factores de riesgo cardiovasculares que al provocar la disfunción del endotelio vascular acaban por generar una hipoperfusión a nivel cerebral (traducida en hipoxia, estrés oxidativo y cambios metabólicos). Como consecuencia, las células endoteliales de la microvasculatura cerebral responden secretando trombina y proteínas proinflamatorias acelerando así las manifestaciones clínicas de la EA. Todo ello, sumado a los esfuerzos poco prometedores en la búsqueda de terapias modificadoras de la enfermedad dirigidas a la proteína A $\beta$ , abre las puertas al estudio de la vía neuroinflamatoria en el tratamiento de la EA<sup>19</sup>.

En este ámbito, los anticoagulantes ya han demostrado ser útiles en la mejora de los síntomas del Alzheimer, pero su eficacia se encuentra limitada por no presentar selectividad a la hora de inhibir la trombina, por la necesidad de una estrecha vigilancia y el alto riesgo de hemorragia. Por ello, los anticoagulantes orales directos han surgido como una alternativa útil con un mejor perfil de seguridad. Entre ellos destaca el dabigatrán, clínicamente aprobado para varias aplicaciones, como la prevención de los accidentes cerebrovasculares en pacientes con fibrilación auricular no vascular y el tratamiento de la tromboembolia venosa.

El dabigatrán tiene mínimas interacciones farmacológicas, un bajo riesgo de hemorragia intracraneal, un potente efecto antiinflamatorio y dispone de un agente eficaz de reversión para poder detener inmediatamente su efecto anticoagulante. Por todo ello, en esta revisión se estudiará la eficacia potencial del anticoagulante dabigatrán en el tratamiento de la EA<sup>2,20,19</sup>.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

- Estudiar el potencial terapéutico del anticoagulante oral dabigatrán sobre la mejora de la patogenia de la EA, como alternativa a los tratamientos actuales basados exclusivamente en la mejora de la sintomatología.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Comparar la eficacia de los anticoagulantes inhibidores indirectos de la trombina y el dabigatrán en el tratamiento de la EA
- Revisar las evidencias preclínicas y clínicas acerca de los efectos terapéuticos y las limitaciones del dabigatrán en el tratamiento de la EA



#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

A la hora de realizar esta revisión, la metodología empleada se ha basado en una búsqueda bibliográfica principalmente en la base de datos biomédica *Medline* a través de su buscador *PubMed*. Para ello se han incluido los artículos más relevantes publicados en relación con el ámbito de estudio, incidiendo principalmente en aquellos que hacen referencia al papel del dabigatrán en el tratamiento de la EA. La búsqueda se ha realizado en inglés, por ser la principal lengua utilizada en el campo médico.

A la hora de realizar la búsqueda es imprescindible que las palabras clave estén escritas como descriptores, ya que serán éstos los que actúen como lenguaje único de indización permitiendo centrar la búsqueda en un concepto determinado. El empleo de descriptores evitará a su vez las confusiones derivadas del uso de ciertas palabras similares pero que poseen diferencias en su significado.

Para ello se ha utilizado la base de datos *DeCS* (Descriptores en Ciencias de Salud) en la que, a través de la opción “Consulta al DeCS”, se busca el término en índice permutado para obtener el descriptor deseado. A continuación, se comprueba el significado del descriptor *DeCS* y se obtiene su equivalencia en inglés, que, en este caso, se conoce como *MeSH* (*Medical Subject Headings*). La siguiente tabla contiene los descriptores utilizados en esta revisión.

	DeCS	MeSH
Alzheimer	Enfermedad de Alzheimer	Alzheimer disease
Dabigatrán	Dabigatrán	Dabigatran
Trombina	Trombina	Thrombin

Una vez convertidas las palabras clave del tema de estudio a descriptores *MeSH*, se procede a realizar las ecuaciones de búsqueda en *PubMed*, las cuales contendrán los *MeSH* precisos acompañados del operador booleano AND como conector de los términos empleados. Esto permitirá aumentar la sensibilidad y la especificidad de la búsqueda. A continuación, se exponen las ecuaciones de

búsqueda empleadas con sus correspondientes criterios de inclusión y exclusión en su caso:

- ("Dabigatran"[Mesh]) AND "Alzheimer Disease"[Mesh]

El estudio del fármaco dabigatrán en el tratamiento del Alzheimer constituye un tema de investigación de plena actualidad cuyos ensayos clínicos en humanos están por comenzar. Por ello, con la ecuación de búsqueda nombrada se recopilaron únicamente 7 publicaciones. No se utilizó, por tanto, ningún criterio de exclusión, contando con todo tipo de artículos con el fin de recabar la mayor información posible. Se excluyeron las referencias científicas no escritas en lengua inglesa o española, seleccionando finalmente 5 artículos, el más antiguo correspondiente a diciembre de 2012 y el más reciente a octubre de 2019.

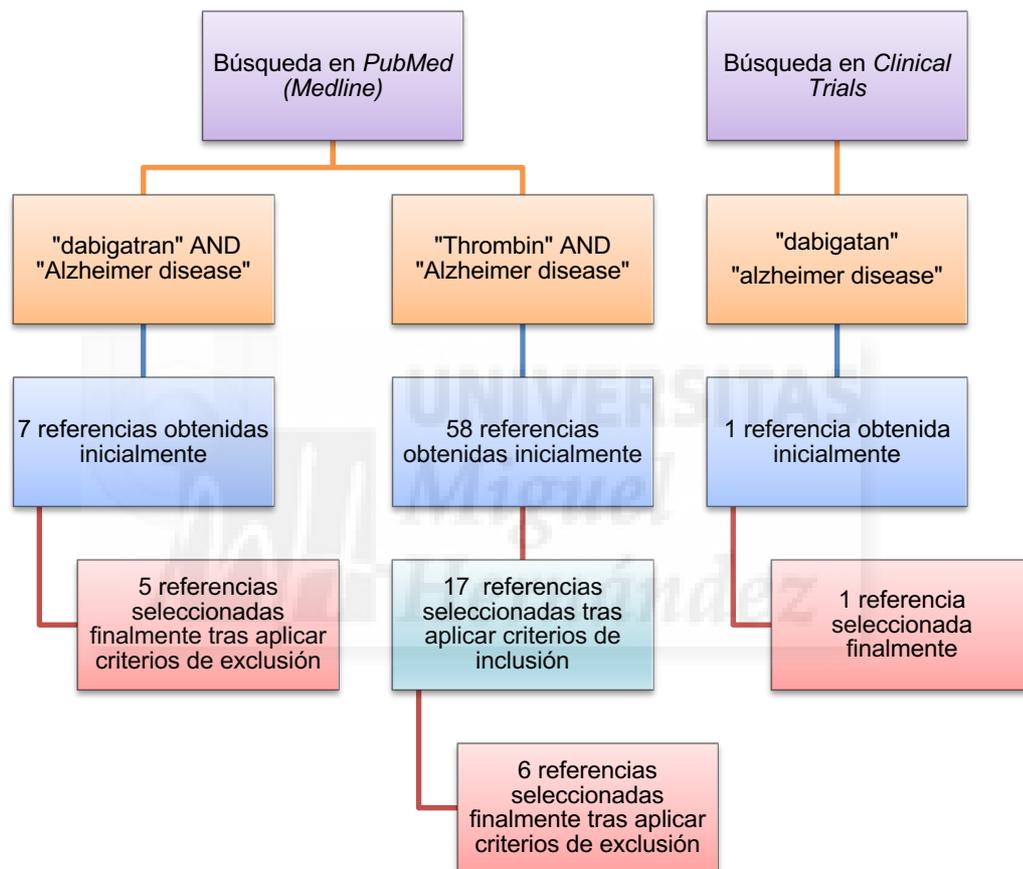
- ("Thrombin"[Mesh]) AND "Alzheimer Disease"[Mesh]

Esta ecuación de búsqueda se empleó con el fin de adquirir información complementaria acerca de la implicación de la trombina en la patogenia de la EA por ser la diana terapéutica del fármaco objeto de estudio. Con dicha búsqueda se obtuvieron 58 resultados. A continuación, se aplicó como criterio de inclusión aquellos artículos publicados en los últimos 10 años. Además, por su relevancia con el tema de estudio, se incluyó una publicación sugerida en la sección de artículos similares a otros sí obtenidos con la ecuación. De esta manera, la búsqueda se redujo a 17 resultados. Tras una lectura crítica de dichos artículos, se excluyeron aquellos que no se centraban en analizar el papel de la trombina en la EA, seleccionando finalmente un total de 6 artículos.

Para finalizar, además de las búsquedas en PubMed, también se utilizó la base de datos Clinicaltrials.gov en la que se registran ensayos clínicos realizados en todo el mundo como recurso proporcionado por la biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos. En el buscador de la página principal, tras seleccionar la opción de todos los estudios, se complementó el apartado correspondiente a "condition or disease" con el término "Alzheimer disease" y el

apartado "other terms" con "dabigatran". No se filtró por país específico y el resultado fue de 1 ensayo clínico, el cual fue incluido dada su relevancia por tratarse del primer ensayo clínico, todavía por comenzar, pero diseñado en humanos que trata el objeto de estudio de este trabajo.

A continuación, se muestra la representación gráfica de la búsqueda empleada en esta revisión bibliográfica según se ha descrito anteriormente.



**Figura 4.** Diagrama del proceso de búsqueda y selección de referencias en las bases de datos biomédicas.

## **5. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA**

### **5.1. Potencial terapéutico del dabigatrán frente a los inhibidores indirectos de la trombina en el tratamiento la EA**

Como se ha comentado anteriormente, los inhibidores de la trombina, varios de los cuales son actualmente utilizados en clínica como anticoagulantes, han demostrado reducir la neuroinflamación dependiente de trombina en condiciones patológicas, lo que sugiere que su uso podría estar implicado en la prevención del daño cerebral en enfermedades como la EA.

Los inhibidores indirectos de la trombina como la warfarina o el acenocumarol inhiben el reciclaje de vitamina K, cofactor esencial para la enzima gamma-glutamil carboxilasa (GGC). La GGC se encarga de catalizar la activación de proteínas de la cascada de coagulación (como la protrombina) pero a su vez cataliza otras proteínas que resultan vitales para el mantenimiento de la homeostasis y función cerebral normal. Por ello, la deficiencia de vitamina K puede afectar a la fisiología normal de las células neuronales y gliales. Entre las proteínas dependientes de vitamina K destaca el cerebrósido sulfotransferasa (CST) encargado de la síntesis de sulfatos, componentes fundamentales para la formación de la vaina de mielina y presentes además en los astrocitos, estando por tanto involucrados también en la inflamación.

Ante las múltiples funciones que desempeña la vitamina K, se pensó que estos fármacos inducirían cambios en la fisiología cerebral que, sin embargo, no se observarían después del tratamiento con un inhibidor directo de la trombina como el dabigatrán. Ante esto y, dado que los efectos de los inhibidores de la trombina en el SNC sano eran prácticamente desconocidos, en 2015, Maragoni y cols<sup>21</sup> publicaron un ensayo preclínico con el objetivo principal de comparar los efectos del tratamiento con warfarina y dabigatrán etexilato<sup>3</sup> en ratones adultos sanos. Cabe destacar que la cantidad de dabigatrán etexiato proporcionada a los ratones fue de 140 mg/Kg sobre la base de una biodisponibilidad de un 7%.

---

<sup>3</sup> Dabigatrán etexilato: precursor del dabigatrán. Tras su administración oral es transformado por esterasas en su forma activa, el dabigatrán.

Tras los análisis pertinentes, el ensayo efectivamente reveló que la warfarina podía influir en la fisiología glial de los ratones sanos incrementando la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) e Iba-1, marcadores de activación de las principales células implicadas en la neuroinflamación, los astrocitos y la microglía respectivamente. Por el contrario, se observó una reducción en el nivel de estos marcadores en aquellos ratones tratados con dabigatrán. También se examinó el cerebelo de los ratones, por ser un área de alto contenido en mielina, y por tanto más susceptible a los cambios en el contenido de sulfatos. Los resultados mostraron que la warfarina pero no el dabigatrán reducía los niveles de sulfato en el cerebelo. En esta área se midió también la expresión génica de CST, la cual se vio aumentada solo por la warfarina, lo que pudo significar un intento compensatorio de aumentar la capacidad de síntesis de los sulfatos en presencia de una actividad reducida del CST, pero este análisis en la expresión génica no aportó datos relevantes.

Además de estas observaciones desfavorables sobre el tratamiento con warfarina, resultados correspondientes a otros ensayos previos ya habían afirmado que este fármaco podía aumentar significativamente la permeabilidad de la BHE, causar lesiones microvasculares e inducir hemorragias cerebrales. Ante esto, y teniendo en cuenta los resultados favorables del dabigatrán sobre la disminución de los niveles de GFAP e Iba-1 en el cerebro de ratones sanos, Margoni y cols. decidieron continuar el ensayo probando si los mismos efectos serían observados también en ratones modelo de la EA tratados con dabigatrán. En este caso, los análisis en los cerebros de los ratones modelo de la EA mostraron de nuevo una considerable reducción de la expresión del GFAP de los astrocitos tanto en el hipocampo como en la corteza, principales áreas con alta carga amiloide. Por el contrario, no se redujo la expresión de Iba-1 en dichas áreas y tampoco se mostró una reducción significativa de las placas neuríticas.

Ante estos hallazgos se concluyó que los inhibidores de la trombina podían influir de manera selectiva sobre los astrocitos pero no sobre células microgliales, siendo sus efectos insuficientes para alterar la acumulación o eliminación amiloide.

## 5.2. Potencial terapéutico del dabigatrán en el tratamiento de la EA

Recientemente, en octubre de 2019, Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup> publicaron un ensayo clínico bajo el siguiente título: *El tratamiento a largo plazo con dabigatrán retrasa la patogénesis de la EA en el modelo de ratón TgCRND8*. Este estudio constituye hoy en día la prueba más contundente sobre la eficacia potencial del dabigatrán en el tratamiento de la EA, por lo que conviene ahondar en él. El ensayo preclínico fue realizado por investigadores del Centro Nacional de Investigaciones cardiovasculares (CNIC) en Madrid, en colaboración con la Universidad de Rockefeller de Nueva York, y su objetivo principal fue evaluar si la anticoagulación con dabigatrán, clínicamente aprobado con un bajo riesgo de hemorragia intracraneal, mejoraba la patogénesis de la EA. Para ello la metodología empleada fue la siguiente:

Ratones: se utilizaron dos tipos de ratones: ratones transgénicos, es decir, modificados genéticamente para desarrollar la patología de estudio (EA) y ratones no transgénicos y por tanto libres de enfermedad, llamados ratones control o ratones de tipo salvaje (en inglés: wild-type, WT). En cuanto a los ratones transgénicos, en concreto se usó el modelo experimental TgCRND8 de la EA, caracterizado por expresar múltiples mutaciones de la proteína APP desarrollando placas a los 3 meses de edad. La elevada concentración de A $\beta$  que presenta este modelo de ratones les confiere una agresividad particular que, en el caso de los machos, imposibilitó su alojamiento compartido con otros ratones. Dado que el alojamiento individual no resultaba viable en el estudio del comportamiento a largo plazo, el experimento finalmente se llevó a cabo exclusivamente con ratones hembra<sup>23</sup>.

Tratamiento con dabigatrán: aplicando un diseño de estudio aleatorizado, a un grupo de ratones se le administró el alimento con un suplemento de 5mg/g de dabigatrán etexilato, mientras que el otro recibió el vehículo correspondiente.

Ensayos de tiempo de trombina diluida: se utilizaron para monitorizar el efecto anticoagulante del dabigatrán por ser la actividad inhibitoria de la trombina directamente proporcional a la prolongación del tiempo que tarda la muestra de plasma en coagular.

Laberinto de Barnes: esta prueba se utilizó para evaluar la memoria espacial de los ratones. El procedimiento es el siguiente: el animal se sitúa primero en el centro del aparato en una cámara de inicio y a continuación se le deja que explore los diversos orificios ante la exposición a estímulos aversivos, como luces y sonidos. Lo que se evalúa es el tiempo que emplea en encontrar el orificio que lleva a la salida<sup>24</sup>.

Marcado arterial de espín (en inglés arterial spin labelling, ASL): Esta técnica cuantitativa de imagen por resonancia magnética (IRM) permitió obtener imágenes del encéfalo de los ratones para evaluar su flujo sanguíneo cerebral (FSC) de una forma no invasiva<sup>25</sup>.

Ensayos Wester-Blot (WB): se utilizaron para separar las proteínas solubles e insolubles extraídas de la corteza y el hipocampo de los ratones. Para ello, este método se basa en la electroforesis en gel: las proteínas se transfieren del gel a la superficie de una membrana en función de ciertos criterios, como el peso molecular de la proteína. A continuación, dicha membrana se expone a un anticuerpo específico contra la proteína de estudio y, finalmente, la unión anticuerpo-proteína se detecta usando un marcador radiactivo mediante tinción, consiguiendo así identificar la proteína de interés. Para garantizar la fiabilidad de los datos cada proteína fue a su vez enfrentada a un anticuerpo de una proteína control que suele abundar en la muestra, en este caso fue la tubulina<sup>26,27,28</sup>.

	<b>Proteína de estudio</b>	<b>Anticuerpo específico para la proteína</b>	<b>Importancia de la proteína</b>
<b>Muestras solubles</b>	Vimentina	Anti-vimentina	Marcadores de los astrocitos reactivos encargados de la inflamación en la EA
	GFAP	Anti-GFAP	
<b>Muestras insolubles</b>	Fibrina (Fibrinógeno)	Anti-fibrinógeno	Implicada en la coagulación

**Tabla 1:** Detalle de los anticuerpos empleados para el análisis de expresión proteica mediante la técnica de WB. Fuente: Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup>.

Tinción y cuantificación del cerebro del ratón: para la tinción del cerebro se realizaron análisis inmunohistoquímicos, los cuales, tras conjugar los anticuerpos con moléculas fluorescentes, permitieron obtener la imagen al microscopio de la localización de la unión anticuerpo-molécula en el tejido cerebral de los ratones y cuantificar así la presencia de las moléculas de interés en la EA mostradas en la tabla 2<sup>29</sup>.

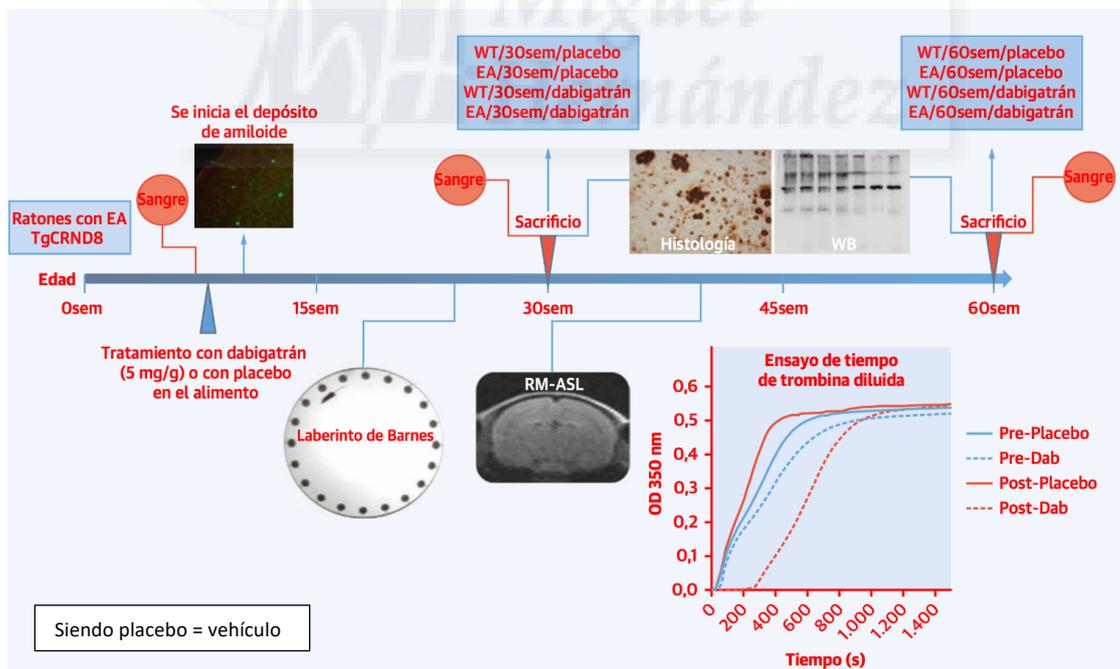
<b>Molécula de estudio</b>	<b>Anticuerpo específico para la molécula</b>	<b>Importancia de la molécula</b>
Proteína A $\beta$	6E10	Implicada en la formación de placas de A $\beta$
Oligómero A $\beta$	NAB61	Especie más tóxica de A $\beta$
Linfocito T CD3+	Anti-CD3+	Su infiltración cerebral contribuye a la neuroinflamación
Proteína CD68	Anti-CD68	Se expresa en la microgía fagocitaria encargada de la inflamación en la EA
AQP4 (aquaporina 4)	Anti-AQP4	Se expresa en los astrocitos y es esencial para la eliminación de A $\beta$ y el acoplamiento neurovascular y, por tanto, el aporte de nutrientes y oxígeno neuronal
Receptor PDGFR $\beta_4$	Anti-PDGFR $\beta$	Se expresa en los pericitos, células integrantes de la unidad neurovascular e imprescindibles para el mantenimiento de la BHE

**Tabla 2:** Detalle de los anticuerpos empleados para el análisis de expresión molecular mediante técnicas inmunohistoquímicas. Fuente: Cortes-Canteli, M. y cols <sup>22</sup>.

---

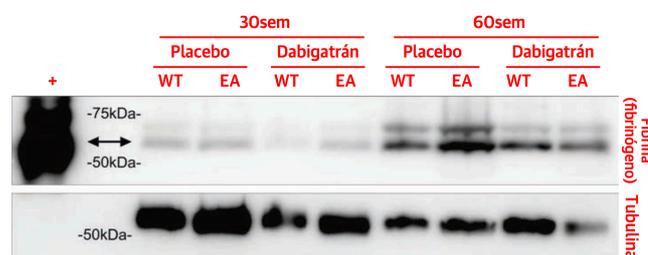
4 PDGFR $\beta$ : receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

En cuanto a la cronología del estudio (figura 5), éste comenzó con un grupo de ratones tanto TgCRND8 como WT de 8 semanas de edad, es decir, inmediatamente antes de la deposición amiloide en el cerebro. Dichos ratones fueron a su vez asignados al azar en dos grupos distintos, de los cuales uno recibió dabigatrán y el otro el vehículo correspondiente. A las 25 semanas de edad se llevó a cabo el laberinto de Barnes para evaluar el rendimiento de la memoria espacial de los ratones y, a continuación, tanto en el grupo de ratones tratados con dabigatrán como en el de los tratados con vehículo, algunos ratones fueron sacrificados a las 30 semanas de edad mientras que el resto continuaron con vida hasta las 60 semanas. A las 40 semanas de edad, los ratones aun no sacrificados fueron sometidos al etiquetado de giro arterial para medir su flujo sanguíneo cerebral. A los 8 grupos se les extrajo sangre antes y después del tratamiento para medir el efecto anticoagulante del dabigatrán mediante los ensayos de tiempo de trombina diluida. Por último, se recogieron muestras de tejido cerebral para realizar los ensayos histológicos y de WB en todos los ratones tras su sacrificio.



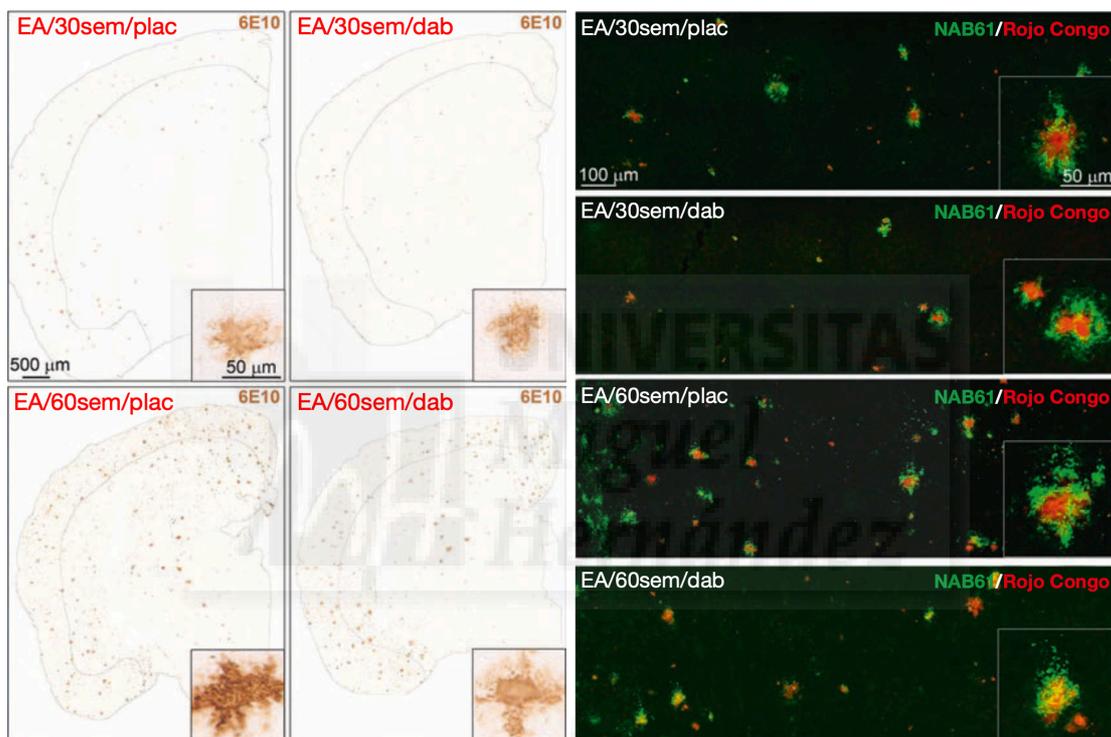
**Figura 5:** Diagrama temporal de los experimentos y evaluaciones realizadas a los ratones TgCRND8 y WT durante el curso de tratamiento crónico con dabigatrán o su vehículo. Imagen extraída de Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup>.

Al finalizar el estudio, los resultados mostraron una serie de conclusiones de carácter favorable para el tratamiento de la EA que se remarcan a continuación. En primer lugar, en base a la ingestión de comida por ratón (5g aprox.), el peso de los ratones (26,5 g aprox.) y la baja biodisponibilidad del dabigatrán etexilato (6,5%) se estimó que la dosis promedio que recibieron los ratones fue de unos 60 mg/Kg de dabigatrán etexilato cada 24h. Los ensayos de tiempo de trombina diluida revelaron un retraso en la formación de coágulos en el plasma de los ratones tratados con dabigatrán, como era de esperar. Por otro lado, la prueba del laberinto de Barnes mostró que los ratones modelo de la EA tratados con dabigatrán actuaron de manera comparable a los ratones control, pasando mucho más tiempo en las áreas objetivo que en las no objetivo, lo que demuestra que el tratamiento con dabigatrán previno el descenso de la memoria espacial en los ratones en los que se modeliza la EA. Los datos del ASL revelaron que el FSC de los ratones TgCRND8 tratados con dabigatrán era del 112,7% en comparación con el 85,8% que presentaban los tratados con vehículo, lo que indica que el FSC se conservó en los ratones modelo de la EA tratados con dabigatrán, evitando así la hipoperfusión cerebral. En cuanto a los resultados de los ensayos WB con respecto a la cuantificación de fibrina (Figura 6), en ellos se vio una clara reducción de la cantidad de fibrina en el cerebro de los ratones TgCRND8 de 60 semanas tratados con dabigatrán en comparación con aquellos tratados con vehículo, indicando así que la inhibición de la trombina por el dabigatrán previno la formación de coágulos patológicos de fibrina y su acumulación en el cerebro de los ratones modelo de la EA.



**Figura 6:** Resultados del ensayo WB sobre la acumulación de fibrina en el cerebro de los ratones de 30 semanas y 60 semanas, comparando el tratamiento (dabigatrán vs vehículo) y los ratones TgCRND8 y WT. Imagen extraída de Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup>.

Como se observa en la figura 7, las técnicas inmunohistoquímicas mostraron que la cantidad de A $\beta$  cortical había disminuido un 24% en los ratones transgénicos de 60 semanas tratados con dabigatrán en comparación con los tratados con vehículo y, como era de esperar, tras el tratamiento con dabigatrán, el aumento de la cantidad de oligómeros de A $\beta$  en los ratones TgCRND8 tratados con dabigatrán fue atenuado en un 58%. Estos resultados proporcionan evidencia de que el tratamiento a largo plazo con dabigatrán mejoró la carga amiloide en los ratones modelo de la EA.



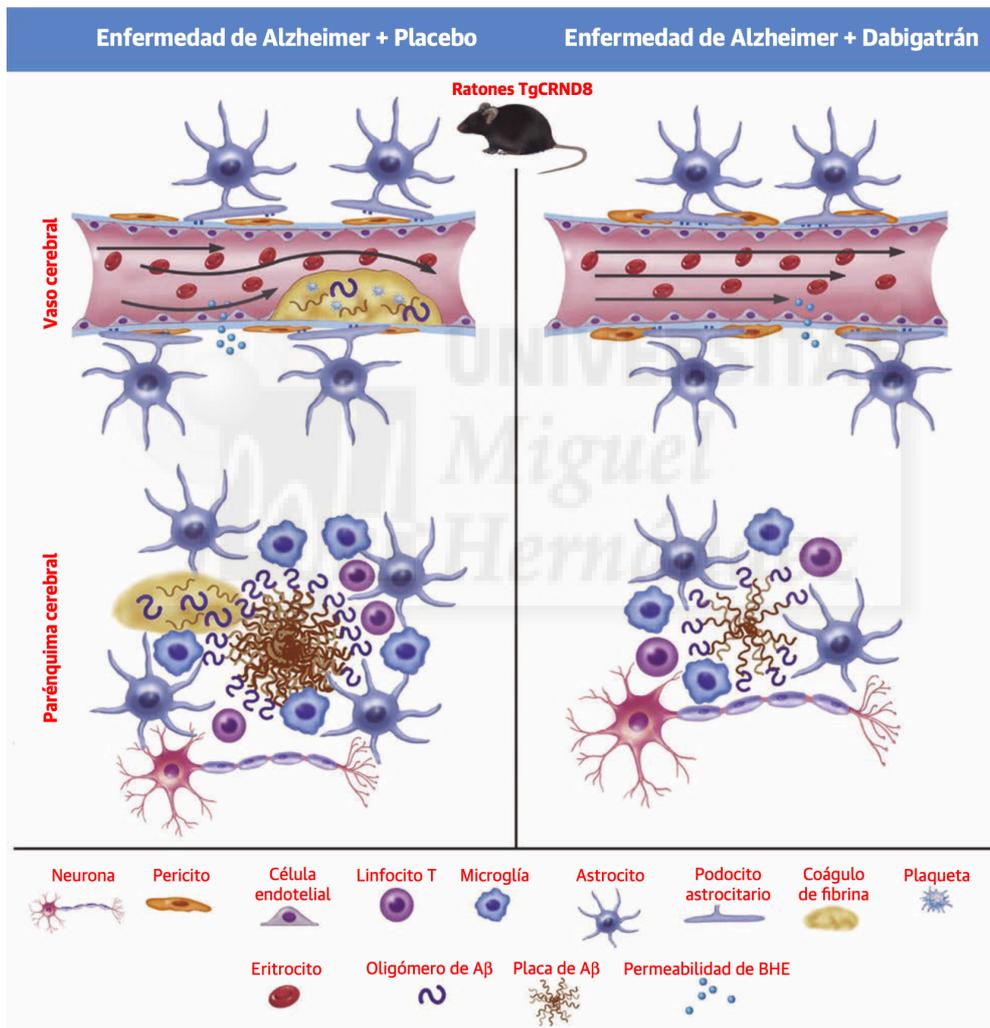
**Figura 7:** Imágenes de la inmunotinción cerebral de los ratones TgCRND8. A la izquierda se muestra la presencia de A $\beta$  tras la tinción del anticuerpo 6E10 y a la derecha la presencia del oligómero de A $\beta$  tras la tinción del anticuerpo NAB61, ambas en función del tratamiento y las semanas de edad. Imágenes extraídas de Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup>.

A su vez, la inmunohistoquímica mostró una reducción de un 31% y un 30% respectivamente en los niveles de CD68 y linfocitos T CD3+ en los cerebros de los ratones transgénicos de 60 semanas tratados con dabigatrán en comparación con los tratados con vehículo. Además, los ensayos WB revelaron

que los niveles generales de la vimentina y la GFAP también habían disminuido en un 50% y un 32% respectivamente en esos mismos ratones. Estos datos demostraron que la anticoagulación a largo plazo con dabigatrán disminuyó la neuroinflamación en los ratones modelo de la EA. La cuantificación de AQP4 reveló que los ratones transgénicos tratados con dabigatrán presentaban significativamente una mayor tinción de AQP4 en el sitio correcto para realizar su función, es decir, en los podocitos de los astrocitos que rodean los vasos sanguíneos de la BHE, es decir, a nivel perivascular. Sin embargo, en aquellos animales tratados con vehículo, la expresión de AQP4 se había desplazado, ubicándose alrededor de las placas amiloides. Por último, la cuantificación del receptor PDGFR $\beta$  mostró que el tratamiento con dabigatrán había mejorado los procesos hipertróficos de carácter anómalo que presentaban los pericitos alrededor de los capilares en la corteza, normalizándose por tanto la tinción de este receptor en el cerebro de los ratones transgénicos de 60 semanas tratados con dabigatrán. Ambos resultados indican que la anticoagulación a largo plazo con dabigatrán preservó la integridad de la BHE en ratones modelo de la EA.

Para finalizar, cabe mencionar las dos limitaciones que presentó el ensayo preclínico de Cortes-Canteli, M y cols. En primer lugar, se sabe que el riesgo de hemorragia que por lo general puede causar el tratamiento a base de anticoagulantes se puede ver exacerbado si los pacientes con EA presentan además microhemorragias cerebrales o depósitos de A $\beta$  en los vasos, enfermedad conocida como angiopatía amiloide cerebral (AAC). Sin embargo, el dabigatrán se caracteriza por presentar un bajo riesgo de hemorragia intracraneal y además en este estudio no se observaron incidencias de este tipo en ninguno de los ratones. A pesar de ello, el uso del dabigatrán en aquellos pacientes con EA que además presenten una amplia AAC y microhemorragias cerebrales deberá ser cuidadosamente evaluado por expertos en cardiología y neurología para asegurar que los beneficios de su uso superen cualquier riesgo de hemorragia. Por otro lado, dada la breve semivida que presenta el dabigatrán etexilato en los ratones (15 min aprox.) y, puesto que se trata de un fármaco dos veces menos eficaz a la hora de inhibir la trombina del ratón que la humana, en

los ratones del ensayo se utilizó una dosis supratrapéutica de fármaco para intentar asemejarla lo máximo posible a las concentraciones plasmáticas que se alcanzarían en humanos. Por tanto, serán necesarios más estudios para realizar una precisa extrapolación de la anticoagulación a largo plazo alcanzada en los ratones del estudio al ser humano. No obstante, la dosis utilizada de dabigatrán (60 mg/kg aprox.) en este estudio produjo unas concentraciones de fármaco en plasma similares a las descritas en pacientes tratados con anticoagulantes a largo plazo.



**Figura 8:** Esquema gráfico representativo en el que se evidencia que el tratamiento con dabigatrán proporciona una mejoría en la patología de la EA en los ratones TgCRND8 al prevenir el depósito de fibrina en la microvasculatura y el parénquima cerebral, disminuir las placas de Aβ y la neuroinflamación y preservar la BHE y el FSC. Imagen extraída de Cortes-Canteli, M. y cols.<sup>22</sup>.

En vista de los resultados óptimos obtenidos tras el ensayo preclínico comentado, el siguiente paso en la investigación del potencial terapéutico del dabigatrán sería la realización de un ensayo clínico. En 2018 Grammas P. y cols.<sup>30</sup> publicaron el diseño de un ensayo clínico titulado *Una nueva diana terapéutica para la enfermedad del Alzheimer en hombres y mujeres de 50 a 85 años*. Dicho ensayo será realizado por la Universidad de Rhode Island y actualmente no ha comenzado el reclutamiento de pacientes, no obstante, se prevé que para diciembre de 2021 el ensayo haya finalizado.

Este ensayo clínico será multicéntrico y constará de dos fases. La primera fase tendrá una duración de 9 meses y en ella, 40 participantes (hombres y mujeres) que presenten un deterioro cognitivo leve, debido probablemente a la EA, recibirán un tratamiento de 150 mg diarios a base de dabigatrán o placebo. El modelo a seguir será aleatorizado y de doble ciego, es decir, ni el investigador ni los participantes conocerán el tratamiento administrado. En la segunda fase el ensayo pasará a ser abierto durante 12 meses, en este caso ambos conocerán el tratamiento. A continuación, la administración de tratamiento será cesada durante 3 meses, ello servirá para evaluar si los efectos cognitivos propuestos pueden mantenerse o no en ausencia de dabigatrán.

Este ensayo clínico tendrá como objetivo principal evaluar la eficacia del dabigatrán a la hora de modificar la EA en las primeras etapas de la enfermedad analizando la variación de los niveles de biomarcadores de la enfermedad presentes en plasma y LCR. Entre otros objetivos secundarios se buscará también evaluar la seguridad y tolerabilidad del dabigatrán en la población experimental basada en los efectos adversos reportados durante los 21 meses de duración del ensayo.

## 6. DISCUSIÓN

Como se ha demostrado a lo largo de este trabajo, la EA no está dominada por un único factor biológico como la proteína A $\beta$  si no que presenta una compleja etiología de carácter multifactorial en la que confluyen diferentes mecanismos fisiológicos incluida una desregulación a nivel vascular. Por tanto, en lo referente a su tratamiento, la EA abre las puertas al estudio de fármacos con indicaciones terapéuticas ya establecidas como es el caso de los anticoagulantes orales pudiéndoles atribuir nuevas aplicaciones. Este concepto se conoce como reposicionamiento farmacológico y, en el caso de esta enfermedad, en los últimos años está ganando mucha atención. Según Ihara M. y cols.<sup>31</sup>, alrededor del 30% de los ensayos clínicos para la EA llevados a cabo en todo el mundo, utilizan este método, esto se debe a la ralentización en el desarrollo de nuevos fármacos, las estrictas normas de aprobación y sobretodo la necesidad de encontrar nuevas vías de actuación farmacológica, incluso combinaciones de ellas, que sustituyan a las actuales, las cuales están limitadas a paliar la sintomatología de la enfermedad. Además, reutilizar un fármaco cuya farmacocinética y perfil de seguridad están bien establecidos disminuye la posibilidad de aparición de nuevas reacciones adversas, haciendo los ensayos clínicos más seguros y fiables. Por último, la reposición, también implica eliminar la fase temprana del desarrollo clínico pudiendo reducir significativamente no solo el tiempo de desarrollo, sino el coste asociado, pues se estima que la probabilidad de que un nuevo fármaco sea aprobado para la práctica médica es de entre el 0,02% y el 0,01%<sup>31, 32</sup>.

Cada vez existen más pruebas que apoyan el estado procoagulante crónico de la EA. En este contexto, a pesar de que las acciones terapéuticas de los inhibidores indirectos de la trombina como la warfarina a la hora de reducir la coagulación y minimizar el riesgo de derrame cerebral y hemorragia son vitales, se deben tener en cuenta las respuestas adicionales que estos pueden desencadenan a nivel del SNC mediante la reducción de los niveles de vitamina K, como mostraron los resultados del ensayo preclínico de Maragoni y cols. Esto resulta particularmente importante cuando su uso se requiere para un

tratamiento a largo plazo, como es el caso de la EA. En cambio, la inhibición directa de la trombina que proporciona el dabigatrán minimiza las consecuencias de la reducción de los niveles de vitamina K y, al mismo tiempo, puede ayudar a reducir las respuestas inflamatorias dependientes de la trombina, lo que sitúa al dabigatrán en el punto de mira como anaticoagulante potencial para tratar la EA. De hecho, como muestra el ensayo preclínico de Cortes-Canteli, M. y cols., el abordaje de la EA mediante un inhibidor directo de la trombina mejora los diferentes sellos patológicos de la enfermedad en un modelo de ratón de la EA, preservando la perfusión cerebral y previniendo el declive de la memoria en dichos ratones. Este estudio también mostró que, a largo plazo, la deposición de fibrina se ve inhibida, mejorando la carga amiloide, la actividad neuroinflamatoria y preservando la BHE.

Como se ha visto en los resultados, el tratamiento con dabigatrán a largo plazo evitó la acumulación patológica de fibrina en el interior de los vasos sanguíneos de los ratones modelo de la EA, favoreciendo así la circulación cerebral. Este dato resulta crucial por ser la hipoperfusión cerebral una alteración que sin duda precede a la aparición de la EA. Además, dado que la fibrina y la A $\beta$  interactúan induciendo la formación de coágulos sanguíneos resistentes, se cree que la disminución de fibrina y la reducción de los niveles del oligómero A $\beta$  tóxico observada, pudo influir en la mejoría de la perfusión cerebral y, por tanto, también en el suministro de nutrientes y oxígeno al cerebro esencial para la función neuronal.

Por otro lado, como se veía en la introducción, la trombina, la fibrina y la A $\beta$  actúan como mediadores proinflamatorios, por lo que la inhibición de la trombina y la consiguiente reducción de fibrina y A $\beta$  revelada en los ratones tratados con dabigatrán pudieron contribuir a la mejora de la neuroinflamación en la EA. Además de esto, el dabigatrán también inhibe el efecto de la trombina sobre la agregación plaquetaria, lo que implica una disminución de la hemostasia y con ello de la inflamación asociada.

El estudio también impidió la redistribución de AQP4, manteniéndose en la zona perivascular de los astrocitos de la barrera y mejorando así las funciones

de captación, eliminación y de A $\beta$  a través de la BHE asociadas a este canal de agua. Por tanto, este drenaje de A $\beta$  pudo contribuir también a la disminución de carga amiloide y con ello a la reducción de las placas neuríticas. Además, el tratamiento con dabigatrán también mostró una preservación de los pericitos importantes en el mantenimiento de la BHE, por lo que la fuga de componentes del plasma como la trombina y la fibrina al parénquima cerebral se pudo ver disminuida. Este hecho podría contribuir por tanto a la reducción del contenido de fibrina en el cerebro de la EA y sus efectos comentados al inicio.

Por otro lado, puesto que la acumulación de fibrina en el cerebro y con ello la formación de coágulos comentada se produce de manera crónica a medida que la patología avanza con la edad, los efectos del dabigatrán fueron especialmente significativos tras el tratamiento de larga duración. Otra prueba destacable de ello es la preservación de la cognición que mostraron los ratones transgénicos tratados con dabigatrán al ser sometidos al laberinto de Barnes. Con todo esto se apunta a la fibrina como componente esencial en el desarrollo de la EA constituyendo una importante diana terapéutica a tener en cuenta en la investigación de nuevos tratamientos para esta patología.

Se concluye por tanto que los efectos del dabigatrán en el tratamiento a largo plazo resultan ser prometedores en la mejora de la patología de la EA obteniendo un 30% de disminución de las características patológicas en el cerebro. También se remarca la importancia de incluir en el diagnóstico de la EA un método para identificar a aquellos pacientes con EA que presenten tendencia a coagular, por ser un factor que contribuye al desarrollo de la enfermedad. De esta manera se podría abordar el problema desde el inicio al identificar a los pacientes que precisen de este tratamiento crónico para que puedan empezar lo más pronto posible, conseguir retrasar el inicio de la enfermedad y aumentar así la calidad de vida de los pacientes con Alzheimer.

Por último, se sugiere que la combinación de dabigatrán con otros compuestos modificadores de la enfermedad podría resultar particularmente interesante a la hora de mejorar la patología de la EA por lo que se abre una nueva ventana en la investigación de esta patología.

## 7. CONCLUSIONES

- La patogenia de la EA tiene carácter multifactorial y actualmente existe simultaneidad en la aparición de patologías vasculares y degenerativas en hasta un 80% de los casos.
- La trombina actúa como mediador patológico común en las enfermedades cardiovasculares y la EA estando implicada en la disfunción endotelial y la inflamación.
- Los inhibidores indirectos de la trombina como la warfarina pueden influir negativamente en el mantenimiento de la homeostasis cerebral normal y favorecer el riesgo de hemorragia intracraneal. Estos efectos son mínimos en los inhibidores directos de la trombina como el dabigatrán, siendo su uso más adecuado en el tratamiento de la EA.
- El tratamiento oral a largo plazo con dabigatrán previene la deposición de fibrina en el cerebro de la EA, disminuyendo la patología amiloide y la neuroinflamación y preservando la integridad de la BHE y la perfusión sanguínea central.
- Dado que el aumento de formación de coágulos en la EA es un proceso crónico, es posible que el tratamiento a largo plazo con dabigatrán sea suficiente para producir un efecto terapéutico en la EA.
- Son necesarios más estudios en animales así como en pacientes con EA para que desde una aproximación traslacional se mejore el conocimiento sobre los mecanismos implicados y el potencial terapéutico del dabigatrán como posible nuevo tratamiento de la EA.

## 8. ANEXO: ABREVIATURAS

<b>ABREVIATURA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
<b>EA</b>	Enfermedad del Alzheimer
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ApoE</b>	Apolipoproteína Épsilon
<b>A<math>\beta</math></b>	Beta-amiloide
<b>PSEN</b>	Presenilina
<b>APP</b>	Proteína Precursora Amiloide
<b>MMSE</b>	Mini-Mental State Examination
<b>MoCA</b>	Evaluación Cognitiva de Montreal
<b>TSH</b>	Hormona Estimulante de la Tiroides
<b>T4</b>	Tiroxina Libre
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética
<b>TAC</b>	Tomografía Axial Computerizada
<b>TEP</b>	Tomografía por Emisión de Positrones
<b>IACE</b>	Inhibidores de la Acetilcolinesterasa
<b>ACE</b>	Acetilcolinesterasa
<b>BuCE</b>	Butilcolinesterasa
<b>ISRS</b>	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina
<b>NMDA</b>	Ácido N-metil D-Áspártico
<b>PARs</b>	Receptores Activados por Proteasa
<b>BHE</b>	Barrera Hematoencefálica
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervioso Periférico
<b>DeCs</b>	Descriptores en Ciencias de la Salud
<b>MeSH</b>	Medical Subject Headings
<b>GGC</b>	Gamma-Glutamil Carboxilasa
<b>CST</b>	Cerebrósido sulfotransferasa
<b>GFAP</b>	Proteína Ácida Fibrilar Glial
<b>CNIC</b>	Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares

<b>WT</b>	Wild-Type
<b>ASL</b>	Marcado arterial de Espín (Arterial Spin Labelling)
<b>FSC</b>	Flujo Sanguíneo Cerebral
<b>IRM</b>	Imagen por Resonancia Magnética
<b>WB</b>	Western-Blot
<b>AQP4</b>	Aquaporina 4
<b>PDGFR<math>\beta</math></b>	Receptor del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas
<b>ACC</b>	Angiopatía Amiloide Cerebral

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Kumar A, Sidhu J, Goyal A, Tsao JW. *Alzheimer Disease*. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020
2. Polis B, Samson AO. *A New Perspective on Alzheimer's Disease as a Brain Expression of a Complex Metabolic Disorder*. En: Wisniewski T, editor. *Alzheimer's Disease* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2019
3. Wolk, DA, Dickerson, BC. *Clinical features and diagnosis of Alzheimer disease*. UpToDate. 2015.
4. Datos y cifras [Internet]. *Alzheimer's Disease and Dementia*. Disponible en: <https://alz.org/alzheimer-demencia/datos-y-cifras>
5. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, Strooper B de, Frisoni GB, Salloway S, et al. *Alzheimer's disease*. *The Lancet*. 30 de julio de 2016;388(10043):505-17.
6. Mario ÁS, Ivonne P, Arnoldo PS, Marilet ÁS, Lázaro Á. *Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer*. :6.
7. *Pautas para su diagnóstico* - Fundación Alzheimer España [Internet]. Disponible en: <http://www.alzfae.org/fundacion/153/pautas-diagnostico>
8. Larson E. *Evaluation of cognitive impairment and dementia*. UpToDate.
9. Korolev IO. *Alzheimer's Disease: A Clinical and Basic Science Review*. 2014;04:10.
10. Laura Tuneu, M.R., Montse Sardans, Elisa Paredes, Ana Gaona, *Guía de seguimiento farmacoterapéutico de los pacientes con Alzheimer*. 2018.
11. Jordán J, Abizanda P, Galindo MF, Flórez J. *Farmacología de las demencias y las conductas anormales*. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla Á.

- Farmacología humana*. 6a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2014. 568-572.
12. *Acetilcolina (neurotransmisor): qué es, funciones y características* [Internet]. Disponible en: <https://medicoplus.com/neurologia/acetilcolina>
  13. Cruz Jentoft AJ, Hernández B. *Manejo terapéutico con rivastigmina en pacientes con enfermedad de Alzheimer de leve a moderadamente grave en condiciones de práctica clínica habitual*. Estudio Enterprise. Neurología. 1 de enero de 2014;**29**(1):1-10.
  14. López Farré A, Macaya C. *Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición*. Rev Esp Cardiol. 2 de enero de 2013;**13**:2-7.
  15. Iannucci J, Renehan W, Grammas P. *Thrombin, a Mediator of Coagulation, Inflammation, and Neurotoxicity at the Neurovascular Interface: Implications for Alzheimer's Disease*. Front Neurosci [Internet]. 24 de julio de 2020.
  16. Kalz J, ten Cate H, Spronk HMH. *Thrombin generation and atherosclerosis*. J Thromb Thrombolysis. 1 de enero de 2014;**37**(1):45-55.
  17. *Estrés oxidativo* [Internet]. Sanitas. Disponible en: <http://www.sanitas.es/sanitas/seguros/es/particulares/biblioteca-de-salud/estilo-vida/estres-oxidativo.html>
  18. Grammas P, Martinez JM. *Targeting thrombin: an inflammatory neurotoxin in Alzheimer's disease*. J Alzheimers Dis JAD. 2014;**42** Suppl 4:S537-544.
  19. Sharma M. *Preventing Alzheimer's Disease: Some Light in the Darkness*. J Am Coll Cardiol. 15 de octubre de 2019;**74**(15):1924-5.
  20. Rami BK. *Direct Thrombin Inhibitors' Potential Efficacy in Alzheimer's Disease*: Am J Alzheimers Dis Dementias®. 9 de noviembre de 2012
  21. Marangoni MN, Braun D, Situ A, Moyano AL, Kalinin S, Polak P, et al. *Differential effects on glial activation by a direct versus an indirect thrombin inhibitor*. J Neuroimmunol. 15 de agosto de 2016;**297**:159-68.
  22. Cortes-Canteli M, Kruyer A, Fernandez-Nueda I, Marcos-Diaz A, Ceron C, Richards AT, et al. *Long-term dabigatran treatment delays Alzheimer's disease pathogenesis in the TgCRND8 mouse model*. J Am Coll Cardiol. 15 de octubre de 2019;**74**(15):1910-23.
  23. *Modelos experimentales de la Enfermedad de Alzheimer*. NeuroWikia [Internet]. Disponible en: <http://www.neurowikia.es/content/modelos-experimentales-de-la-enfermedad-de-alzheimer>
  24. Navarrete F, Pérez-Ortiz JM, Femenía T, García-Gutiérrez MS, García-Payá ME, Leiva-Santana C, et al. *Methods to evaluate cognitive disorders in animal models*. Rev Neurol. 1 de agosto de 2008;**47**(3):137-45.
  25. *Neuroimágenes en trastornos neurológicos*. Harrison. Principios de Medicina

Interna, 19e. AccessMedicina. McGraw-Hill Medical [Internet]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1717&sectionid=114941244#1137946447>

26. Western Blot. NHGRI [Internet]. Genome.gov.
27. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. *Astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas (I): función y caracterización molecular*. Neurología. 1 de marzo de 2015;**30**(2):119-29.
28. *Guía de controles de carga*. Abcam [Internet]. Disponible en: <https://www.abcam.com/primary-antibodies/loading-control-guide-4>
29. Técnicas Histológicas. 5. *Tinción. Inmunocitoquímica*. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-inmuno.php>
30. ClinicalTrials.gov [Internet]. Grammas P. (PhD): National Library of Medicine (US). 2000 Feb 29 -. Identifier NCT03752294, A Novel Therapeutic Target for Alzheimer's Disease in Men and Women 50-85 Years of Age; [about 4 screens].
31. Ihara M, Saito S. *Drug Repositioning for Alzheimer's Disease: Finding Hidden Clues in Old Drugs*. J Alzheimers Dis. 1 de enero de 2020;**74**(4):1013-28.
32. Ballard C, Aarsland D, Cummings J, O'Brien J, Mills R, Molinuevo JL, et al. *Drug repositioning and repurposing for Alzheimer disease*. Nat Rev Neurol. diciembre de 2020;**16**(12):661-73.