



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

“El Alzheimer como enfermedad priónica”

Autor: Rolo Téllez, Marta

Tutor: Oset Gasque, María Jesús

Convocatoria: Febrero 2018

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
2.1 Enfermedad de Alzheimer	3
2.2 Bioquímica en la EA.....	4
2.3 Proteínas priónicas	6
3. OBJETIVOS Y MÉTODOS	8
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4.1 Evidencias de β -amiloide actuando como una proteína priónica.....	10
4.2 Evidencias de tau actuando como una proteína priónica	12
4.3 Papel de la microglía y astrocitos en la Enfermedad de Alzheimer	16
4.4 Papel de los exosomas en la transmisión de Tau y β -A en la EA.....	17
5. CONCLUSIONES.....	18
6. BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. RESUMEN

La Enfermedad de Alzheimer es el tipo de demencia más frecuente en la edad avanzada y una de las enfermedades que más preocupación social tiene, por lo que implica tanto para el paciente, como para sus familiares y personas que le rodean. Es, a pesar de ser una de las enfermedades más estudiadas e investigadas, todavía una enfermedad en parte desconocida, debido a la gran complejidad de los mecanismos que en primer lugar llevan a su aparición y posteriormente a su desarrollo.

En los últimos años se ha empezado a prestar especial atención al carácter priónico que pueda tener la enfermedad y el objetivo de este trabajo es analizar las evidencias que hasta la fecha se han ido encontrando sobre este aspecto, ya que podría dar explicación a muchos de los procesos que tienen lugar durante el curso de la enfermedad, así como ayudar a desentrañar sus mecanismos y de esta forma poner un poco de luz sobre las nuevas perspectivas terapéuticas, ya que en la actualidad las terapias se enfocan en el retraso en la aparición de los síntomas, pero no se ha conseguido una terapia que paralice por completo o revierta el desarrollo de la enfermedad.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

2.1 -Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (EA) se sitúa como la principal causa de demencia en la madurez, suponiendo la pérdida irreversible de las capacidades intelectuales, cognitivas, funcionales y de conducta, conduciendo finalmente al paciente a un cuadro de dependencia total que conlleva finalmente a la muerte (1). En España se calcula que aproximadamente 500.000 personas sufren EA, aumentando la prevalencia con la edad hasta situarse en un 40% en personas mayores de 85 años (1). La EA está considerada como enfermedad de causa multifactorial, siendo el principal factor de riesgo la edad, aunque los datos de incidencia señalan que ésta es mayor en el sexo femenino (2). En cuanto a la población mundial, cifras calculadas en el año 2005 estimaban que 24 millones de personas padecían algún tipo de demencia y la cifra de casos nuevos cada año ascendía a los 4-6 millones, situando la EA como representación del 60-70% de todas las demencias (3).

Se pueden diferenciar 2 tipos de EA (4):

-Forma familiar: asociada a mutaciones de genes específicos, como pueden ser genes asociados con la proteína precursora de amiloide (APP), y los asociados a las presenilinas 1 y 2 y la presencia del alelo E4 de la apolipoproteína E (ApoE). Aparece en franjas de edad jóvenes (30-50 años) y se corresponde con un porcentaje muy bajo del total de los casos.

-Forma esporádica: aparece en la vejez y supone la mayor parte de los casos.

2.2 -Bioquímica en la EA

En la EA nos encontramos como característica principal de la enfermedad a nivel de tejidos y a nivel molecular una acumulación anómala y excesiva de agregados extracelulares e intracelulares. Los agregados extracelulares se conocen como placas neuríticas o seniles y están formados por la acumulación de la proteína β -amiloide. Los acúmulos intracelulares, también denominados nudos u ovillos neurofibrilares están formados por proteína Tau hiperfosforilada (5). En la EA por lo tanto podemos diferenciar dos cascadas o hipótesis que explicarían los mecanismos por los cuales se da lugar a esta enfermedad (6):

-Cascada amiloide [7] [8]: La proteína β -amiloide ($A\beta$) proviene del procesamiento proteolítico del APP (proteína precursora de amiloide). El catabolismo del APP puede dar lugar a dos péptidos, de 40 y 42 aminoácidos respectivamente, siendo el β_{42} la forma más tóxica y la que se encuentra mayoritariamente en las placas seniles (acúmulos extracelulares). Se conocen dos rutas proteolíticas por las cuales se puede procesar el APP, una ruta amiloidogénica y otra no amiloidogénica, siendo esta primera la que produce el péptido tóxico β_{42} . El APP es una proteína transmembrana con una región extracelular de gran tamaño, un único dominio transmembrana y un dominio intracelular pequeño. El procesamiento del APP (Figura 1) por la ruta amiloidogénica se lleva a cabo por la enzima β -secretasa o BACE-1 que libera un fragmento que es soluble y contiene la mayor parte del dominio extracelular, dejando en la membrana el fragmento C-terminal, donde actúa la γ -secretasa formando el péptido β -amiloide que es el conformante de las placas seniles. Al ser el $A\beta$ una proteína extracelular, el objetivo será estudiar su propagación de una región a otra del cerebro.

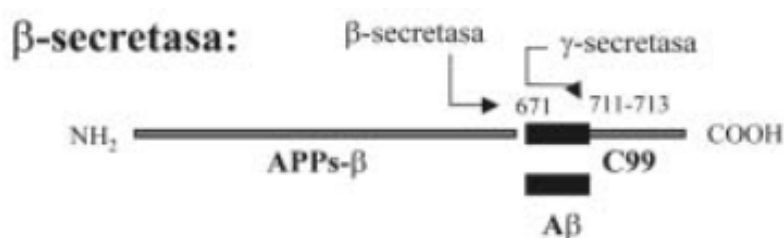


Figura 1: Lugares de corte de las secretasas en la vía amiloidogénica

-Cascada de la proteína tau [7], (7), (8), (9) : Tau es la proteína asociada a microtúbulos encargada del mantenimiento del citoesqueleto axonal y permitiendo el transporte axonal de proteínas vesículas y otras sustancias. Es la que da lugar a los ovillos neurofibrilares (intracelulares) cuando se encuentra en estado hiperfosforilado y anormalmente plegada, adoptando conformación de lámina β , formando filamentos helicoidales pareados que juntos conforman el ovillo. Tras la

muerte de las células con ovillos, éstos permanecen en el espacio extracelular y se convierten en ovillos fantasma. Al no poder unirse Tau a los microtúbulos cuando se encuentra en el estado anormal que tiene lugar en la EA, se produce la desestabilización de los mismos lo que a la larga conduciría a la muerte neuronal. En el cerebro humano adulto se expresan 6 isoformas diferentes de tau en función del procesamiento del mRNA de un mismo gen, el gen MAPT, localizado en el cromosoma 17. En la EA las isoformas que predominan y que forman los agregados de la proteína que conforman los ovillos neurofibrilares son las que tienen 3 y 4 repeticiones del dominio de unión al microtúbulo. Tau hiperfosforilada es incapaz de unirse a los microtúbulos, por lo que la hiperfosforilación provoca la disociación de tau de los microtúbulos, lo que conduce a su agregación en los ovillos neurofibrilares. Tau es susceptible de ser fosforilada por varias quinasas de entre las cuáles las más importantes son GSK3 y CDK5. Hoy se conoce que ambas son susceptibles de activación por parte de $A\beta$, lo que podría suponer un punto de unión entre las dos hipótesis.

La primera parte del cerebro que aparece dañada en el desarrollo de la enfermedad es la corteza entorrinal, en los estadios más tempranos (asintomáticos). En segundo lugar aparecen afectados el hipocampo y las zonas límbicas (comienzo del deterioro cognitivo) y por último se ve dañada la neocorteza (deterioro grave y demencia severa) (Figuras 2 y 3) (10,11).

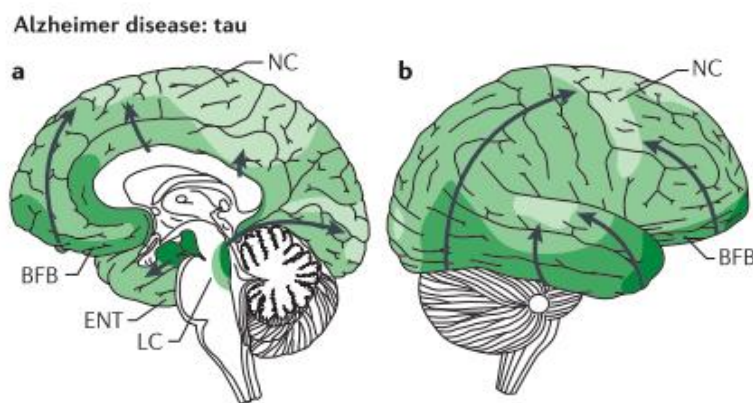


Figura 2. Progresión de la proteína tau en el cerebro humano a lo largo del desarrollo de la enfermedad. *En la EA los primeros agregados de proteína tau se forman en el locus coeruleus, desde donde pasan a la corteza transentorrinal y entorrinal, posteriormente pasan a encontrarse en el hipocampo y sistema límbico y por último en áreas de la neocorteza.*

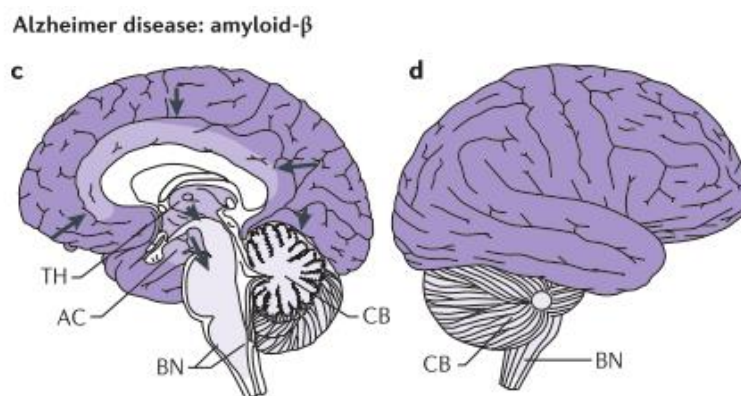


Figura 3. Progresión del péptido A β en el cerebro humano a lo largo del desarrollo de la enfermedad

Al contrario que en el caso de la proteína tau, los primeros depósitos de A β se encuentran en la neocorteza y después pasan a encontrarse en las estructuras de ganglios allocorticales, diencefálicos y basales.

Esta progresión de la enfermedad hacia diferentes partes del cerebro con el paso del tiempo sugiere que es necesaria la existencia de mecanismos de transmisión y de propagación de las sustancias patológicas (proteínas agregadas) y por lo tanto obliga a explicar en primer lugar estos mecanismos de propagación, y en segundo lugar, una vez que las sustancias patológicas han sido propagadas a otras regiones cerebrales, es necesario explicar los mecanismos por los cuáles estas sustancias patológicas “antiguas” son capaces de inducir la enfermedad convirtiendo en patológicas las proteínas nativas que se encuentran en estas regiones del cerebro. Al ser tau una proteína intracelular, el objetivo será estudiar su propagación de neurona a neurona.

En las últimas décadas se ha producido una nueva ola que arrastra evidencias de la similitud entre la EA y las enfermedades priónicas clásicas en cuanto a su bioquímica y biología molecular. Los datos indican que los oligómeros tóxicos que se forman tras el mal plegamiento de las proteínas tau y A β son capaces de propagarse por todo el cerebro de neurona en neurona por un mecanismo muy similar al que tiene la proteína priónica mal plegada (PrP) en las enfermedades priónicas clásicas (11).

2.3 -Proteínas priónicas

Los priones son proteínas infecciosas, con la conformación de lámina β , que son capaces de propagarse al convertir a la proteína priónica nativa en aberrante a través de un proceso de polimerización (12). En situaciones fisiológicas, la proteína priónica tiene funciones como regulación del ritmo circadiano y protección frente al estrés oxidativo (13).

La proteína priónica puede encontrarse únicamente en dos formas: proteína priónica celular normal (PrP^C) y la isoforma patológica PrP^{Sc}. Entre estas dos isoformas no hay diferencias en cuanto a su secuencia, sino que lo que las diferencia es su diferente estado de plegamiento, lo que las hace diferenciarse en propiedades como solubilidad, resistencia a proteasas e infectividad. En cuanto a

los diferentes estados de plegamiento, la forma más infectiva ha resultado ser la forma de oligómero (equivalente a 14-28 monómeros de PrP), más que las conformaciones de protofibrilla y fibrilla. PrP^C es una proteína localizada en la membrana celular que parece que puede jugar un papel relevante en procesos de adherencia celular y regulación iónica a nivel de la membrana celular, así como ejercer cierto papel neuroprotector. En los últimos estudios parece que puede cumplir cierta función como receptor de los oligómeros solubles del A β (14).

Cuando PrP^{Sc} entra en contacto con PrP^C comienza un proceso de cambio conformacional que tiene como resultado la conversión de PrP^C a PrP^{Sc}. De esta forma, el cambio de conformación a PrP^{Sc} se va “comunicando” a las PrP^C nativas. De forma que podríamos decir que PrP^{Sc} actúa como una especie de “semilla” o “chispa” que desencadena la propagación de la enfermedad a todo el cerebro. De forma similar a EA, las enfermedades priónicas aparecen de forma espontánea a partir de una proteína nativa que se convierte en patológica o debido a mutaciones heredadas en la proteína en cuestión (15). Aunque los mecanismos exactos y los lugares donde tiene lugar el cambio de PrP^C a PrP^{Sc} por inducción de ésta última todavía se desconocen (16).

Para que pueda producirse la propagación de PrP^{Sc} a otras partes del cerebro es necesario que ésta tenga acceso a las neuronas sanas de alguna forma para poder infectarlas. Son varias las hipótesis que se barajan en cuanto a estos mecanismos de transmisión y son en líneas generales las mismas que se contemplan para la propagación en la EA (Figura 5). Una de las posibles opciones es que PrP^{Sc} sea capaz de acceder a las neuronas a través de la sinapsis. Otra opción sería que PrP^{Sc} fuera capaz de ser liberada al espacio extracelular y posteriormente ser captada por la neurona adyacente mediante procesos de exo- y endocitosis. Se ha visto que en cultivos celulares primarios murinos de neuronas, PrP fibrilar incorporada en lisosomas/endosomas es captada de forma espontánea por las neuronas. Esto propone que los agregados de PrP podrían transferirse en cultivos celulares a través de exosomas, o nanotubos formados en la membrana celular, lo que sugiere que podría ocurrir de forma similar in vivo (17).

Es importante también recalcar las dos principales diferencias entre las enfermedades priónicas y enfermedades neurodegenerativas como la EA. En primer lugar, la EA no es una enfermedad transmisible entre individuos como sí ocurre en las enfermedades priónicas y en segundo lugar, la mayoría de las prionopatías tienen una progresión relativamente rápida, de entre 4 y 6 meses mientras que el curso de avance de la EA tiene una duración de años. Además PrP es una proteína transmembrana que en teoría facilitaría los procesos de transmisión mientras que tau es una proteína intracelular, aunque como ya hemos visto puede tener varias localizaciones (17). Además y en contraposición con las enfermedades priónicas, la administración de extractos cerebrales de

pacientes con EA por vías oral, intravenosa, intraocular o intranasal no inducía el desarrollo de la enfermedad (12).

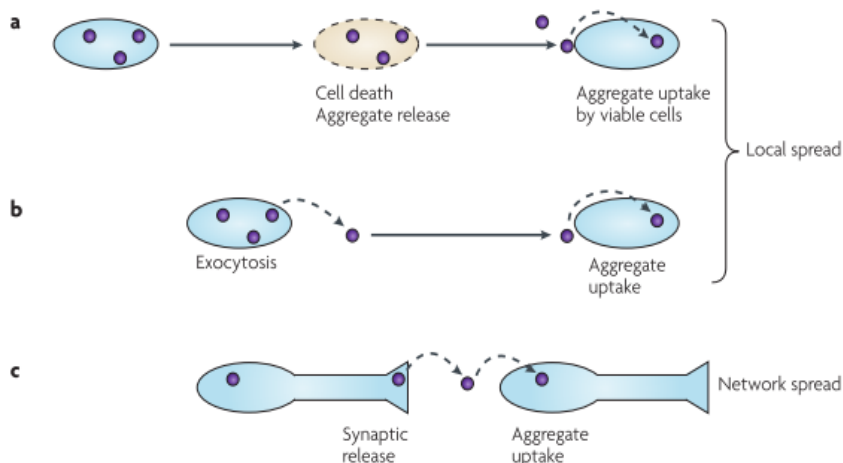


Figura 5. Posibles mecanismos de propagación trans-celular de proteínas mal plegadas. a) Los agregados de proteínas son liberados al espacio extracelular con la muerte de la neurona y captados por la siguiente promoviendo la conversión de las proteínas nativas de la misma. b) los agregados proteicos podrían ser liberados por exocitosis o a través de exosomas convirtiéndose en agregados extracelulares que podrían ser captados por las neuronas adyacentes de igual forma que en el caso de a. c) las proteínas aberrantes podrían transferirse de una neurona a la siguiente a través de la sinapsis.

3. OBJETIVOS Y MÉTODOS

Realizar una revisión bibliográfica de las evidencias existentes sobre el carácter priónico de la Enfermedad de Alzheimer, en cuanto a comportamientos de infección y transmisibilidad dentro de un mismo individuo, así como analizar los posibles nuevos enfoques terapéuticos que aparecen a la luz de estos nuevos mecanismos en la enfermedad.

Para ello se realizó una búsqueda sistemática con el fin de localizar distintos textos ya fueran artículos, revisiones bibliográficas, tesis, etc. sobre el tema del presente trabajo. Se acudió a diferentes bases de datos como PubMed o ALZFOURM, a distintas editoriales como Elsevier y a buscadores especializados como Google Académico.

Algunas de las palabras clave que se utilizaron en la búsqueda fueron: “alzheimer’s disease”, “protein aggregation”, “prion”, “prion-like mechanism”, “tau spreading”, “ β -amyloid spreading”, “exosomes”, “astrocytes”, “protein spreading”.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En síntesis, el concepto que podría resumir este trabajo es que las proteínas principalmente relacionadas con la EA, tau y $A\beta$, se comportan como proteínas priónicas, siendo transformadas desde su conformación normal a una conformación patológica fibrilar o multimérica que se comporta (de manera similar a los priones) como semilla y molde para el incorrecto plegamiento de

la tau y A β nativos presentes en el cerebro, siendo capaces de viajar y diseminar la enfermedad por distintas regiones cerebrales (10).

En primer lugar, es necesario analizar los aspectos o características que una proteína mal plegada, como es el caso de las proteínas implicadas en la EA, debe cumplir para poder ejercer el papel de agente infeccioso y diseminar la enfermedad. Estas características están basadas en los mecanismos que tiene la proteína priónica PrP^{Sc} para llevar a cabo su patogenicidad, dado que estamos suponiendo que en la EA las proteínas aberrantes se comportan de la misma forma. Se pueden recalcar 4 características (14):

1). La proteína debe encontrarse en su forma aberrante, es decir, en su conformación patológica para poder autopropagarse.

2). Deben existir mecanismos por los cuales la proteína aberrante sea capaz de pasar desapercibida para los sistemas de control de calidad de la célula, que o bien intentarían revertir la situación y devolver su conformación activa a la proteína (mediante la actuación de chaperonas) o bien iniciarían las rutas necesarias para degradar a la proteína (ubiquitinación).

3). En tercer lugar, al igual que el resto de proteínas que sí son funcionales, las proteínas priónicas y las que asemejan su comportamiento deben encontrarse en los lugares en los que pueden ejercer sus funciones.

4). Por último, al igual que en el caso de la proteína priónica, las proteínas aberrantes en la EA deben ser capaces de provocar cambios fenotípicos, lo que queda puesto en evidencia con el proceso neurodegenerativo. Quedan todavía por estudiar los mecanismos exactos por los cuales las proteínas aberrantes son capaces de producir neurodegeneración.

Aunque anteriormente hemos tratado las vías de A β y tau por separado, en este capítulo veremos cómo están conectadas en más de un aspecto y como ambas rutas se ven influenciadas por la otra. De esta forma podremos entender mejor los mecanismos por los cuales se produce la enfermedad y también cómo la propagación de la enfermedad no depende solo de una de ellas.

Estudios de imágenes de pacientes con EA muestran que los cambios neurodegenerativos que tienen lugar en las distintas regiones del cerebro están de alguna manera relacionados con la fuerza de las conexiones neuronales de dicha región. Lo que pone de manifiesto que no todas las regiones cerebrales ofrecen la misma vulnerabilidad para sufrir la patología. Además, se ha visto que todas las regiones cerebrales y los distintos tipos de células neuronales implicados en la enfermedad se encuentran interconectados anatómicamente, bien sea por contacto físico, transmisión sináptica o contacto axonal. Esto último puede resultar interesante ya que por ejemplo, también se ha visto que

tanto la tau humana mutante como la tau nativa son susceptibles de ser transportadas a lo largo del axón tanto de forma anterógrada como retrógrada (10).

4.1 -Evidencias de β -amiloide actuando como una proteína priónica

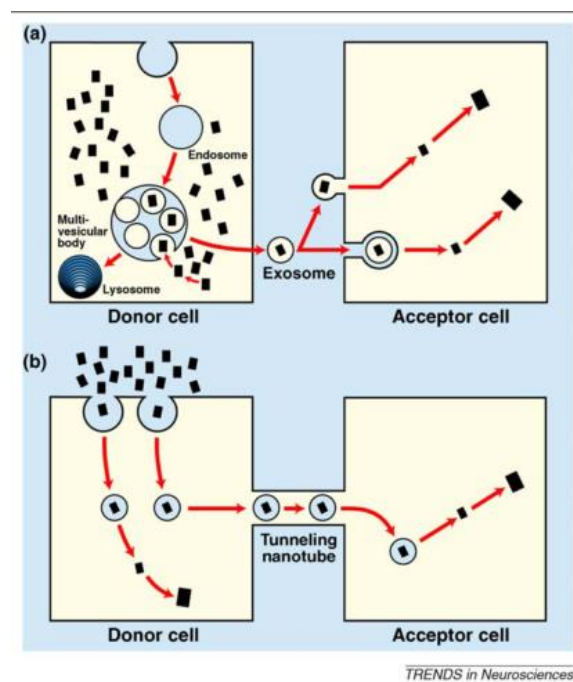
En primer lugar cabe resaltar que son las formas oligoméricas solubles de $A\beta_{42}$ las que se consideran actualmente las formas más tóxicas y de hecho se ha observado que son las que mejor se correlacionan con el déficit cognitivo y la disfunción sináptica (5). Además se han recogido evidencias suficientes (18) como para asociar que el $A\beta$ es el desencadenante de las lesiones patológicas producidas por tau. $A\beta_{42}$ interacciona con canales de Ca^{+} específicos provocando su apertura y por lo tanto una entrada masiva de Ca^{+} al interior celular, lo que bloquea la sinapsis y provoca la muerte de la neurona. En paralelo a esto, el aumento de los niveles de Ca^{+} intracelular produce la hiperactivación de las kinasas encargadas de fosforilar a la proteína tau, lo que siguiendo la cadena de sucesos, se desensambla de los microtúbulos provocando la desestabilización de los mismos y el bloqueo en la conducción axonal.

Centrándonos un poco más en el carácter priónico del péptido, usando $A\beta$ sintético se ha podido observar que al añadir fibrillas ya preformadas a una solución monomérica se aceleraba considerablemente el proceso de agregación de los monómeros, actuando el $A\beta$ sintético como “semilla” para iniciar y potenciar el proceso. También se dedujo que la agregación sigue un curso de crecimiento estable al comienzo del proceso, hasta obtener un núcleo de agregación estable a partir del cual el proceso se acelera de forma exponencial (11,16). Además, se observó que la exposición de $A\beta$ monomérico a una alícuota específica de $A\beta$ oligomérico desencadena un proceso de polimerización que culmina con la agregación de la forma monomérica en formas oligoméricas del mismo tamaño e inmunorreactividad que la utilizada como “semilla”.

La utilización de modelos de ratones no es completamente representativa para el estudio de la EA, pero al poder obtener líneas transgénicas con mutaciones puntuales permite un estudio más directo sobre aspectos particulares de la enfermedad. La línea de ratones transgénicos APP23 tiene la mutación APP_{SWE} que favorece la aparición de depósitos de $A\beta$ en parénquima y vasos. La línea APPPS1 tiene el transgen mutado de la presenilina 1 que acelera la patología amiloide (19). Se ha visto que la inyección de extracto cerebral de pacientes con EA en cerebros de ratones transgénicos para la APP mutante humana favorecía la agregación y acumulación de $A\beta$ en placas seniles. Las líneas APP23 sobre producen principalmente el péptido $A\beta_{40}$, con lo que se obtenían placas difusas y depósitos filamentosos escasos en ratones de edad avanzada. En cambio, la línea APPPS1 sí producía el péptido $A\beta_{42}$, con lo que se obtenían placas compactas y abundantes. La inyección de extracto cerebral de un ratón APPPS1 anciano en el cerebro de un ratón APP23 joven inducía

rápida la formación de placas seniles de A β . Mientras que en el caso contrario se obtenían una mezcla de placas difusas por un lado y compactas por otro. Al usar únicamente dos ratones APP23 se obtenían solamente placas difusas y filamentosas, mientras que al usar dos ratones APPS1 se obtenían invariablemente placas compactas y abundantes, lo que tomado en conjunto sugiere la existencia de cadenas de A β con diferentes polimorfismos y consecuentemente diferente toxicidad y capacidad de transmisión (12). En cultivos de células nerviosas se ha observado que el A β es captado por las células introducido en endosomas/lisosomas y una vez dentro de las células, los agregados de A β son capaces de inducir la agregación de los filamentos intracelulares. Y se ha demostrado recientemente la transferencia de oligómeros de A β célula-célula en cultivos de neuronas (Figura 6) (11,20).

Figura 6. Posibles mecanismos de transferencia célula-célula de proteínas aberrantes. Estudios han puesto de



manifiesto que los priones pueden transferirse en cultivos de células de una célula a otra mediante exosomas y mediante nanotubos interconectados entre las células. Se ha observado que el A β puede ser excretado de la célula vía exocítica, ya que la vía amiloidogénica en el procesamiento del APP da lugar a péptidos de A β que se generan en endosomas jóvenes, que luego formarán cuerpos multivesiculares. En el caso de los nanotubos, partículas internalizadas en endosomas podrían viajar hasta una célula conectada a la célula donadora mediante nanotubos.

Volviendo a la relación entre A β y tau, se ha visto que en ausencia de cualquier otra proteína o péptido, A β es capaz de unirse a tau y de esta forma se ha observado *in vitro* que los monómeros de tau pueden verse inducidos a oligomerización después de haber estado expuestos a oligómeros de A β . Queda todavía por demostrar si este mecanismo es reproducible *in vivo* y de esta forma los oligómeros de A β podrían actuar en primer lugar como “semillas” para la agregación de la proteína tau, que posteriormente llevaría a cabo su auto-propagación (11). Además, con la inyección de extracto cerebral proveniente de ratones APP23 de edad avanzada en cerebros de ratones con la

mutación P301L para tau humana, se observó que se veía notablemente potenciada la formación de depósitos de tau (12).

4.2 -Evidencias de tau actuando como una proteína priónica

Como ya hemos comentado anteriormente, la agregación e hiperfosforilación de tau es temporalmente secundaria a la agregación de A β (6), siendo este proceso de hiperfosforilación un proceso reversible por acción de fosfatasas sobre la proteína tau (21). Las funciones fisiológicas de tau no están todavía del todo esclarecidas aunque se ha comprobado que la eliminación de tau en modelos de ratón no resultaba en cambios fenotípicos significativos, lo que parece indicar que tau no tiene una función crítica en el organismo, aunque sí se observaban cambios en cuanto a la función sináptica y la hiperexcitabilidad neuronal (22). A pesar de que tau es una proteína eminentemente localizada en el axón de las neuronas, también podemos encontrarla tanto en el interior como en el exterior de las neuronas, o en el interior de las dendritas a la vez que interacciona con diferentes dianas (23). Recientemente se ha puesto en evidencia que las verdaderas formas tóxicas de tau no son los ovillos neurofibrilares sino las formas solubles como la oligomérica, siendo también la forma que más fácilmente parece ser captada por las células y también la que es capaz de inducir agregación de la tau nativa (15,21,23). Además de esto, en otro estudio (12) se puso en evidencia que la inyección en el cerebro de tau dividida en dos fracciones, una soluble y otra insoluble reflejaba que era la forma insoluble la que producía agregación y además en este caso no hubo signos de neurodegeneración detectable, lo que sugiere que las especies de tau que producen la toxicidad y la transmisión no son iguales, lo que podría estar relacionado con lo observado en modelos de ratones transgénicos que presentaban signos graves de neurodegeneración pero no abundantes agregados de la proteína. En estudios de cultivos de células neuronales han demostrado además que la tau no fibrilar, es decir en forma monomérica u oligomérica puede ser excretada vía exosomas (10). Sumado a todo esto, se ha estudiado en humanos, que a pesar de que una elevada proporción de personas mayores de 50 años que desarrollan ovillos neurofibrilares y placas seniles, no llegan a desarrollar demencia (22). Estudios similares revelaban a su vez que era la forma de tau soluble (oligomérica) localizada en la sinapsis la responsable de la neurotoxicidad y las alteraciones cognitivas y que la acumulación de formas oligoméricas de tau en personas con déficit cognitivo leve agravaba su condición (23).

Los ovillos neurofibrilares formados por la agregación de la proteína tau hiperfosforilada se encuentran en el citoplasma neuronal y la cantidad de los mismos refleja el grado de severidad de la enfermedad. El exceso de fosforilación de tau bien sea por mutaciones genéticas o bien por desequilibrio entre la actividad de cinasas y fosfatasas da lugar al secuestro de la proteína tau normal y de esta forma se produce el desensamble de los microtúbulos y el deterioro del flujo de sustancias

a lo largo del axón que afecta directamente a la sinapsis, produciéndose además por otro lado la polimerización de la proteína tau hiperfosforilada junto con tau normal que da lugar a los ovillos neurofibrilares (9).

Dentro de las 6 isoformas de tau que podemos encontrar, las diferencias entre todas ellas dependen de si contienen 3 o 4 repeticiones del dominio de unión a microtúbulos, que constan de entre 31 y 32 aminoácidos en el extremo carboxi-terminal y además de si tienen uno o dos insertos en el extremo amino-terminal de 29 aminoácidos cada uno (21,22). En el cerebro humano aproximadamente la mitad de las isoformas que se encuentran de tau son 3R (3 repeticiones del dominio de unión a microtúbulo) y el resto son 4R (22). Se ha observado que son estas regiones de unión al microtúbulo las que conforman la parte funcional de la proteína así como el núcleo patológico de la tau aberrante, siendo además estos dominios los que portan las mutaciones en los casos en los que la enfermedad tiene un origen eminentemente genético (24). Se ha observado que es el balance en la cantidad de estas repeticiones 3R/4R lo que conduce a la degeneración neurofibrilar y a los procesos de demencia, aunque se desconocen los mecanismos exactos. Sí se ha visto que un cambio en el ratio 3R:4R que difiera de 1:1 resulta en una cantidad de tau libre que no se une a microtúbulos y que por lo tanto se encontraría susceptible de ser fosforilada (21).

A raíz de los resultados que se han realizado sobre la proteína tau se ha observado que una vez que la proteína tau nativa, por el estímulo que sea, cambia su conformación, mantendrá esta conformación y será la que propague. Además se ha observado que una vez que tau adopta una conformación fibrilar determinada, esta conformación es la que se propaga en el tiempo mediante reacciones de fibrilación en cadena generadas a partir de las “semillas” de la misma que se van diseminando (24). En un estudio del año 2009 (12,25) utilizaron agregados de tau preparados *in vitro* que luego fueron puestos en el medio extracelular de un cultivo de células no neuronales y observaron que eran internalizados directamente por las células y posteriormente eran capaces de inducir la agregación de la tau intracelular. Al mismo tiempo se observó que los agregados de tau eran capaces de transferirse de unas células a otras dentro del cultivo celular, aunque se desconocen los mecanismos por los cuales un agregado internalizado es capaz de inducir la agregación en la tau citoplasmática. Se han utilizado filamentos hechos *in vitro* que estaban formados solo con las 4 repeticiones del dominio de unión al microtúbulo y se estudió su internalización por endocitosis en las células receptoras, donde indujeron la formación de filamentos de la tau nativa citoplasmática, aunque se desconoce el mecanismo exacto (12,20) pero sí se ha visto que son estas regiones de unión al microtúbulo las que tienen implicación directa con la toxicidad de tau y con los mecanismos de agregación (15). Al igual que en el caso de la proteína priónica, cuando “semillas” de tau mutantes son usadas para provocar la agregación de tau nativa las fibrillas resultantes son muy

similares a las de los agregados de tau mutante y no a la conformación de fibrilla de la tau nativa (17). En cuanto a los mecanismos de diseminación, hay ya bastantes evidencias que indican que la proteína tau intracelular interacciona con elementos de la membrana plasmática y está implicada en procesos de secreción. Estos estudios señalan el dominio N-terminal como principal responsable de este comportamiento, aunque por el contrario, se ha observado que no está implicado en los procesos de internalización de tau en las neuronas vecinas (15).

Un ejemplo del paso de tau patológica de neurona a neurona una vez que tau se encuentra en el medio extracelular es su unión en la neurona receptora a proteoglicanos heparán sulfato que median su incorporación al medio intracelular (Figura 7). Una vez que tau patológica consigue llegar al medio intracelular induce el cambio conformacional y la agregación de la tau existente en la neurona receptora (23). El paso previo sería el mecanismo por el cual los agregados de tau son capaces de alcanzar el medio extracelular. Las opciones (Figura 7) que se contemplan para este paso son que los agregados se liberen una vez que se produce la muerte celular, o bien que sean liberados vía exocitosis. Esta última opción se sostiene más con el hecho de que la propagación de tau en EA se observa en circuitos neuronales que están conectados sinápticamente, aunque podría darse el caso de que hubiera varios mecanismos implicados a la vez (10,25). Se ha estudiado que la tau en forma no fibrilar (formas monomérica u oligomérica) sí es capaz de alcanzar el medio extracelular internalizada en exosomas (10).

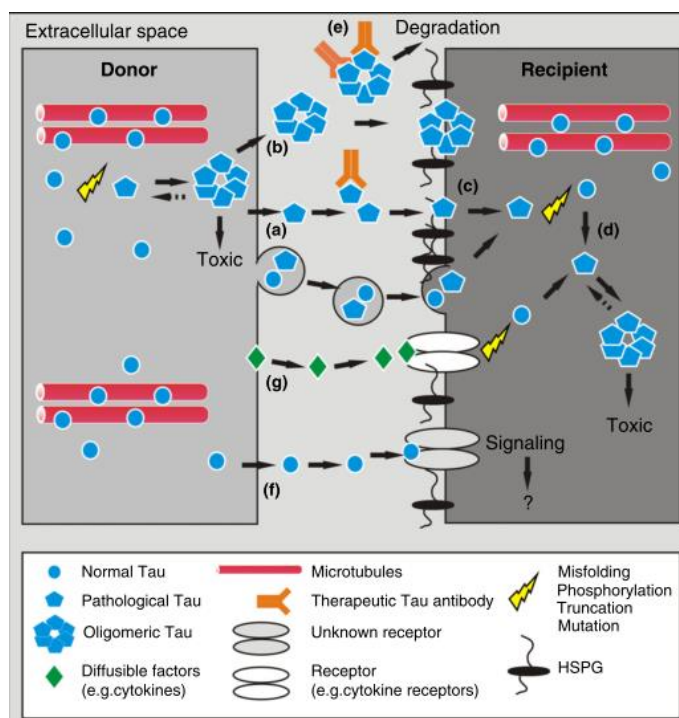


Figura 7. Posibles vías de propagación neurona-neurona. De la misma forma que los agregados son susceptibles de llegar al medio extracelular, también lo son las proteínas patológicas en forma todavía monomérica. De ambas formas, al llegar a la célula receptora, son capaces de inducir la patología a las proteínas tau allí presentes.

Un estudio realizado en ratones transgénicos que expresaban tau mutante humana, mostró que la inyección de fibrillas preformadas de tau en el cerebro de los ratones provocaba la aparición de agregados de proteína en regiones considerablemente lejanas al lugar de inyección, mientras que no se encontraron formaciones de agregados en el mismo (10). Además se ha visto que en ratones transgénicos que expresaban tau normal humana, la inyección cerebral de agregados de tau mutante podía provocar la agregación de la primera, lo que no ocurría si no se inyectaba la tau patológica (14).

En otro estudio (8,20,26) se han utilizado dos líneas transgénicas de ratón, la línea ALZ17 y P301S para estudiar la capacidad infectiva y propagativa de la proteína tau. La línea ALZ17 es una línea de ratón que solo expresa una isoforma de tau humana nativa y que no presentan ni filamentos ni desarrollan neurodegeneración, mientras que la línea P301S expresa tau mutante y presenta numerosos filamentos de tau hiperfosforilada y desarrollan neurodegeneración (27). En este estudio se inyectaron extractos cerebrales de los ratones P301S en el cerebro de ALZ17, concretamente en el hipocampo y la corteza. Como resultado, los ratones ALZ17 desarrollaron gran cantidad de ovillos neurofibrilares que no solamente aparecieron en los lugares de inyección, sino que se propagaron a otras regiones lejanas del cerebro que estaban de alguna forma conectadas con los lugares de inyección. Además también se inyectó en ratones no transgénicos extractos de oligómeros de tau provenientes de cerebros con EA, obteniendo como resultado la inducción y progresión de agregados de la proteína tau en forma de ovillos neurofibrilares (8) pero no hubo aparición de placas seniles de $A\beta$ (27). Siguiendo con esta última línea de estudio, se inyectaron en ratones no transgénicos inclusiones de extractos de cerebros humanos y los ratones desarrollaron las mismas inclusiones no solo en el lugar de inyección sino también en áreas más lejanas del cerebro. Estas inclusiones fueron positivas con marcaje de anticuerpos específicos de tau de ratón, pero negativos con el marcaje de anticuerpos específicos de tau humana, lo que nos da a entender que no es necesaria una sobreexpresión de tau humana para la formación y propagación de agregados de la proteína, además del hecho de que agregados de tau humana son capaces de inducir la agregación de tau de ratón (27).

Cualquiera que sea la hipótesis que se esté teniendo en cuenta, lo que parece estar claro es que para que la propagación de tau por el cerebro sea posible (Figura 8), en primer lugar, tau debe poder ser liberada desde el interior de las neuronas, por el mecanismo que sea, bien sea en forma nativa (que formará agregados posteriormente en el espacio extracelular) o en forma de agregados patológicos que se comportarían como semillas diseminadoras de la enfermedad. En segundo lugar, estas “semillas” serían capaces de viajar a distintas partes del cerebro por el líquido intersticial, pudiendo llegar de esta forma a neuronas que se encuentren a relativa distancia del lugar donde comienza la

patología. Una vez que estos agregados patológicos llegan a otras regiones, deben poder ser internalizados (de manera selectiva presumiblemente, ya que hemos visto que no todas las neuronas parecen susceptibles de ser afectadas por la proteína tau) por las neuronas sanas por mecanismos todavía desconocidos pero sujetos a hipótesis. Una vez dentro de las neuronas, estos agregados serían capaces de inducir el plegamiento anormal de la proteína tau presente en dichas neuronas mediante un mecanismo de polimerización de acuerdo al patrón de la tau patológica (16).

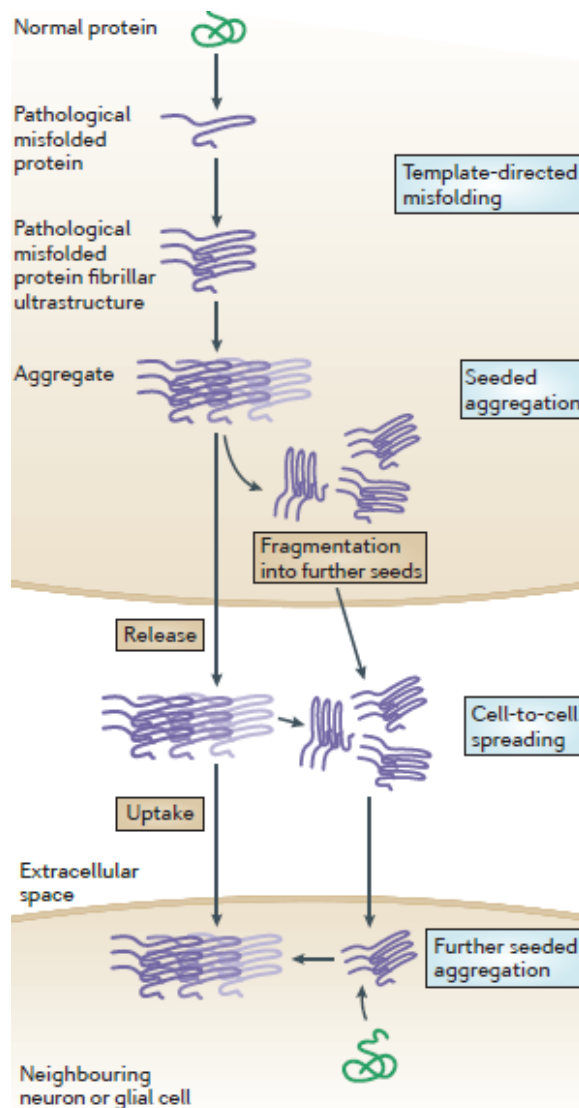


Figura 8. Posible mecanismo de propagación "prion-like" de las proteínas en EA. Este ciclo repetido innumerables veces a lo largo de los años explicaría la formación de la enorme cantidad de ovillos neurofibrilares y posiblemente de placas seniles que encontramos en los cerebros de los pacientes que han padecido la EA.

4.3 -Papel de la microglía y astrocitos en la Enfermedad de Alzheimer

La microglía y los astrocitos conforman un conjunto de poblaciones celulares vecinas de las neuronas. La microglía es una célula con capacidad fagocítica que se encuentra en el sistema

nervioso central y cuyas funciones tienen que ver con la respuesta inmune en los procesos inflamatorios del sistema nervioso. Una vez que se encuentra activada presenta en su superficie numerosos receptores de reconocimiento, siendo los de la familia Toll los más numerosos. La EA, además de los depósitos de tau y A β , se caracteriza por un ambiente de neuroinflamación debido a respuestas inmunes locales y la presencia de microglías y astrocitos activados. Concretamente en la EA la microglía activada se encuentra rodeando las placas seniles ya que el péptido A β es capaz de activar por sí mismo la microglía y los astrocitos a través de los receptores Toll 2, 4 y 9. La activación de la microglía conduce a la proliferación y activación de los astrocitos que son la familia de células gliales más abundante. En condiciones normales la microglía tendría un papel neuroprotector y reparador, pero en la EA contribuye al daño perjudicial, produciendo moléculas neurotóxicas provocando excito-toxicidad y neurodegeneración (glutamato) y actuando como célula presentadora de antígenos (CPA) (28,29). La activación de la microglía en la EA supone un incremento en el número, talla y motilidad de los astrocitos que rodean las placas seniles (que producen un gran número de moléculas proinflamatorias), contribuyendo de esta forma a la inflamación y la neurotoxicidad, lo que acaba produciendo muerte celular, entrando en un círculo vicioso ya que los productos derivados de la muerte celular activan a su vez a la microglía y a los astrocitos. Los astrocitos son células excitables con capacidad de comunicación astrocito-astrocito y astrocito-neurona. Los procesos de comunicación de los astrocitos dependen de la concentración de calcio intracelular, pudiendo deberse estas oscilaciones a cambios intrínsecos o a señales inducidas por transmisores liberados por las neuronas. Se ha visto que los astrocitos tienen un papel muy activo en la sinaptogénesis, siendo este papel de gran importancia tras una lesión del sistema nervioso, donde actúan aumentando el número de sinapsis (29). Además se está estudiando el papel que pueden tener los astrocitos en la inducción de la formación de agregados de A β , ya que se ha visto que la expresión de la β -secretasa también ocurre en las células de la glía (10). Será interesante estudiar si en la EA, las proteínas patológicas no solo se propagan a través de las neuronas, sino si también juegan un papel importante en la propagación la microglía y los astrocitos.

4.4 -Papel de los exosomas en la transmisión de Tau y β -A en la EA

Los exosomas son pequeñas vesículas de origen endocítico que pueden ser liberados por la mayoría de los diferentes tipos celulares. Pueden participar en el transporte de lípidos, proteínas y RNA. Se forman intracelularmente partiendo de la unión de varios endosomas jóvenes (cuerpos multivesiculares) y posteriormente se fusionan con la membrana celular, saliendo al exterior celular y pudiendo ser endocitados por cualquier otra célula vecina (30). En el sistema nervioso central los exosomas pueden provenir de distintos tipos celulares como neuronas, astrocitos, oligodendrocitos

y microglía y se ha visto que los exosomas provenientes de neuronas solo pueden ser internalizados por otras neuronas (31).

Hay dos tipos principales de moléculas que pueden ser transportadas por los exosomas, las moléculas constitutivas que únicamente son transportadas por los exosomas en función del tipo celular del que deriven y las moléculas de carga que pueden estar o no contenidas en los exosomas, como las proteínas, los lípidos y el material genético y cuya presencia o no en el exosoma depende del origen y del equilibrio entre las condiciones fisiológicas y patológicas (31). Hay varias vías posibles para el paso de exosomas de una célula a otra, bien por endocitosis, fagocitosis o por mecanismos de reconocimiento ligando-receptor (32).

Se ha visto que los exosomas derivados de astrocitos están asociados con la formación de las placas seniles y que la supresión farmacológica de la síntesis *in vivo* de exosomas reduce la formación de las placas. Aunque por el contrario se ha visto que el uso de exosomas provenientes de individuos sanos tiene cierto carácter protector sobre la toxicidad producida por el A β (33). Se ha visto que los exosomas pueden exportar A β al espacio extracelular, aunque en un porcentaje muy reducido, lo que de alguna manera podría contribuir a la propagación de la patología, mientras que sí que se ha observado que tanto el APP como las β y γ -secretasas pueden ser transportadas por exosomas, de manera que la molécula propagadora de la patología podría ser este APP y su mal procesamiento en las neuronas receptoras, que conduce a la acumulación de A β , el mecanismo de diseminación de la patología (31).

Por otro lado, también se ha observado que la diseminación de la proteína tau mutante a través de distintas regiones cerebrales dependía en gran medida de la presencia o no de microglía, que a su vez inducía la propagación de tau vía exosomas. Esto se pudo comprobar porque la supresión de microglía, además de la inhibición de la síntesis de exosomas reducía de forma considerable la propagación de la proteína tau tanto *in vitro* como *in vivo* (31).

5. CONCLUSIONES

En la Enfermedad de Alzheimer todavía queda un largo camino por delante de investigación para conseguir esclarecer los mecanismos exactos por los cuales la enfermedad comienza y se desarrolla. Pero junto con todo lo que ya se sabe, parece que el concepto de “carácter priónico” aplicado a la Enfermedad de Alzheimer, ha abierto una nueva puerta que permite comprender mejor estos mecanismos, y que parece concordar bastante con lo que se ha observado de la enfermedad hasta el momento. Es un hecho que en la Enfermedad de Alzheimer, la patología se inicia en unas zonas muy concretas del cerebro y que a partir de ahí se disemina por diferentes regiones, pero siempre interconectadas de forma que, con la hipótesis priónica, hemos visto que al menos *in vitro* sí que

podrían explicarse los mecanismos de propagación de la enfermedad, en cuanto al transporte de las proteínas patológicas se refiere. Por otro lado, también se ha podido observar *in vitro*, que estas proteínas patológicas tan características de la enfermedad son capaces de trasladar su patogenicidad a proteínas sanas nativas, induciendo en estas últimas su conformación patológica.

Por lo tanto, en el futuro el siguiente paso sería intentar demostrar la existencia de estos mismos mecanismos *in vivo*. Y de ser así, dar paso a una nueva línea de tratamientos encaminados bien a paralizar estos mecanismos e impedir así la progresión de la enfermedad, o bien a revertir su curso. Estas nuevas terapias podrían estar basadas en el tratamiento con anticuerpos que tuvieran como diana las proteínas patológicas, o terapias encaminadas a inhibir la expresión de las mismas. Así mismo sería interesante estudiar *in vivo* la participación real que puedan tener los exosomas en la propagación de la enfermedad y encaminar también futuras investigaciones a inhibir o bloquear su expresión.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Merino EN, Sendin MAC, Osorio JAV. Enfermedad de Alzheimer. Med - Programa Form Médica Contin Acreditado [Internet]. 2015;11(72):4306–15. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304541215000037>
- Villar, A. Molinuevo, J.L Gómez-Isla T. Enfermedad de alzheimer. 2011;(1318).
- Ruiz de Sánchez, C. Nariño, D. Muñoz J. de Alzheimer Revisión. 2010;26(3).
- WordPress. Enfermedad de Alzheimer. Clínica de Geriatría [Internet]. 2008;4. Available from: <http://alzheimer.medico-guia.com/tag/enfermedad-de-alzheimer>
- Chen R-J, Chang W-W, Lin Y-C, Cheng P-L, Chen Y-R. Alzheimer's Amyloid- β Oligomers Rescue Cellular Prion Protein Induced Tau Reduction via Fyn Pathways. ACS Chem Neurosci [Internet]. 2013; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23805846>
- Serrano Pedrosa M. Mecanismos bioquímicos de la Enfermedad de Alzheimer: Aproximaciones terapéuticas TRABAJO FIN DE GRADO. Available from: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARCOS PEDROSA SERRANO.pdf>
- M. R von B. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. 2005;43(2):123–32.
- Clavaguera F, Lavenir I, Falcon B, Frank S, Goedert M, Tolnay M. “ Prion-Like ” Templated Misfolding in Tauopathies. 2013;17:342–9.
- De la Fuente-Rocha J. Taupatía en la enfermedad de Alzheimer. 2017;33(4):515–21.
- Brettschneider J, Del Tredici K, Lee VMY, Trojanowski JQ. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: A focus on human studies. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2015;16(2):109–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3887>
- Nussbaum JM, Seward ME, Bloom GS. Alzheimer disease: a tale of two prions. Prion. 2013;7(1):14–9.
- Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M. The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. Trends Neurosci [Internet]. 2010;33(7):317–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2010.04.003>
- Schmitz M, Wulf K, Signore SC, Schulz-Schaeffer WJ, Kermer P, Bähr M, et al. Impact of the cellular prion protein on amyloid- β and 3PO-tau processing. J Alzheimer's Dis. 2014;38(3):551–65.

14. Yi C, Xu W, Chen J, Liang Y. Recent progress in prion and prion-like protein aggregation The Difference between Prion and Other Infectious Pathogens The Structure and Post-translational Modification of Prion Proteins What Makes a Misfolded Protein Become an Infectious Agent ? 2013;520–6.
15. Hall, Garth F. Patuto BA. Is tau ready for admission to the prion club? Dep Biol Sci Univ Massachusetts Lowell; Lowell, MA USA A. 2012;(August):223–33.
16. Walsh DM, Selkoe DJ. A critical appraisal of the pathogenic protein spread hypothesis of neurodegeneration. Nat Rev Neurosci. 2016;17(4):251–60.
17. Frost B, Diamond MI. Prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2010;11(3):155–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2786>
18. Rico MM. Principales hipótesis neurodegenerativas de la Enfermedad de Alzheimer. 2015;
19. Sarasa M. Modelos experimentales de la enfermedad de alzheimer. Rev Neurol. 2006;42(5):297–301.
20. Krammer C, Schätzl HM, Vorberg I. Prion-like propagation of cytosolic protein aggregates. Prion [Internet]. 2009;3(4):206–12. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/pri.3.4.10013>
21. Iqbal K, Gong CX, Liu F. Hyperphosphorylation-induced tau oligomers. Front Neurol. 2013;4 AUG(August):1–9.
22. Holtzman DM, Carrillo MC, Hendrix JA, Bain LJ, Catafau AM, Gault LM, et al. Tau: From research to clinical development. Alzheimer's Dement [Internet]. 2016;12(10):1033–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155252601630019X>
23. Krüger L, Mandelkow EM. Tau neurotoxicity and rescue in animal models of human Tauopathies. Curr Opin Neurobiol. 2016;36:52–8.
24. Frost B, Ollesch J, Wille H, Diamond MI. Conformational diversity of wild-type tau fibrils specified by templated conformation change. J Biol Chem. 2009;284(6):3546–51.
25. Frost B, Jacks RL, Diamond MI. Propagation of Tau misfolding from the outside to the inside of a cell. J Biol Chem. 2009;284(19):12845–52.
26. Soto C. In Vivo Spreading of Tau Pathology. Neuron. 2012;73(4):621–3.
27. Clavaguera F, Akatsu H, Fraser G, Crowther RA, Frank S, Hench J, et al. Brain homogenates from human tauopathies induce tau inclusions in mouse brain. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2013;110(23):9535–40. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1301175110>
28. Lopategui Cabezas I, Herrera Batista A, Pentón Rol G. Papel de la glía en la enfermedad de Alzheimer. Futuras implicaciones terapéuticas. Neurología [Internet]. 2014;29(5):305–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2012.10.006>
29. Guillamón-vivancos T, Gómez-pinedo U, Matías-guiu J. Astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas (I): Neurología. 2015;30(2):119–29.
30. Schneider A, Simons M. Exosomes: Vesicular carriers for intercellular communication in neurodegenerative disorders. Cell Tissue Res. 2013;352(1):33–47.
31. Xiao T, Zhang W, Jiao B, Pan C-Z, Liu X, Shen L. The role of exosomes in the pathogenesis of Alzheimer' disease. Transl Neurodegener. 2017;6(1):3.
32. Tkach M, Théry C. Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go. Cell. 2016;164(6):1226–32.
33. Martins VR, Prado MAM. Prion protein in exosomes: Partnering A β peptides and driving fibrilization. J Neurochem. 2016;137(1):9–11.