La contribución de la hipótesis amiloide a la comprensión de la enfermedad de Alzheimer: una visión crítica

Laura Morelli

Laboratorio de Amiloidosis y Neurodegeneración, Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Contacto: Laura Morelli - lmorelli@leloir.org.ar

Resumen

El depósito del péptido amiloide ? (A?) en el cerebro es una característica prominente de varias enfermedades humanas. Es un proceso heterogéneo en términos de factores causales, fenotipo bioquímico, localización y manifestaciones clínicas. A? se acumula en el parénquima cerebral o dentro de las paredes de los vasos cerebrales, y se asocia con demencia, siendo la más frecuente la enfermedad de Alzheimer (EA), o con accidente cerebro-vascular, tanto en variantes hereditarias como esporádicas de estas patologías. A? es normalmente generado por todas las células y liberado como un péptido soluble, sin embargo, en condiciones patológicas, se auto-agrega en el cerebro formando oligómeros solubles o fibrillas insolubles que pueden ser tóxicos para las neuronas y las células vasculares. En los últimos 20 años la hipótesis de trabajo que dominó el campo de investigación en EA se conoce como "hipótesis de la cascada amiloide". Esta hipótesis postula, en su forma más simplificada, que el depósito de A? en el cerebro es la causa de la enfermedad y que su eliminación revierte la patología. Vamos a resumir en este artículo las bases genéticas de la EA y examinaremos la valides de la "hipótesis de la cascada amiloide" en la patogénesis de EA. También vamos a poner en perspectiva la utilización de la "hipótesis de la cascada amiloide" para el diseño de agentes terapéuticos racionales para la EA.

Palabras clave: Amiloides, Alzheimer, Demencia, Genética, Terapia

Summary

The deposition of ? amyloid peptide (A?) in the brain is a prominent feature of many human diseases. It is a heterogeneous process in terms of causal factors, biochemical phenotype, location and clinical manifestations. A? accumulates in the brain parenchyma or within the walls of cerebral vessels, and is associated with dementia, the most frequent one is known as Alzheimer´s disease (AD), or stroke, in both hereditary and sporadic variants of these pathologies. A? is normally generated by all cells and released as a soluble peptide, however, in pathological conditions, it self-aggregates in the brain forming soluble oligomers or insoluble fibrils which may be toxic to neurons and vascular cells. In the past 20 years the working hypothesis that dominated the field of research in AD is known as "amyloid cascade

hypothesis". This hypothesis postulates, in its simplest form, that the deposition of A? in the brain is the cause of disease and its elimination reverses the pathology. In this article we will summarize the genetic basis of AD and examine the validity of the "amyloid cascade hypothesis" in the pathogenesis of AD. We will also put into perspective the use of the "amyloid cascade hypothesis" for the rational design of therapeutic agents for AD.

Keywords: : Amyloids, Alzheimer, Dementia, Genetic, Therapy

Diversas enfermedades complejas están asociadas al plegamiento anormal de proteínas, dentro de las que se incluyen enfermedades neurodegenerativas muy comunes como la enfermedad de Alzheimer (EA) y el Parkinson (PD) o muy poco frecuentes como las demencias asociadas a mutaciones en el cromosoma 17 (demencia frontotemporal) o en el cromosoma 13 (demencia tipo Británica o Danesa) o las enfermedades priónicas. Todas estas patologías tienen en común la aparición en el cerebro de agregados insolubles de proteínas denominados “amiloides”. Un amiloide es una proteína “auto-ensamblada” que presenta morfología fibrilar, propiedades tintoriales específicas y una conformación ?-plegada [1].

La localización de los depósitos de amiloide puede ser intra o extra-celular y en el caso de las enfermedades neurodegenerativas la sintomatología clínica depende del área cerebral afectada. En este sentido, en la EA la principal estructura cerebral comprometida es el hipocampo y la corteza asociativa, es por eso que la manifestación clínica más frecuente es la pérdida de memoria, mientras que en PD los depósitos se localizan en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra y la manifestación clínica es temblor y alteraciones en la marcha.

En los últimos 20 años la hipótesis de trabajo que dominó el campo de investigación en enfermedades neurodegenerativascon depósito de amiloidese conoce como "hipótesis de la cascada amiloide". Esta hipótesis postula que el depósito de amiloide en el cerebro es la causa de la enfermedad. Por lo tanto, si la formación de amiloide es un proceso de evolución progresiva y predecible, interrumpir el proceso evitaría la enfermedad [2]. Para validar esta hipótesis se necesitaron desarrollar modelos animales que reprodujeran amiloidosis cerebral y deterioro cognitivo y sin duda fue la enfermedad de Alzheimer (EA) la patología con amiloide cerebral más ampliamente estudiada utilizando diversos abordajes experimentales.

Discutiremos en este artículo las bases genéticas de la EA y examinaremos la valides de la "hipótesis de la cascada amiloide" en la patogénesis de la EA.

La EA es un desorden clínico y genético heterogéneo. Existen 2 variantes, la más frecuente está estrechamente asociada a la edad, se la conoce como esporádica de inicio tardío (LOAD del inglés, late-onset sporadic Alzheimer’s disease). Es una enfermedad muy prevalente (~19 % para los mayores de 75 años) cuyo curso promedio es de 8-10 años. Debido al aumento en la expectativa de vida se ha convertido en un serio problema de salud pública. Presenta factores de riesgo genético y ambiental. El principal factor de riesgo genético asociado a esta variante es el alelo 4 del gen de la Apolipoproteína E el cual se ha validado en poblaciones de diversas ancestrías incluida la población argentina [3]. Debido al avance tecnológico logrado en la secuenciación genética mediante el uso de plataformas de alto rendimiento ha sido posible

realizar en los últimos 5 años estudios del tipo GWAS (del inglés Genome Wide Association Studies) utilizando un gran número de muestras (proveniente de población europea y/o del norte de américa) en diseños del tipo caso-control (> 20.000 sujetos/grupo) y secuenciando un gran número de genes (entre 300.000 a 3 millones de variantes genéticas). El resultado de estos estudios sugiere que algunos polimorfismos de nucleótido único (SNPs, del inglés Single Nucleotide Polymorphism) estarían asociados al riesgo de padecer la enfermedad, aunque precisan ser validados en poblaciones de diversas ancestrías. Con este objetivo, en nuestro laboratorio reclutamos los pacientes con alteraciones cognitivas (casos), e individuos sin obvias disfunción clínica (controles) y determinamos SNPs asociados a LOAD disponibles en bases de datos (http://www.alzgene.org, http://www.ebi.ac.uk/gwas/), y SNP bialélicos asociados a la ancestría. Actualmente estamos validando los SNPs seleccionados (mediante procesamientos estadísticos apropiados), como de mayor prevalencia en nuestra población para establecer un patrón de riesgo genético que permita generar un algoritmo con utilidad diagnóstica.

La otra forma de EA se la conoce como variante familiar de inicio temprano (FAD, del inglés Familial Alzheimer`s Disease) y está causada por mutaciones en alguno de estos 3 genes: proteína precursora del amiloide ? (APP), presenilina 1 (PSEN1) o presenilina 2 (PSEN2). Las mutaciones en estos 3 genes son altamente penetrantes y de baja frecuencia y sólo corresponden al 5 % de todos los casos de Alzheimer. Si bien hay pocas familias reportadas en el mundo como portadoras de EA familiar, en argentina nuestro laboratorio en colaboración con equipos médicos especialistas en neurología cognitiva describimos 2 familias con EA de inicio precoz asociada a mutaciones en PSEN1 [4] y PSEN2 [5]. Disponer de estos sujetos abre posibilidades para encarar investigaciones traslacionales innovadoras para diagnóstico y tratamiento de la EA.

En cualquiera de sus 2 variantes, EA se caracteriza clínicamente por un periodo inicial de deterioro cognitivo de 2-3 años de difícil diagnóstico y una posterior declinación grosera y progresiva de la memoria y el desarrollo de afasia, apraxias y agnosias que reflejan el daño en el hipocampo y la neocorteza asociativa.

A nivel anatomopatológico, los cerebros muestran en estadíos avanzados de la enfermedad, atrofia generalizada y a nivel histológico presentan depósitos extracelulares de péptido amiloide ? (A?) conocidos como “placas seniles” o “placas neuríticas”, depósitos intracelulares de proteína Tau-hiperfosforilada conocidos como “ovillos neurofibrilares” o “degeneración neurofibrilar”, neuritas distróficas, pérdida de sinapsis, gliosis y depósitos vasculares de A? en corteza y leptomeninges. Recientemente se ha demostrado en estadíos tempranos de la enfermedad depósitos intraneuronales de A? [6].

Desde la identificación desde hace ya más 20 años de la primera mutación en el gen del APP [7] la "hipótesis de la cascada amiloide" ganó enorme importancia sobre la base de la evidencia genética y bioquímica. Todos los sujetos portadores de mutaciones en alguno de los 3 genes vinculados con EA de inicio temprano, desarrollan demencia y depósitos cerebrales de A?. Todos los animales transgénicos (desde el ratón a la mosca) portadores de 1 o más genes vinculados con EA familiar presentan amiloidosis cerebral y deterioro cognitivo. Estudios preclínicos desarrollados en ratones transgénicos mostraron que la inmunización con anticuerpos anti-A? reduce los depósitos cerebrales y mejora la performance cognitiva. Con

estos resultados, se encararon ensayos clínicos en sujetos afectados con EA con la expectativa de observar mejoras a nivel neuropatológico y comportamental. Sin embargo, los resultados de los últimos ensayos clínicos dirigidos a reducir los niveles de A? extracelular en sujetos con EA esporádica sugieren que esta estrategia no tuvo el impacto esperado sobre la progresión de EA. Se logró disminuir la carga de amiloide cerebral, pero no se mejoró la capacidad cognitiva y en muchos casos se obtuvieron respuestas adversas que obligaron a suspender los ensayos [8].

Básicamente hoy en día se reconoce que el papel de A? en EA pareciera ser más complejo y sin duda el depósito extracelular de A? no es único responsable de generar EA. Si bien los motivos del fracaso de estos ensayos clínicos, algunos de ellos con graves deficiencias en su diseño, pueden deberse a que se probaron en pacientes con pérdida neuronal avanzada y el cerebro severamente dañado, estos resultados abren interrogantes sobre la posibilidad de pensar que tal vez el depósito extracelular de A? juega un papel protector activo en el envejecimiento del cerebro y por lo tanto, eliminarlo empeora el cuadro, en lugar de mejorarlo. También está claro que, independientemente de si A? es protector o tóxico, los ensayos clínicos que modulen los niveles cerebrales de A? seguirán siendo de gran interés para la búsqueda de una intervención terapéutica racional para la EA.

Con pruebas que indican que la cantidad de amiloide insoluble depositado en el cerebro en forma de placas seniles correlaciona mal con el deterioro cognitivo, y con las evidencias de que los ensayos clínicos tendientes a eliminar A? extracelular no mejoraron la performance cognitiva, los esfuerzos de investigación se centraron en los últimos años en estudiar la toxicidad de las formas solubles de A?, también conocidas como oligómeros de A?. Después de una década de estudios, ahora se cree que la forma más biológicamente activa de A?, o sea la más tóxica, es el oligómero soluble. Sin embargo se requieren esfuerzos específicos para comprender el mecanismo molecular que vincula a los oligómeros de A? con la vulnerabilidad neuronal específica, el deterioro cognitivo y finalmente la neurodegeneración.

La oligomerización y acumulación cerebral de A? depende de 2 parámetros: la concentración local y el tiempo. El estado estacionario del A? monomérico en el cerebro es el resultado de un equilibrio bien controlado entre su producción y eliminación; hoy en día se cree que la EA esporádica puede reflejar defectos en los mecanismos de eliminación de A?, mientras que la EA familiar presenta una producción de A? más eficiente. Se ha demostrado recientemente que la cinética de la producción de A? es similar entre controles y pacientes con EA de inicio tardío. Sin embargo, existe una falla en la depuración de A? en comparación con los controles, lo que indica que los mecanismos de catabolismo cerebral de A? pueden ser de importancia crítica en la EA esporádica [9]. En este sentido, nuestro grupo ha demostrado que la principal proteasa cerebral encargada de degradar a A?, la enzima degradadora de insulina (IDE, del inglés Insulin Degrading Enzyme) está desregulada en EA [10-13]. A nivel sub-celular determinamos que IDE presenta una localización ubicua [14, 15] existiendo una variante mitocondrial cuya expresión está regulada por la biogénesis mitocondrial [16]. Estos estudios identificaron por primera vez, un mecanismo molecular que vincula la degradación mitocondrial de A? con la funcionalidad mitocondrial sugiriendo que la desregulación de esta vía podría inducir el deterioro cognitivo en estadios tempranos de la enfermedad. En concordancia con esta

hipótesis se ha demostrado que la acumulación intraneuronal de A? correlacionan con áreas cerebrales que presentan menor captación de glucosa y expresión reducida de genes del metabolismo energético, sugiriendo una vinculación directa entre el depósito intraneuronal de A ?, la disfunción mitocondrial y el deterioro cognitivo [17]. En nuestro laboratorio, utilizando ratas transgénicas que presentan acumulación intraneuronal de A? y una amplia gama de trastornos conductuales y cognitivos similares a los descriptos en sujetos en estadios iniciales de la EA [18] demostramos que el depósito intraneuronal de A? promueve las deficiencias bioenergéticas disminuyendo la capacidad respiratoria mitocondrial mediada por déficits en la actividad enzimática del complejo I de la cadena respiratoria. Estas fallas pudieron revertirse administrando por via oral un compuesto antioxidante y estimulador de la biogénesis mitocondrial [19]. Estos resultados avalan la importancia de explorar otras hipótesis, alternativas a la de la cascada amiloide, para la comprensión del rol de A? en estadios tempranos de la EA.

Referencias:

1. **Castano EM , Frangione B** (1991) Alzheimer's disease from the perspective of the systemic and localized forms of amyloidosis *Brain Pathology* 1(4): 263-71

2. **Hardy J** (1997) The Alzheimer family of diseases: many etiologies, one pathogenesis? *Proceendings of the National Academy of Sciences of the USA* 94(6): 2095-7

3. **Morelli L, et al** (1996) Apolipoprotein E polymorphism and late onset Alzheimer's disease in Argentina *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 61(4): 426-7

4. **Morelli L, et al** (1998) Presenilin 1 Met146Leu variant due to an A --> T transversion in an early-onset familial Alzheimer's disease pedigree from Argentina *Clinical Genetics* 53(6): 469-73

5. **Muchnik C, et al** (2015) Identification of PSEN2 mutation p.N141I in Argentine pedigrees with early-onset familial Alzheimer's disease *Neurobiology of Aging* 36(10): 2674-7 e1

6. **Gouras GK, et al** (2010) Intraneuronal beta-amyloid accumulation and synapse pathology in Alzheimer's disease *Acta Neuropathology* 119(5): 523-41

7. **Brown J, et al** (1991) Genetic characterization of a novel familial dementia *Annals of the New York Academy of Sciences* 640: 181-3

8. **Kokjohn TA, Roher AE** (2009) Antibody responses, amyloid-beta peptide remnants and clinical effects of AN-1792 immunization in patients with AD in an interrupted trial *CNS & Neurological Disorders* 8(2): 88-97

9. **Mawuenyega KG, et al** (2010) Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease *Science* 330(6012): 1774

10. **Perez A, et al** (2000) Degradation of soluble amyloid beta-peptides 1-40, 1-42, and the Dutch variant 1-40Q by insulin degrading enzyme from Alzheimer disease and control brains *Neurochemestry Research* 25(2): 247-55

11. **Morelli L, et al** (2004) Insulin-degrading enzyme in brain microvessels: proteolysis of amyloid {beta} vasculotropic variants and reduced activity in cerebral amyloid angiopathy *Journal of Biological Chemestry* 279(53): 56004-13.

12. **Dorfman VB, et a**l (2010) Differential cerebral deposition of IDE and NEP in sporadic and familial Alzheimer's disease *Neurobiology of Aging* 31(10): 1743-57

13. **Leal MC, et al** (2011) Notch signaling proteins HES-1 and Hey-1 bind to insulin degrading enzyme (IDE) proximal promoter and repress its transcription and activity: Implications for cellular Abeta metabolism *Biochimica et Biophysica Acta* 1823 (2): 227-35

14. **Bulloj A, et al** (2008) Detergent resistant membrane-associated IDE in brain tissue and cultured cells: Relevance to Abeta and insulin degradation *Molecular Neurodegeneration* 3: 22

15. **Bulloj A, et al** (2010) Insulin-degrading enzyme sorting in exosomes: a secretory pathway for a key brain amyloid-beta degrading protease *Journal of Alzheimer's Disease* 19(1): 79-95

16. **Leal MC, et al** (2013) Transcriptional regulation of insulin-degrading enzyme modulates mitochondrial amyloid beta (Abeta) peptide catabolism and functionality *Journal of Biological Chemestry* 288(18): 12920-31

17. **Liang WS, et al** (2008) Alzheimer's disease is associated with reduced expression of energy metabolism genes in posterior cingulate neurons *Proceedings of the National Academy of Sciences*

105(11): 4441-6.

18. **Galeano P, et al** (2014) Longitudinal analysis of the behavioral phenotype in a novel transgenic rat model of early stages of Alzheimer's disease *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8: 321

19. **Martino Adami PV, et al** (2015) Synaptosomal bioenergetic defects are associated with cognitive impairment in a transgenic rat model of early Alzheimer's disease *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* pii: 0271678X15615132

La autora es investigadora de CONICET

QuímicaViva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Volumen 15, Número 1, Abril de 2016

ID artículo:F0243

Versión online