

Tópicos de actualización en neurobiología

Envejecimiento y Neurodegeneración

LUIS MIGUEL GUTIÉRREZ ROBLEDO
ARGELIA E. ROJAS MAYORQUÍN
J. HÉCTOR GUTIÉRREZ ÁVILA
DANIEL ORTUÑO SAHAGÚN
MERCÈ PALLÀS LLIBERIA
CARLOS BEAS ZÁRATE
ANTONIO CAMINS
(Editores)

Tópicos de actualización en neurobiología

Envejecimiento y Neurodegeneración

Tópicos de actualización en neurobiología

Envejecimiento y Neurodegeneración

LUIS MIGUEL GUTIÉRREZ ROBLEDO
ARGELIA E. ROJAS MAYORQUÍN
J. HÉCTOR GUTIÉRREZ ÁVILA
DANIEL ORTUÑO SAHAGÚN
MERCÈ PALLÀS LLIBERIA
CARLOS BEAS ZÁRATE
ANTONIO CAMINS
(Editores)



Editor sponsor: Dr. Luis Miguel Gutiérrez Robledo
Editor de desarrollo: Dra. Argelia E. Rojas Mayorquín

Primera edición, 2011

D.R. © 2011 Universidad de Guadalajara
Av Juárez 975
CP 44100
Guadalajara, Jalisco.

D.R. © 2011, Instituto de Geriatria (INGER)
Periférico Sur No. 2767
10200, Col. San Jerónimo Lídice
Deleg. Magdalena Contreras, México D.F

ISBN: 978-607-450-402-6

Impreso y hecho en México
Printed and made in Mexico

Queda prohibida la reproducción total o parcial de este documento con fines de lucro, por cualquier medio o procedimiento impreso o electrónico, sin para ello contar con la autorización previa, expresa y por escrito de los editores. Toda forma de utilización no autorizada será perseguida con base a lo establecido en la Ley Federal del Derecho de Autor. Derechos Reservados Conforme a la ley.

Las opiniones expresadas en los textos son responsabilidad exclusiva de sus autores y no reflejan necesariamente la opinión de los editores o de las instituciones titulares de los derechos de autor.

Contenido

Prólogo	11
<i>Luis Miguel Gutiérrez Robledo y Daniel Ortuño Sahagún</i>	

Investigación básica del envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas

1. Participación de los microRNAs en el envejecimiento	15
<i>Eunice López Muñoz</i>	
2. Daño oxidativo, sistemas de defensa y reparación del DNA en el envejecimiento	31
<i>Armando Luna López y Delia Magdalena Namihira Guerrero</i>	
3. El acetiloma y las sirtuinas: dos reguladores maestros del envejecimiento ..	45
<i>Shaday Michán y Juan E. Castillo</i>	
4. Sirtuina 1: papel en el envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer. ...	61
<i>Mercè Pallàs Lliberia, Andrés Jiménez, David Porquet, Anna M. Canudas y Jaume del Valle</i>	
5. Envejecimiento, receptores y epilepsia	77
<i>Manola Cuéllar Herrera y Luisa L. Rocha Arrieta</i>	
6. El papel de la vía intranasal en las enfermedades neurodegenerativas	87
<i>Argelia E. Rojas Mayorquín y Daniel Ortuño Sahagún</i>	

7. Neurogénesis endógena en las enfermedades neurodegenerativas 101
*Carme Auladell, Fèlix Junyent, Jaume Folch, Rafael Romero
y Ester Verdaguer*
8. La leptina como agente neuroprotector 117
*Francesc X. Sureda, Ingacio Pedrós, Fèlix Junyent,
Ester Verdaguer, Carme Auladell y Jaume Folch*
9. Marcadores bioquímicos y moleculares en la enfermedad
de Alzheimer 133
*Genaro Gabriel Ortiz, Fermín Pacheco Moisés, Irma E. Velázquez Brizuela,
Elva D. Arias Merino, Miguel Ángel Macías Islas, José A. Cruz Ramos,
Viridiana Ramírez Ramírez, Edic Willie Morales Sánchez
y Viviana González Enríquez*
10. Procesamiento de la proteína precursora del amiloide
en la enfermedad de Alzheimer 145
Ricardo Quiroz Baez
11. La enfermedad de Alzheimer: implicación del calcio 165
*Ester Verdaguer, Fèlix Junyent, Aurelio Vázquez de la Torre, Sergi Bayod,
Jaume Folch y Carme Auladell*
12. Enfermedad de Alzheimer: implicación de la vía JNK 181
*Fèlix Junyent, Luisa de Lemos, Andrea Vilar, Isidre Ferrer, Ester Verdaguer,
Rafael Romero, Carlos Beas Zárate y Carme Auladell*
13. Enfermedad de Parkinson: núcleo, mitocondria y envejecimiento 191
Agustín Lugo Radillo

Aspectos clínicos del envejecimiento y de las enfermedades neurodegenerativas

14. El deterioro cognoscitivo como un síndrome geriátrico..... 207
Mario Ulises Pérez Zepeda
15. Uso de ansiolíticos en el anciano..... 219
*Alfonso Martín del Campo Laurents, Isabel Cristina González Salas
y Juan José Bustamante Rojano*
16. Disposición de los fármacos en el anciano 231
Pietro Fagiolino, Rosa Eiraldi y Marta Vázquez
17. Genómica del envejecimiento neurológico 247
Talia Wegman Ostrosky y José Sánchez Corona
18. Cuidados paliativos en demencia y otras enfermedades
neurodegenerativas..... 257
Mario Ulises Pérez Zepeda
19. Evaluación de la actividad antagonista glutamatérgica
y neuroprotectora de nuevos compuestos policíclicos..... 267
Francesc X. Sureda Batlle y Marta López Querol
20. Efecto de la estimulación magnética transcraneal terapéutica sobre
la actividad eléctrica cerebral en pacientes con infarto cerebral 281
*Lilia María Morales Chacón, Lázaro Gómez Fernández,
Genco Estrada Vinajera y Otto Trapaga Quincoses*
21. Enfermedad de Alzheimer. Búsqueda de potenciales
tratamientos antiapoptóticos..... 295
*Aurelio Vazquez de la Torre, J. G. Pizarro, María Luisa de Lemos,
S. Abad Florensa, Dora A. Sanchez, Victor Rimbau,
Marta Catalina Rivera Cervantes, Carlos Beas Zarate y Antoni Camins*

Impacto social de las enfermedades neurodegenerativas y del envejecimiento

22.	Sobrecarga del cuidador de enfermos con demencia	315
	<i>Oscar Rosas Carrasco y María de Guadalupe Guerra Silla</i>	
23.	Salud bucal y deterioro cognitivo	329
	<i>Roberto Carlos Castrejón Pérez</i>	
24.	Evaluación neuropsicológica del deterioro cognitivo y la demencia Alzheimer en el adulto mayor	347
	<i>Irma E. Velázquez Brizuela, Genaro Gabriel Ortiz y Elva Dolores Arias Merino</i>	
25.	El “ <i>mini-mental state examination</i> ”. El efecto de la edad, género y nivel educativo en una población mexicana	359
	<i>Elva Dolores Arias Merino, Genaro Gabriel Ortiz, Neyda Ma. Mendoza Ruvalcaba, Martha Judith Arias Merino, Irma E. Velázquez Brizuela, Adriana Elizabeth Morales Sánchez y Rosa Martha Meda Lara</i>	
	Acerca de los autores	375

Prólogo

El aumento en la esperanza de vida incrementa los efectos del envejecimiento de la población como el principal factor de riesgo causal para las enfermedades neurodegenerativas. Por lo que éstas han adquirido una mayor importancia en la sociedad contemporánea.

Envejecimiento y neurodegeneración es el cuarto volumen de la serie “Tópicos de actualización en neurobiología”. Es producto de un curso internacional impartido en la ciudad de Guadalajara durante los meses de junio y julio de 2011, el cual fue realizado a partir de un proyecto de colaboración entre dos redes internacionales de investigación: la Red Temática de Envejecimiento Salud y Desarrollo Social (RED ESDS), coordinada por el doctor Luis Miguel Gutiérrez Robledo, Director del Instituto de Geriátría (INGER) de la Secretaría de Salud y el doctor Héctor Gutiérrez Ávila, Director de Investigación (INGER); y el Grupo de Estudio en Neurociencias Ibero-Americano en Red (GENIAR), coordinado por el doctor Carlos Beas Zárate, Director de la División de Ciencias Biológicas y Ambientales del CUCBA, en la Universidad de Guadalajara. Los participantes, que han venido desarrollando diversas colaboraciones, buscan la integración y formación de grupos de trabajo en red que aborden esta problemática de manera integral y multidisciplinaria para un mejor desarrollo científico, académico y tecnológico de los países interesados en este tema en particular.

El objetivo primordial de este esfuerzo es la difusión del conocimiento más actualizado en el campo del envejecimiento, enfocado fundamentalmente a las enfermedades neurodegenerativas. En apoyo a dicha difusión se elaboró el presente libro escrito por los protagonistas generadores de conocimiento.

El enfoque es novedoso e incorpora en esta ocasión una perspectiva multidisciplinaria en un tema donde convergen numerosas y diversas disciplinas, desde la neurobiología hasta las ciencias sociales.

La presente obra está constituida por 25 capítulos, organizados en tres secciones. La primera: *Investigación básica del envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas* (con 13 capítulos), revisa a nivel molecular la participación, durante el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas, de diversos elementos como los microRNAs, los radicales libres y las sirtuinas entre otros, con particular énfasis en las enfermedades de Alzheimer, Parkinson y en la epilepsia.

La segunda parte (con 8 capítulos), se refiere a los *Aspectos clínicos del envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas*, e incluye aspectos terapéuticos, farmacológicos y genómicos relacionados a diversas patologías neurales durante la senescencia. Finalmente, la tercera parte aborda el *Impacto social de las enfermedades neurodegenerativas y del envejecimiento*, con cuatro capítulos que tratan diferentes aspectos de la problemática social y del entorno de los pacientes neurológicos de la tercera edad.

Este libro es un texto de referencia tanto para el estudiante de ciencias médicas, biológicas y químico-farmacobiológicas, como para el investigador cuyo trabajo se desarrolle en el ámbito del envejecimiento y de las neurociencias; también constituye una guía muy útil en el ámbito clínico, puesto que presenta los diversos temas de forma integral y accesible.

Los autores de los diferentes capítulos son investigadores activos, nacionales e internacionales, con amplia experiencia y reconocimiento en sus respectivas áreas, que han puesto su mejor esfuerzo, conociendo las necesidades docentes, en generar un material de consulta claro y conciso, que incorpore y relacione conceptos recientes de los campos del envejecimiento y de las neurociencias.

Confiamos en que la información de vanguardia aquí contenida resulte de interés al lector y lo motive a continuar desarrollando su conocimiento y actividad en el estudio de la biología del envejecimiento en general y de las neurociencias en particular.

Esta obra cuenta con la aportación de 63 autores, pertenecientes a once instituciones diferentes de cuatro países: Cuba, España, México y Uruguay.

Dr. Luis Miguel Gutiérrez Robledo
Dr. Daniel Ortuño Sahagún

Investigación básica del envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas

1 Participación de los microRNAs en el envejecimiento

Eunice López Muñoz^{1,2}

Resumen

La senescencia celular está involucrada en la regulación del envejecimiento y mantenimiento de los tejidos. Se sabe que los mecanismos regulatorios que promueven la senescencia celular y el envejecimiento incluyen acortamiento del telómero, estrés oxidativo, daño al DNA y cambios en la expresión de diversos genes. Sin embargo, aún se encuentran en estudio las vías y las moléculas regulatorias que participan en este proceso.

Recientemente se han descrito un grupo de moléculas regulatorias denominadas microRNAs, una nueva clase de pequeños RNAs conservados evolutivamente, que regulan la expresión génica a través del apareamiento de bases en sitios parcialmente complementarios (principalmente en los sitios 3'UTRs) de los RNAs mensajeros. Los microRNAs disminuyen la expresión génica ya sea por inhibir la traducción y/o la estabilidad del RNA mensajero o por inducir la degradación rápida de péptidos nacientes.

La participación de los microRNAs se ha reportado en diversas vías de regulación, dentro de las que se encuentran: apoptosis, diferenciación celular, desarrollo neuronal, temporalidad en el desarrollo, inmunidad, cáncer y senescencia celular. Además, se sabe que la expresión de los microRNAs cambia con la edad y que pueden participar en vías regulatorias tanto pro y anti-longevidad.

1 Departamento de Investigación Básica del Instituto de Geriátria (INGER), SSA, México, D.F.

2 Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México, D.F.

Dada la reciente evidencia de la regulación que ejercen los microRNAs en vías que pudieran impactar en la expectativa de vida, el objetivo de este capítulo es presentar una breve revisión sobre los microRNAs y su participación en el proceso del envejecimiento y algunas enfermedades relacionadas con éste.

Introducción

La senescencia celular es un estado de arresto proliferativo permanente, producto del acortamiento telomérico después de múltiples rondas de división celular (senescencia replicativa: RS) o de diversas fuentes de estrés como la activación de oncogenes o estrés oxidativo (senescencia prematura inducida por estrés: SIPS).

Las células senescentes presentan alteraciones en la expresión génica, en el procesamiento de proteínas y en sus procesos metabólicos, además de desplegar características fenotípicas distintas a las células jóvenes, lo que parece indicar que la acumulación progresiva de células senescentes contribuye tanto al proceso de envejecimiento como al desarrollo de diversas enfermedades asociadas a éste (Kenyon, 2010).

Las vías moleculares críticas para el control de la senescencia celular son controladas por una red compleja que regula el remodelamiento de la cromatina, arresto de la proliferación, remodelamiento celular, vías secretoras asociadas a senescencia e inhibición de apoptosis (Fridman y Tainsky, 2008); sin embargo aún cuando se ha realizado un gran avance en la identificación de las vías regulatorias y algunos mecanismos de inducción y control de senescencia celular, las moléculas y los mecanismos específicos que regulan el fenotipo senescente no han sido comprendidos completamente, por lo que actualmente se encuentran en investigación.

RNAs pequeños

Recientemente se ha puesto especial atención en un grupo de moléculas denominadas RNAs pequeños (sRNAs). El primer RNA pequeño (sRNA) *lin-4*, fue descubierto en 1993 por tamizaje genético en *Caenorhabditis elegans* (Lee *et al.*, 1993). El número conocido de sRNAs desde entonces se ha incrementado subs-

tancialmente. Las funciones de los sRNAs van desde la formación de heterocromatina hasta la desestabilización del RNA mensajero (mRNA) y control traducional (Bartel, 2004).

El término sRNAs es arbitrario, dado que fue previamente utilizado para otros RNAs no codificantes, tales como RNAs pequeños nucleares (snRNAs) y RNAs de transferencia (tRNAs), e incluso para los RNAs reguladores pequeños bacterianos, pero éstos tampoco están relacionados con los sRNAs de eucariotes.

Lo que distingue y define a los sRNAs es su tamaño limitado (20-30 nucleótidos) y su asociación con la familia de proteínas argonautas (AGO). La familia de proteínas AGO interactúa directamente con los miRNAs y con las proteínas triptófano-glicina de 182 kDa (GW182), las cuales actúan como reguladoras del silenciamiento génico. La familia de proteínas AGO puede ser agrupada en dos diferentes clases: la subfamilia AGO y la subfamilia PIWI (Czech y Hannon, 2011).

En nuestro genoma se codifican al menos tres clases de sRNAs y se han clasificado en función de su mecanismo biogénico y el tipo de proteína AGO que está asociada con ellos: microRNAs (miRNAs), RNAs endógenos pequeños de interferencia (endo-siRNAs o esiRNAs) y RNAs interactuantes de PIWI (piRNAs); sin embargo, recientemente se han realizado descubrimientos de numerosos sRNAs que superan los límites de esta clasificación (Bates *et al.*, 2009).

MicroRNAs

Los sRNAs más estudiados son los microRNAs (miRNAs), moléculas regulatorias conservadas evolutivamente, de aproximadamente 18-25 nucleótidos que regulan la expresión génica.

En animales, los miRNAs son procesados a partir de moléculas precursoras denominadas pri-microRNAs, las cuales son transcritas por la RNA polimerasa II a partir de regiones intergénicas, intrones, exones, exones sobrelapados y regiones no traducidas (UTR) (Aberdam *et al.*, 2008). Cabe mencionar que la regulación de la transcripción de genes de miRNAs ocurre en forma similar a la de los genes codificantes de proteínas, en donde un mecanismo importante en el control de la expresión génica son las asas de retroalimentación. Se han descrito diversos ejemplos de la regulación de la transcripción de los miRNAs mediante asas de retroalimentación simple o doble y negativa o positiva, dada su capacidad de

unirse directamente y reprimir RNAm que codifica para factores involucrados en la propia biogénesis y función de los miRNAs (Kim *et al.*, 2007).

Una vez que se han transcrito los pri-microRNAs, éstos se pliegan en horquillas y constituyen el sustrato de dos enzimas, miembros de la familia de RNasa III, Drosha y Dicer. El corte de Drosha genera un producto de aproximadamente 70 nucleótidos denominado pre-microRNA, el cual es exportado al citoplasma donde Dicer lo procesa en un miRNA de doble cadena de aproximadamente 20 nucleótidos (Cheng *et al.*, 2005; Krol *et al.*, 2010). Drosha y Dicer realizan estas funciones en conjunto con otros cofactores y proteínas accesorias que también desempeñan un papel importante en la regulación de la expresión génica. El nivel y actividad de estas proteínas son un mecanismo que regula a los miRNAs.

Posteriormente, una de las cadenas del miRNA de doble cadena generado por Drosha y Dicer es degradada, mientras que la otra cadena representa al miRNA maduro, el cual se asocia con la proteína AGO para formar el centro del complejo de silenciamiento inducido por miRNA (miRISC), donde además de otros cofactores y proteínas accesorias, las proteínas AGO y GW182 son moléculas clave en el ensamblamiento y funcionamiento del miRISC (Krol *et al.*, 2010; Carthew y Sontheimer, 2009).

El miRISC predominantemente silencia la expresión de genes blanco a nivel post-transcripcional mediante la unión de la cadena sencilla del miRNA maduro a través de complementariedad parcial o total de secuencias a la región 3' no traducida (3' UTR) del mRNA blanco y causa bloqueo de la traducción y/o con menos frecuencia degradación del mRNA, aunque la inducción de la degradación rápida de péptidos nacientes también ha sido propuesta como un mecanismo regulatorio (Kim *et al.*, 2009). Recientemente se ha incrementado la evidencia de que los miRNAs no sólo actúan como represores sino también como activadores de la traducción (Place *et al.*, 2008; Vasudevan *et al.*, 2007; Hutzinger e Izaurralde, 2011).

Por otro lado, también se ha tratado de determinar si, al igual que en el caso de las proteínas o de las ribonucleoproteínas, la localización subcelular apropiada del miRISC es esencial para su función y regulación (Krol *et al.*, 2010).

Cada miRNA puede regular múltiples blancos de mRNA y un mRNA puede ser regulado por múltiples miRNAs. La miR-Base es la mayor compilación de secuencias de miRNAs e información de blancos y, hasta abril de 2011, contenía 1,424 secuencias de miRNAs humanos, cada uno de ellos con un potencial predicho de regular un promedio de 1,000 genes blanco (Lafferty-Whyte *et al.*, 2009),

lo cual sugiere que una gran proporción del transcriptoma (50% en humanos) está sujeto a regulación por miRNAs, sin embargo es necesario confirmar cuál de estos blancos realmente es regulado por miRNAs (Bartel, 2009; Andorfer *et al.*, 2011).

Estudios funcionales han indicado que los miRNAs participan en un amplio rango de procesos biológicos, incluyendo morfogénesis (Kole *et al.*, 2011), desarrollo (Zheng *et al.*, 2011), proliferación celular (Kaddar *et al.*, 2009; Uziel *et al.*, 2009), diferenciación celular (Zhang *et al.*, 2009), apoptosis (Lynam 'Lennon *et al.*, 2009), respuesta inmune (Ha, 2011), angiogénesis (Liu *et al.*, 2011), respuesta a estrés (Scarola *et al.*, 2010), metabolismo (McGregor y Choi *et al.*, 2011) y señalización intracelular (Kowarsch *et al.*, 2011), además de que los cambios en su expresión están relacionados con muchos tipos de patologías humanas (van Rooij, 2011).

miRNAs y envejecimiento

En los últimos años, se ha realizado un gran avance en el estudio de los mecanismos moleculares involucrados en el envejecimiento. Dentro de éstos se encuentran el control epigenético y los factores post-transcripcionales. Se han reconocido al menos cuatro mecanismos como determinantes de las fuerzas epigenéticas que modulan la expresión de los genes y vías de señalización: metilación de DNA, acetilación, estabilidad genómica y regulación dependiente de miRNAs (Bates *et al.*, 2009).

En lo que se refiere a regulación de la expresión génica dependiente de miRNAs y envejecimiento, existe evidencia de una correlación directa en diversos modelos animales. Estudios en *Caenorhabditis elegans* han reportado la participación del primer miRNA descrito, *lin-4* y su factor de transcripción *lin-14* (identificados como genes reguladores de la temporalidad durante el desarrollo larvario) en la regulación de la expectativa de vida del gusano adulto (Kenyon *et al.*, 1993). Boehm y Slack reportaron que en *C. elegans*, la sobre-expresión de *lin-4* incrementaba la expectativa de vida y la pérdida de *lin-4* la reducía (Boehm y Slack, 2005) y mediante análisis de microarreglos en el mismo modelo de estudio, también se han reportado cambios en los perfiles de expresión de distintos miRNAs, incluyendo la disminución en la expresión de *lin-4* durante el envejecimiento del gusano (Ibáñez-Ventoso *et al.*, 2006).

Dado que la gran mayoría de miRNAs son evolutivamente conservados y se encuentran en diversas especies, actualmente se está investigando la participación de estas moléculas en el envejecimiento de diversos modelos animales, incluyendo gusanos, moscas, peces, ratones y por supuesto humanos (Kashyap L, 2011).

miRNAs, metabolismo y envejecimiento

La expectativa de vida es regulada por vías altamente conservadas y sensibles a nutrientes, lo cual provee evidencia del papel de la señalización mediada por nutrientes en el control del envejecimiento y enfermedades relacionadas a éste. Se ha observado que dietas hipercalóricas acortan la expectativa de vida y aceleran la aparición de enfermedades asociadas al envejecimiento como la diabetes, síndrome metabólico, cáncer y enfermedades neurodegenerativas, mientras que la restricción calórica retrasa y/o atenúa el envejecimiento y enfermedades asociadas (Haigis MC y Yankner, 2010; Haigis MC y Sinclair DA, 2010).

Dado que los microRNAs han sido involucrados en la regulación de diversas vías metabólicas también se han asociado con cambios en la expectativa de vida (Boehm y Slack, 2006). Por ejemplo, estudios en *C. elegans*, han demostrado la participación de *lin-4* y *lin-14* en la regulación de la expectativa de vida mediante la vía de señalización de la insulina (Lee *et al.*, 1993; Boehm y Slack, 2005) y estudios en *Drosophila melanogaster* han documentado la participación de mir-278 y mir-14 en la homeostasis de energía a través de la vía de señalización de la insulina y el metabolismo de las grasas (Teleman *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2003; Tatar *et al.*, 2001).

Por otro lado, la regulación del metabolismo mediante miRNAs también ha sido demostrada en modelos murinos. Poy y colaboradores reportaron la regulación de la secreción de insulina mediante la acción de un miRNA (mir-375) de acción específica en los islotes pancreáticos (Poy *et al.*, 2004). Mediante análisis de microarreglos, Esau *et al.* identificaron la regulación negativa que ejercía mir-122 sobre genes involucrados en la síntesis de ácidos grasos y oxidación (Esau *et al.*, 2006).

miRNAs, estrés oxidativo y envejecimiento

La reducción en la expresión o eficiencia de genes de fosforilación oxidativa lleva a un incremento de especies reactivas de oxígeno (moléculas responsables del estrés oxidativo) y por lo tanto a disfunción mitocondrial con la pérdida de la capacidad antioxidante (Rea *et al.*, 2007), misma que ha sido involucrada en el proceso de envejecimiento (Callaghan *et al.*, 2008). La pérdida de la capacidad antioxidante puede deberse a la supresión post-transcripcional mediada por miRNAs, por ejemplo, el estrés oxidativo y la inducción del factor de transcripción AP-1 se han asociado con el daño y degradación del colágeno tipo I y III de la dermis, lo cual promueve el envejecimiento de la piel manifestado por el adelgazamiento, sequedad, edema y pérdida de la elasticidad e integridad de la arquitectura tisular (Callaghan *et al.*, 2008) y algunos miRNAs en humanos que han sido involucrados en la morfogénesis del folículo piloso, psoriasis, eczema y carcinogénesis de piel son miR-146a, miR-203, miR-21 y miR125b (Bostjancic *et al.*, 2008).

La relación de los miRNAs y estrés oxidativo también ha sido reportada en otros tejidos, por ejemplo miR-125 ha sido relacionado con hipertrofia e insuficiencia cardíaca y miR-208 es requerido para la hipertrofia y fibrosis del cardiomiocito (van Rooij *et al.*, 2006; van Rooij *et al.*, 2007). Por otro lado, la disminución de la expresión de miR-107 se ha relacionado con incremento en la expresión de la enzima BACE1, responsable de la generación de β -amiloide, la cual juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Wang *et al.*, 2008).

Además, el estrés oxidativo ha sido involucrado en la inflamación tisular que conduce o resulta en un gran número de enfermedades autoinmunes, la mayoría asociadas a envejecimiento. Por ejemplo, miR-146a/b y miR-155 se encontraron sobre-expresados en pacientes con artritis reumatoide (Sonkoly y Pivarcsi, 2009; Stanczyk *et al.*, 2008) y al parecer miR-155 está involucrado en la supresión de proteínas MMP-3 y MMP-1, las cuales degradan la matriz extracelular.

miRNAs, cáncer y envejecimiento

Con excepción de algunos de la infancia, la mayoría de los cánceres conocidos que afectan al humano generalmente se manifiestan después de la edad madura. Así el

cáncer ha sido considerado una enfermedad dependiente de la edad, en donde el riesgo de cáncer se incrementa conforme incrementa la edad. Múltiples estudios han demostrado la relación entre epigenética, regulación post-transcripcional y cáncer, lo cual incluye la regulación de la expresión génica mediante miRNAs, ya sea por la vía oncogénica como por la vía tumor-supresora, las cuales están implicadas en la tumorigénesis (Ventura y Jacks, 2009; Farazi *et al.*, 2011).

miRNAs y senescencia

La senescencia replicativa ocurre en respuesta a la erosión del DNA telomérico y la expresión de la telomerasa puede evitar la senescencia replicativa y conducir a la inmortalización de muchas células humanas.

Diversos miRNAs han sido involucrados en la regulación de vías que participan en senescencia celular y ejercen importantes efectos en la progresión del ciclo celular (Brosh *et al.*, 2008; He *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009; Kumamoto *et al.*, 2008; Lafferty-Whyte *et al.*, 2009; Poliseno *et al.*, 2008).

Maes *et al.* describieron el perfil de miRNA en senescencia replicativa en comparación con la senescencia prematura y células privadas de suero usando WI-38 fibroblastos (p16 positivos), demostrando sobre-expresión de miR-373 y miR-663, así como sub-expresión de miR-197 en células WI-38 senescentes y quiescentes (Maes *et al.*, 2009); mientras que Bonifacio y Jarstfer reportaron el perfil de miRNAs en senescencia replicativa en fibroblastos humanos BJ (deficientes en p16) en comparación con fibroblastos inmortalizados BJ por la transfección estable de la subunidad catalítica de la telomerasa humana, en donde demostraron que la telomerasa induce la sobre-expresión de uno o más blancos del miR-143, alterando la concentración de miR-143 requerida para inducir arresto del crecimiento celular (Bonifacio y Jarstfer, 2010). Por otro lado, Hackl *et al.* realizaron un microarreglo a gran escala de microRNAs de cuatro diferentes tipos celulares en senescencia replicativa y tres diferentes tipos de tejidos *ex vivo* (representando a un organismo envejecido), encontrando una vía de regulación común de miR-17, 19b, 20a y miR-106a (miembros del *cluster* parálogo miR-17-92), indicando que este *cluster*, además de ser un importante regulador del ciclo celular y tumorigénesis, también lo es del proceso de envejecimiento (Hackl *et al.*, 2010; Grillari *et al.*, 2010).

De esta manera resulta interesante el estudio de la relación entre miRNAs, telomerasa, senescencia replicativa y envejecimiento.

Por otro lado, también se ha documentado la regulación de los miRNAs en la senescencia inducida por oncogenes. En 2006, Voorhoeve *et al.* demostraron que miR-372 y miR373 rescatan a los fibroblastos humanos de la senescencia inducida por el oncogen Ras (Voorhoeve *et al.*, 2006) y en 2010, Borgdorff y colaboradores ejecutaron una tamizaje genómico de siRNAs y de miRNAs para identificar otros mediadores de senescencia inducida por oncogenes en células epiteliales mamarias humanas, en donde aislaron 28 miRNAs, incluyendo todos los miembros de la familia miR106b, miR-130b, miR302b, miR302c, miR302d, miR512-3p y miR-515-3p, mismos que prevenían la senescencia celular inducida por Ras (Borgdorff *et al.*, 2010). De esta manera, dichos estudios ilustran que la desregulación de los miRNAs tiene idénticas consecuencias en diferentes tipos celulares, sugiriendo un mecanismo universal de control del crecimiento y senescencia celular mediada por oncogenes.

En un contexto fisiológico, es plausible que la senescencia celular se lleve a cabo por la combinación de la sub-expresión de algunos miRNAs que inhiben la senescencia y la sobre-expresión de algunos miRNAs que promueven la senescencia celular (Jensen y Covault, 2011).

MicroRNAs y neurodegeneración

El cerebro humano cambia dramáticamente durante el desarrollo posnatal, tanto estructural como histológicamente (de Graaf-Peters y Hadders-Algra, 2006; Marsh *et al.*, 2008). Algunos procesos del desarrollo continúan hasta la edad adulta y concluyen aproximadamente a los 40 años de edad, tal como la mielinización axonal cortical. Mientras que entre el nacimiento y la edad adulta las habilidades cognitivas humanas están bajo remodelamiento considerable, al final de la vida el cerebro comienza a cambiar en una forma destructiva (Marsh *et al.*, 2008). Tales cambios incluyen disminución del volumen cerebral, pérdida de las sinapsis, disminución cognitiva e incremento de la frecuencia de alteraciones neurológicas (Courchesne *et al.*, 2000; Sowell *et al.*, 2004; Peters *et al.*, 2008; Salthouse, 2009). Aunque se han observado cambios relacionados entre el desarrollo y el

envejecimiento en histología y función cognitiva, sus bases moleculares no son bien entendidas.

Durante la última década, se ha utilizado la determinación de los perfiles de expresión de los mRNAs para identificar cambios en los niveles de expresión de cerebros en proceso de envejecimiento, tanto en modelos animales como en humanos. Estos estudios han identificado diversos patrones de expresión de mRNA en el cerebro en envejecimiento, incluyendo sobre-expresión en vías de respuesta a estrés y del sistema inmune, así como de la disminución en la expresión de genes involucrados en funciones neuronales y de metabolismo energético. Muchos de los cambios observados en los niveles de expresión han sido atribuidos al estrés oxidativo y acumulación de daño al DNA, especialmente en regiones promotoras de los genes.

Se sabe que cambios en los niveles de la expresión génica determinan la diferenciación de tejidos involucrados en el desarrollo y están asociados con la disminución funcional en el envejecimiento (Somel *et al.*, 2011). En el sistema nervioso central se ha demostrado que los miRNAs controlan diversos procesos, que van desde la especificación de la identidad neuronal hasta la plasticidad sináptica (Kosik, 2006). A partir de estudios realizados en modelos animales de invertebrados, se ha generado suficiente evidencia del impacto de los miRNAs sobre la formación de la memoria (Bicker S y Schratt G, 2010). Gao *et al.* demostraron que también en vertebrados, miR-134 desempeña un papel crítico en el aprendizaje y la memoria (Gao *et al.*, 2010), dicho miRNA es controlado por una sirtuina (SIRT1), la cual es una desacetilasa de histonas que se sabe regula la expectativa de vida (Finkel *et al.*, 2009). Así, la idea de que los miRNAs tienen un papel en la neurodegeneración y envejecimiento se encuentra bien documentada (Grillari *et al.*, 2010; Bates *et al.*, 2009).

Utilidad clínica de los miRNAs en el envejecimiento

Se han reportado diversas técnicas moleculares para determinar la expresión de los miRNAs, entre las que se encuentran Northern Blotting e hibridización *in situ*; sin embargo, la técnica de microarreglos ha sido uno de los métodos más reportados en la literatura ya que ofrece una herramienta poderosa para monitorear la expresión de cientos de miRNAs a la vez. Otra técnica que también ha sido

utilizada dada su alta sensibilidad para la detección de miRNAs es la qRT-PCR (reverso transcripción-reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa). Estas técnicas han permitido medir los niveles de muchos miRNAs y determinar la asociación de las alteraciones en su nivel de expresión con fenotipos particulares y cómo pueden ser de potencial utilidad en la clínica al permitir la identificación de biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y blancos terapéuticos (incluyendo la inducción y represión de miRNAs y los genes regulados por ellos) en diversas enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento (Budhu *et al.*, 2010).

Conclusión

Los miRNAs actúan en diversas vías que participan en la extensión o reducción de la expectativa de vida, sugiriendo un papel importante en la regulación del proceso de envejecimiento. Además, se han reportado cambios en la expresión de algunos miRNAs, en donde generalmente la expresión de los miRNAs disminuye con la edad, un pequeño grupo muestra grandes cambios en su expresión y pocos aumentan con la edad, de tal manera que además de participar en la regulación de las vías moleculares constituyen potenciales biomarcadores tanto para el diagnóstico y pronóstico como para los blancos moleculares del envejecimiento y las enfermedades asociadas a éste.

Referencias

- Aberdam D, Candi E, Knight RA, Melino G. miRNAs, 'stemness' and skin. *Trends Biochem Sci*, 2008; 33(12):583-591.
- Andorfer CA, Necela BM, Thompson EA, Pérez EA. MicroRNA signatures: clinical biomarkers for the diagnosis and treatment of breast cancer. *Trends Mol Med*, 2011; Mar 2 (Epub ahead of print).
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004; 116(2):281-297.
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009; 136(2): 215-233.
- Bates DJ, Liang R, Li N, Wang E. The impact of noncoding RNA on the biochemical and molecular mechanisms of aging. *Biochim et Biophys Acta*, 2009; 1790(10):970-979.

- Bicker S, Schratt G. Not miR-ly aging: SIRT1 boosts memory via a microRNA-dependent mechanism. *Cell Res*, 2010; 20(11):1175-1177.
- Boehm M, Slack F. A developmental timing microRNA and its target regulate life span in *C. elegans*. *Science*, 2005; 310(5756):1954-1957.
- Boehm M, Slack FJ. MicroRNA control of lifespan and metabolism. *Cell cycle*, 2006; 5(8):837-840.
- Bonifacio LN, Jarstfer MB. miRNA profile associated with replicative senescence, extended cell culture, and ectopic telomerase expression in human foreskin fibroblasts. *PLoS one*, 2010; 5(9):e12519.
- Borgdorff V, Leonart ME, Bishop CL, Fessart D, Bergi AH, Overhoff MG, Beach DH. Multiple microRNAs rescue from Ras-induced senescence by inhibiting p21^{Waf1/Cip1}. *Oncogene*, 2010; 29(15):2262-2271.
- Bostjancic E, Glavac D. Importance of microRNAs in skin morphogenesis and diseases, *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat*, 2008; 17(3):95-102.
- Brosh R, Shalgi R, Liran A, Landan G, Korotayev K, Nguyen GH, Enerly E, Johnsen H, Buganim Y, Solomon H, Goldstein I, Madar S, Goldfinger N, Børresen-Dale AL, Ginsberg D, Harris CC, Pilpel Y, Oren M, Rotter V. p53-Repressed miRNAs are involved with E2F in a feed-forward loop promoting proliferation. *Mol Syst Biol*, 2008; 4:229.
- Budhu A, Ji J, Wang XW. The clinical potential of microRNAs. *Journal of Hematol Oncol*, 2010; 3:37.
- Callaghan TM, Wilhelm KP. A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin. Part I: Cellular and molecular perspectives of skin ageing. *Int J Cosmet Sci*, 2008; 30 (5):313-322.
- Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009; 136(4):642-655.
- Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, Ford LP. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. *Nucleic Acid Res*, 2005; 33(4):1290-1297.
- Courchesne E, Chisum HJ, Townsend J, Cowles A, Covington J, Egaas B, Harwood M, Hinds S, Press GA. Normal brain development and aging: Quantitative analysis at in vivo MR imaging in healthy volunteers. *Radiology*, 2000;216(3):672-682.
- Czech B, Hannon GJ. Small RNA sorting: matchmaking for Argonauts. *Nat Rev Genet*, 2011; 12(1):19-31.
- de Graaf-Peters VB, Hadders-Algra M. Ontogeny of the human central nervous system: What is happening when? *Early Hum Dev*, 2006;82(4):257-266.
- Esau C, Davis S, Murray SF, Yu XX, Pandey SK, Pear M, Watts L, Booten SL, Graham M, McKay R, Subramaniam A, Propp S, Lollo BA, Freier S, Bennett CF, Bhanot S,

- Monia BP. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metab*, 2006; 3(2):87-98.
- Farazi TA, Spitzer JI, Morozov P, Tuschl T. miRNAs in human cancer. *J Pathol*, 2011; 223(2):102-105.
- Finkel T, Deng CX, Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. *Nature*, 2009;460(7255):587-591.
- Fridman AL, Tainsky MA. Critical pathways in cellular senescence and immortalization revealed by gene expression profiling. *Oncogene*, 2008; 27(46):5975-5987.
- Gao J, Wang WY, Mao YW, Gräff J, Guan JS, Pan L, Mak G, Kim D, Su SC, Tsai LH. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature*, 2010; 466(7310):1105-1109.
- Grillari J, Hackl M, Grillari-Voglauer R. miR-17-92 cluster: ups and downs in cancer and aging. *Biogerontology*, 2010; 11(4):501-506.
- Ha TY. The role of microRNAs in regulatory T cells and in the immune response. *Immune Netw*, 2011; 11(1):11-41.
- Hackl M, Brunner S, Fortschegger K, Schreiner C, Micutkova L, Mück C, Laschober GT, Lepperdinger G, Sampson N, Berger P, Herndler-Brandstetter D, Wieser M, Kühnel H, Strasser A, Rinnerthaler M, Breitenbach M, Mildner M, Eckhart L, Tschachler E, Trost A, Bauer JW, Papak C, Trajanoski Z, Scheideler M, Grillari-Voglauer R, Grubeck-Loebenstein B, Jansen-Dürr P, Grillari J. miR-17, miR-19b, miR-20a, and miR-106a are down regulated in human aging. *Aging Cell*, 2010; 9(2):291-296.
- Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol*, 2010; 5:253-295.
- Haigis MC, Yankner BA. The aging stress response. *Mol Cell*, 2010; 40(2):333-344.
- He X, He L, Hannon GJ. The guardian's little helper: microRNAs in the p53 tumor suppressor network. *Cancer Res*, 2007; 67(23):11099-11101.
- Hutzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet*, 2011; 12(2):99-110.
- Ibañez-Ventoso C, Yang M, Guo S, Robins H, Padgett RW, Driscoll M. Modulated microRNA expression during adult lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*, 2006; 5(3):235-246.
- Jensen KP, Covaul J. Human miR-1271 is a miR-96 paralog with distinct non-conserved brain expression pattern. *Nucleic Acids Res*, 2011; 39(2):701-711.
- Kaddar T, Rouault JP, Chien WW, Chebel A, Gadoux M, Salles G, Ffrench M, Magaud JP. Two new miR-16 targets: caprin-1 and HMGA1, proteins implicated in cell proliferation. *Biol Cell*. 2009; 101(9):511-524.
- Kashyap L. Can microRNAs act as biomarkers of aging? *Bioinformatics*, 2011; 5(9):396-397.

- Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R. A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*, 1993; 366(6454):461–464.
- Kenyon CJ. The genetics of ageing. *Nature*, 2010; 464(7288):504–512.
- Kim J, Inoue K, Ishii J, Vanti WB, Voronov SV, Murchison E, Hannon G, Abeliovich A. A microRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science*, 2007; 317(5842):1220–1224.
- Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009; 10(2):129–139.
- Kole AJ, Swahari V, Hammond SM, Deshmukh M. miR-29b is activated during neuronal maturation and targets BH3-only genes to restrict apoptosis. *Genes Dev*, 2011; 25(2):125–130.
- Kosik KS. The neuronal microRNA system. *Nat Rev Neurosci*, 2006; 7(12):911–920.
- Kowarsh A, Preusse M, Marr C, Theis FJ. miTALOS: analyzing the tissue-specific regulation of signaling pathways by human and mouse microRNAs. *RNA*, 2011; 17(5):809–819.
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*, 2010; 11(9):597–610.
- Kumamoto K, Spillare EA, Fujita K, Horikawa I, Yamashita T, Appella E, Nagashima M, Takenoshita S, Yokota J, Harris CC. Nutlin-3a activates p53 to both down-regulate inhibitor of growth 2 and up-regulate mir-34a, mir-34b, and mir-34c expression, and induce senescence. *Cancer Res*, 2008; 68(9):3193–3203.
- Lafferty-Whyte K, Cairney CJ, Jamieson NB, Oien KA, Keith WN. Pathway analysis of senescence-associated miRNA targets reveals common processes to different senescence induction mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, 2009; 1792(4):341–352.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993; 75(5):843–854.
- Liu LZ, Li C, Chen Q, Jing Y, Carpenter R, Jiang Y, Kung HF, Lai L, Jiang BH. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression. *PLoS One*, 2011; 6(4):e19139.
- Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2009; 84(1):55–71.
- Maes OC, Sarojini H, Wang E. Stepwise up-regulation of microRNA expression levels from replicating to reversible and irreversible growth arrest states in WI-38 human fibroblasts. *J Cell Physiol*, 2009; 221(1):109–119.
- Marsh R, Gerber AJ, Peterson BS. Neuroimaging studies of normal brain development and their relevance for understanding childhood neuropsychiatric disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2008; 47(11):1233–1251.

- McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Curr Mol Med*, 2011; 11(4):304-316.
- Peters A, Sethares C, Luebke JI. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex. *Neuroscience*, 2008; 152(4):970-981.
- Place RF, Li LC, Pookot D, Noonan EJ, Dahiya R. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008; 105(5):1608-1613.
- Poliseno L, Pitto L, Simili M, Mariani L, Riccardi L, Ciucci A, Rizzo M, Evangelista M, Mercatanti A, Pandolfi PP, Rainaldi G. The proto-oncogene LRF is under post-transcriptional control of MiR-20a: implications for senescence. *PLoS One*, 2008; 3(7):e2542.
- Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, Pfeffer S, Tuschl T, Rajewsky N, Rorsman P, Stoffel M. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*, 2004; 432(7014):226-230.
- Rea SL, Ventura N, Johnson TE. Relationship between mitochondrial electron transport chain dysfunction, development, and life extension in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol*, 2007; 5(10):e259.
- Salthouse TA. When does age-related cognitive decline begin? *Neurobiol Aging*, 2009; 30(4):507-514.
- Scarola M, Schoeftner S, Schneider C, Benetti R. miR-335 directly targets Rb1 (pRb/p105) in a proximal connection to p53-dependent stress response. *Cancer Res*, 2010; 70(17):6825-6933.
- Somel M, Guo S, Fu N, Yan Z, Hu HY, Xu Y, Yuan Y, Ning Z, Hu Y, Menzel C, Hu H, Lachmann M, Zeng R, Chen W, Khaitovich P. MicroRNA, mRNA, and protein expression link development and aging in human and macaque brain. *Genome Res*, 2010; 20(9):1207-1218.
- Sonkoly E, Pivarcsi A. Advances in microRNAs: implications for immunity and inflammatory diseases. *J Cell Mol Med*, 2009; 13 (1):24-38.
- Sowell ER, Thompson PM, Toga AW. Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. *Neuroscientist*, 2004; 10(4):372-392.
- Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, Detmar M, Gay S, Kyburz D. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2008; 58(4):1001-1009.
- Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo RS. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science* 2001; 292(5514):107-110.
- Teleman AA, Maitra S, Cohen SM. *Drosophila* lacking microRNA miR-278 are defective in energy homeostasis. *Genes Dev* 2006; 20(4):417-422.

- Uziel T, Karginov FV, Xie S, Parker JS, Wang YD, Gajjar A, He L, Ellison D, Gilbertson RJ, Hannon G, Roussel MF. The miR-17-92 cluster collaborates with the Sonic Hedgehog pathway in medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009; 106(8):2812-2817.
- van Rooij E., The art of microRNA research. *Circ Res*, 2011; 108(2):219-234.
- van Rooij E., Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, Richardson JA, Olson EN, A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006; 103(48):18255–18260.
- van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA, *Science*, 2007; 316(5824):575–579.
- Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulated translation. *Science*, 2007; 318(5858):1931-1934.
- Ventura A, Jacks T. microRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell*, 2009; 136(4):586-591.
- Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, Gillis AJ, Stoop H, Nagel R, Liu YP, van Duijse J, Drost J, Griekspoor A, Zlotorynski E, Yabuta N, De Vita G, Nojima H, Looijenga LH, Agami R. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. *Cell*, 2006; 124(6):1169-1181.
- Wang WX, Rajeev BW, Stromberg AJ, Ren N, Tang G, Huang Q, Rigoutsos I, Nelson P. The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1. *J Neurosci*, 2008; 28(5):1213–1223.
- Xu P, Vernoooy SY, Guo M, Hay BA. The *Drosophila* microRNA Mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism. *Curr Biol* 2003; 13(9):790-795.
- Zhang L, Hammell M, Kudlow BA, Ambros V, Han M. Systematic analysis of dynamic miRNA-target interactions during *C. elegans* development. *Development*, 2009; 136(18):3043-3055.
- Zheng K, Li H, Huang H, Qiu M. MicroRNAs and glial cell development. *Neuroscientist*, 2011; may 9 (Epub ahead of print).

2 Daño oxidativo, sistemas de defensa y reparación del DNA en el envejecimiento

Armando Luna López¹ y Delia Magdalena Namihira Guerrero^{1,2}

Resumen

El envejecimiento puede definirse como la disminución de las funciones fisiológicas, bioquímicas y moleculares a lo largo de la vida de un individuo. Durante décadas se ha relacionado al envejecimiento con el daño oxidante generado por las especies reactivas de oxígeno (ERO) que son producidas por el metabolismo aeróbico de los organismos. Las defensas antioxidantes que han desarrollado los organismos aeróbicos resultan ser insuficientes frente a los retos ambientales y propios del metabolismo, de tal manera que se genera un desbalance conocido como estrés oxidante. Este desbalance tiene como consecuencia daños oxidantes en las principales biomoléculas, como lo son lípidos, proteínas y DNA. El daño oxidante principal es en el DNA nuclear ya que al alterarse las secuencias génicas se disminuyen las funciones fisiológicas y estructurales de los individuos. Existen diferentes daños al DNA como son los rompimientos de SSB y DSB, las mutaciones y la producción de aductos de DNA. Entre los sistemas de reparación del DNA que se han reportado por estar relacionados con el envejecimiento se encuentran el MMR, BER y la enzima ATM.

¹ Departamento de Investigación Básica, Instituto de Geriátria (INGER), SSA, México DF.

² Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

Especies reactivas de oxígeno

Los radicales libres (RL) pueden ser definidos como átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados en alguno de sus orbitales electrónicos (Halliwell y Gutteridge, 1999). Este electrón generalmente es el que le proporciona su alta capacidad reactiva. El oxígeno molecular (dioxígeno) tiene una configuración electrónica única y es por sí mismo considerado un radical, por lo que los RL derivados del oxígeno producidos por los seres vivos son considerados los radicales más importantes (Miller *et al.*, 1990). Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son ubicuas, altamente reactivas, de tiempo de vida media muy corto, se producen en el metabolismo del oxígeno en los sistemas biológicos aeróbicos y reaccionan con las moléculas que se encuentran a su alrededor, empezando con aquéllas que se encuentran muy cercanas a su sitio de formación. Las ERO incluyen al radical superóxido ($O_2\bullet$), al radical hidroxilo ($OH\bullet$) y al peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Además habría que considerar entre las ERO a las especies reactivas de nitrógeno (ERN), que poseen tanto átomos de oxígeno como de nitrógeno, e incluyen al óxido nítrico (NO) y al radical peroxinitrito ($ONOO\bullet$) entre las más importantes. Las ERN también participan en diferentes procesos biológicos, como en el funcionamiento de los tejidos vasculares. Las ERO/ERN han sido consideradas dañinas por su reactividad, sin embargo, bajos niveles de éstas son necesarias para que se lleven a cabo diferentes procesos bioquímicos, entre los que se encuentran la señalización intracelular, la diferenciación, el control del ciclo, la apoptosis, el sistema inmune, la defensa contra los microorganismos (Ghosh, 1998; Tohyama y Yamamura, 2004; Bae *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 1998).

Antioxidantes

La exposición a las ERO producidas por los procesos fisiológicos o ambientales ha llevado a los organismos a desarrollar mecanismos de defensas (Cadenas, 1997). Los organismos se protegen contra el estrés oxidante inducido por las ERO con mecanismos que pueden ser preventivos, de reparación, defensas físicas y defensas antioxidantes.

Este último es uno de los más importantes y está compuesto por enzimas antioxidantes entre las que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), glu-

tación peroxidasa (GPx) y la catalasa (CAT) y otros compuestos no enzimáticos entre los que se encuentran el ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), glutatión reducido (GSH), carotenoides, flavonoides y otros antioxidantes.

Las ERO pueden causar la muerte celular vía apoptosis y/o necrosis en algunos tipos celulares, las cuales pueden ser disminuidas o eliminadas por los sistemas antioxidantes (Carmody y Cotter, 2001; Kim *et al.*, 2001; Jang y Surh, 2003). La concentración de las ERO y el microambiente celular parecen ser importantes en determinar el tipo de muerte celular (Kim *et al.*, 2001). En condiciones normales siempre existe un balance entre las ERO y las defensas antioxidantes para que los organismos se encuentren en homeostasis.

Estrés oxidante

Las ERO son producidas en todos los organismos aeróbicos y normalmente están en la célula en un estado balanceado con las moléculas antioxidantes. El estrés oxidante se presenta cuando este balance es perturbado por la falta de antioxidantes, por la generación excesiva de ERO o por ambas. Así que, cuando los antioxidantes se encuentran en bajas proporciones y/o se incrementa la formación de ERO, se incrementa la respuesta celular para tratar de contrarrestar este evento hasta que se puede controlar o cuando la célula no lo puede controlar, entonces activa el proceso de muerte. El estrés oxidante puede generar un ambiente muy adverso o condiciones extremas en los sistemas biológicos. Un rápido indicador de que el sistema se encuentra en estrés oxidante es determinar el incremento en la respuesta antioxidante y/o un incremento en los niveles de ERO endógenos. La formación de ERO se incrementa como una consecuencia de diferentes condiciones de estrés ambiental, entre las que se encuentran la radiación electromagnética UV, la exposición a herbicidas, temperaturas extremas, toxinas como la cercosporina y aflatoxina, contaminantes ambientales, metales y xenobióticos. Cuando el estrés oxidante se presenta, la función de la célula es contrarrestar los efectos oxidantes y restaurar el balance redox tratando de alcanzar los parámetros homeostáticos. Este último evento de la respuesta celular puede activar o silenciar genes que codifican para enzimas de defensa, factores de transcripción y proteínas estructurales (Dalton *et al.*, 1999; Scandalios, 2004).

En los eucariontes superiores, tanto plantas como animales, la respuesta al estrés oxidante es muy compleja y está modulada por diferentes reguladores (Scandalios, 1997). El estado redox dependiente de ERO que modifica el reciclamiento de los tioles de los residuos de cisteínas es sumamente importante para establecer las interacciones proteína-proteína y proteína-DNA que son fundamentales para los procesos de transducción de señales y para la regulación de la actividad de algunos factores de transcripción (Dalton *et al.*, 1999; Scandalios, 2004; Storz e Imlay, 1999; Kiley y Storz, 2004; Ruis y Schuller, 1995; Moradas-Ferreira y Costa, 2000; Delaunay, Isnard y Toledano, 2000), como es el caso de la activación del factor NF- κ B y la proteína AP-1, conocidos por tener una participación fundamental en procesos como la proliferación, diferenciación y morfogénesis, los cuales pueden ser estimulados por diferentes agentes que convergen en un mecanismo común que involucra la producción de ERO. Un mecanismo que se ha descrito consiste en que al incrementarse la producción de H_2O_2 se tiene como consecuencia la activación redox de NF- κ B y en el cual participa una forma activa de la proteína Rho que es una GTPasa que responde a la modificación del estado redox celular (Gabbita *et al.*, 2000). Las fuentes de ERO, tanto extracelulares como intracelulares, son capaces de modular la expresión de genes. Dosis bajas de H_2O_2 ($<20\mu M$) pueden producir cambios en la fosforilación de proteínas reguladoras específicas, entre las que se encuentra la proteína cinasa B también conocida como Akt. La acción directa de la señalización por H_2O_2 en la regulación diferencial de genes antioxidantes en plantas y animales es debida a las interacciones proteína-DNA en la región del elemento de respuesta antioxidante (ARE; TGA/TCA), NF- κ B y el elemento de respuesta al ácido abscísico (ACGT) en los promotores de estos genes. Además la inducción de la expresión de genes de defensa, otros papeles del desbalance redox en plantas incluyen muerte directa de patógenos, la modificación de la estructura de la pared celular y la inducción de la muerte celular programada (Scandalios, 1997). En levaduras y animales, el estrés oxidante puede llevar a la detención de la división celular y a la progresión del ciclo celular (Paulovich *et al.*, 1997). Un claro ejemplo de como las ERO pueden tener un papel benéfico fue la observación de que el O_2 desempeñaba un rol importante en la infección por microbios, en donde su actividad puede ser comparada con la de un antibiótico de amplio espectro (Babior 1984). En plantas, la respuesta a la invasión por patógenos también involucra un desbalance redox que tiene que ver con un aumento transitorio de grandes cantidades de ERO (Doke 1997).

El estado de estrés oxidante generado por el incremento de ERO desempeña papeles diferentes, y en ocasiones opuestos, durante diferentes procesos celulares. Por ejemplo, el H_2O_2 puede actuar de una manera relevante en los procesos de transducción de señales por medio de la activación de NF- κ B, mientras que en condiciones patológicas de estrés oxidante el H_2O_2 puede inducir la apoptosis o la necrosis. El estado estable de los niveles de ERO en las células es crítico y es crucial para determinar si la célula debe incrementar los niveles de ERO o activar mecanismos que modulen la respuesta antioxidante celular.

Estrés oxidante y envejecimiento

Durante décadas se ha estudiado la relación que existe entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) con la acumulación de biomoléculas oxidadas, que son una de las características que se presentan durante el proceso de envejecimiento; esta propuesta es una de las más aceptadas para tratar de explicar la disminución en las funciones fisiológicas, bioquímicas y moleculares que se presentan en el envejecimiento y fue formulada por Harman en 1956.

Se han realizado una extensa cantidad de trabajos que apoyan esta teoría, entre ellos los realizados en nematodos, en donde se encontró que una mutación en una subunidad del complejo II de la cadena de transporte de electrones, la enzima succinato deshidrogenasa, incrementó la producción de ERO, se disminuyó la respiración y se acortó el tiempo de vida de este organismo especialmente en ambientes con altas concentraciones de oxígeno, demostrando una correlación entre las ERO y el tiempo de vida de un individuo (Ishii *et al.*, 1998); en otro trabajo, en donde se utilizó moscas como modelo de estudio, se encontró que al disminuirse los niveles de expresión de la enzima superóxido dismutasa tipo II (SOD2), la cual se encuentra localizada en la mitocondria, se disminuía la locomoción y el tiempo de vida (Martin *et al.*, 2009), mientras que al incrementarse los niveles de expresión de SOD2 se incrementa la longevidad de las moscas (Sun and Tower, 1999). En algunos trabajos en mamíferos se ha demostrado que al sobre-expresar la enzima catalasa en la mitocondria, reduce los niveles de estrés oxidante e incrementa el tiempo de vida. Sin embargo, la sobre-expresión de la catalasa en el núcleo o en los peroxisomas no afecta el tiempo de vida; se propone que la mitocondria es un participante muy importante en el metabolismo

oxidante y en la regulación del tiempo de vida de un organismo (Schriner *et al.*, 2005).

El estrés oxidante es uno de los eventos principales que se encuentra asociado con el daño celular estrechamente relacionado con la progresión de algunas enfermedades y con el envejecimiento. El daño ocasionado por las ERO es muy extenso e inespecífico y los mecanismos involucrados en la reparación del daño son ubicuos para proteínas, lípidos y DNA. Las proteínas oxidadas son reducidas por enzimas como la metionin sulfóxido reductasa (Alamuri y Maier, 2004) y la sestrina (Budanov *et al.*, 2004) o degradadas en sistemas especializados como lo es el proteosoma o los lisosomas, así como por diferentes proteasas. Los peróxidos de ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas son eliminados por la fosfolipasa A2 y reducidos a alcohol por la enzima glutatión peroxidasa (GPx); sin embargo, cuando los peróxidos reaccionan con metales complejos, se forman diferentes aldehídos como el malondialdehído y 4-hidroxinonenal, así como otros hidrocarburos como el etano y el pentano, todos ellos son productos finales del proceso de lipoperoxidación. Finalmente cabe destacar que estos aldehídos pueden reaccionar con los grupos tioles y amino de las proteínas lo que producirá un daño estructural y funcional de las proteínas. Entre los daños que se presentan en el DNA se encuentran los rompimientos de cadena, las modificaciones estructurales en las bases nitrogenadas y los diferentes tipos de mutaciones en la secuencia del DNA, éstas son reparadas por diferentes mecanismos como la unión de fragmentos terminales no homólogos (NHEJ), la recombinación homóloga (HR), la reparación por escisión de bases (BER), la reparación por escisión de nucleótidos (NER) y el sistema de reparación por mal apareamiento (MMR). Se ha reportado que la respuesta en la reparación del DNA juega un papel importante en la estabilidad del genoma, la activación de la apoptosis o la supervivencia y el envejecimiento prematuro.

Sistemas de reparación del DNA en el envejecimiento

El mantenimiento óptimo del DNA nuclear es crítico para el funcionamiento celular, es por ello que los organismos han desarrollado numerosos sistemas de reparación para los diferentes tipos de lesiones que se presentan en el DNA. Los rompimientos de doble cadena (DSB) y los rompimientos de cadena sen-

cilla (SSB) son reparados a través de los sistemas NHEJ y HR; mientras que los daños ocasionados por efecto de las ERO, en donde se producen aductos de DNA como lo son la 8-hidroxidesoxiguanosina, la timina glicol y algunos otros productos de alquilaciones, son reparados a través del sistema BER y NER (Lombard *et al.*, 2005). Finalmente las mutaciones que se presentan en la secuencia de DNA, que son detectadas como malos apareamientos de las cadenas homólogas del DNA, son reparadas por el sistema MMR. Cabe destacar que la diversidad de mutaciones, como lo son las inserciones, deleciones, transversiones y transiciones, pueden ser producto del estrés oxidante. Para la reparación del DNA existen diferentes pasos, el primero es la detección de las lesiones del DNA por sensores moleculares, en segundo lugar está la activación de proteínas de señalización que sirven de moléculas transductoras y finalmente el agrupamiento de las proteínas efectoras de la reparación del DNA. Las ERO producen al aducto 8-hidroxidesoxiguanosina y lesiones DSB, estas lesiones en el DNA son detectadas por dos enzimas muy importantes: la ataxia telangiectasia mutada (ATM), que es una de las proteínas mas importantes en la detección de lesiones DSB, y la 8-hidroxidesoxiguanosin DNA glicosilasa (Ogg-1), que se encarga de sensar al aducto 8-hidroxidesoxiguanosina, así como de activar al sistema BER. Se ha reportado que mutaciones en estas proteínas que participan en la reparación del DNA presentan fenotipos de envejecimiento prematuro.

Ataxia telangiectasia mutada (ATM)

ATM es uno de los principales guardianes de la integridad del genoma. Esta proteína cinasa multifuncional es la encargada de organizar intrincadas respuestas celulares al daño en DNA del tipo DSB. La ausencia o la disfunción de ATM origina desordenes genéticos pleiotrópicos, como la ataxia telangiectasia (AT), patologías relacionadas a la degeneración neuronal, inmunodeficiencia, envejecimiento prematuro y susceptibilidad al cáncer (Shiloh y Kastan, 2001). ATM se activa por la aparición de DSB y por la fosforilación de diferentes sustratos involucrados en las respuestas de reparación del DNA, la apoptosis y la detención del ciclo celular; por lo tanto, ATM es una molécula clave en la estabilidad del genoma, incluyendo la reparación del DNA y los sitios de regulación de la detención del ciclo celular. Recientemente se ha reportado que el estrés oxidante facilita la deficiencia en

la función de ATM, lo que sugiere que se encuentra involucrada en la respuesta antioxidante. La presencia de DSB activa a ATM mediante una autofosforilación en el residuo de Ser-1981, produciendo una disociación dimérica (Bakkenist y Kastan, 2003). Aunque el mecanismo preciso de activación de ATM es todavía incierto, se ha reportado que el complejo Mre11/Rad50/Nbs1 está involucrado en la autofosforilación de ATM (Lee y Paull, 2005). ATM activada es una cinasa que se caracteriza por fosforilar a la proteína fosfatidil inositol-3- cinasa (PI3K) en su región carboxilo terminal, además de fosforilar numerosas proteínas como H2AX, una de las isoformas de histonas que forman el nucleosoma como H2A, la proteína p53, la cual juega un papel importante en la respuesta celular a diferentes genotóxicos, puede ser fosforilada por ATM en el residuo Ser-15, lo cual tiene como consecuencia el incremento en la transcripción de diferentes genes involucrados en procesos como la detención en el ciclo celular, la apoptosis y la senescencia en respuesta al daño por DSB (Barzilai, 2007; Meek, 2004). Mutantes de diferentes moléculas involucradas en la estabilidad del genoma se han reportado por presentar fenotipos de envejecimiento prematuro. En ratones, la disfunción de Atm, DNA-PKcs, KU86, p53, Wrn y XpdTTd/XPA, las cuales participan en la respuesta de reparación del DNA, causan fenotipos de envejecimiento prematuro en diferentes tejidos y órganos, sugiriendo que las moléculas involucradas en la reparación del DNA tienen un papel importante en el proceso normal de envejecimiento. En los humanos, la patología de AT incluye entre sus características un envejecimiento acelerado. La inestabilidad genómica y defectos en la reparación del DNA como producto de la deficiencia de ATM podrían contribuir al fenotipo de envejecimiento prematuro, ya que ATM participa en el mantenimiento de los telómeros (Hande, 2004; Pandita, 2002). Se ha observado que células que presentan AT, muestran telómeros acortados, además de un incremento en las fusiones teloméricas. Pacientes con AT pueden presentar envejecimiento prematuro, al menos en parte, como consecuencia de la disfunción telomérica.

8-Hidroxi-desoxoguanosina-DNA glycosilasa (Ogg 1)

El daño en el DNA se ha relacionado con la etiología de diferentes enfermedades y el envejecimiento. La reparación de bases oxidadas en todos los organismos se lleva a cabo por medio del sistema de reparación BER. El punto principal en

el sistema BER es el reconocimiento de las bases oxidadas, que posteriormente serán removidas por una enzima DNA glicosilasa. Existen 2 tipos de DNA glicosilasas en los mamíferos, la OGG1 y una homóloga de la endonucleasa tipo III (NTH1), las cuales se ha descrito por tener una función en la remoción de daños oxidativos en las bases nitrogenadas (Hazra *et al.*, 2007). Los sustratos de estas DNA glicosilasas son altamente específicos, pero principalmente reconocen aductos de purinas y pirimidinas. NTH reconoce una gran cantidad de aductos de pirimidinas, como es el caso del aducto Timidina glycol, 5-hidroxidesoxicitosina, dihidrouracil y al menos otras 6 pirimidinas oxidadas. La OGG1 es la principal enzima que remueve los daños oxidantes en los residuos de guanina, entre los que destaca el aducto 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG). Se ha reportado que la capacidad de reparación del sistema BER se presenta disminuida en el envejecimiento, y que además se ha observado que en organismos envejecidos disminuye la actividad de OGG1. Consecuentemente con esta disminución en la actividad del sistema BER, se ha observado un incremento en los niveles de concentración del aducto 8-OHdG durante el envejecimiento (Chen *et al.*, 2003). Por otra parte, se ha reportado que en la enfermedad de Huntington, las mutaciones somáticas asociadas a la progresión de la enfermedad se originan en una acumulación del triplete CAG, esta acumulación, a su vez, se debe a una incapacidad del sistema para remover los daños en las bases oxidadas (Kovtun *et al.*, 2007). La acumulación del daño oxidativo debido a la acumulación del aducto 8-OHdG es dependiente del envejecimiento y podría ser la causa en el incremento de los tripletes CAG mediados por la reacción de reparación, lo que nos sugiere que la enfermedad de Huntington es dependiente de la edad.

MSH2

En nuestro equipo de trabajo, en un modelo murino de la cepa CD-1, se determinó que el daño oxidante en el DNA se incrementa en el envejecimiento. Estos daños oxidativos se presentan por la acumulación del aducto 8-OHdG y por la presencia de rompimientos del tipo SSB y DSB (López-Diazguerrero, 2005). Esta acumulación del daño en el DNA podría ser por una disminución en los niveles de expresión del sistema de reparación MMR, en donde la enzima MSH2 desempeña un papel fundamental durante la reparación del DNA. Los niveles de expre-

sión de la enzima MSH2 se observan disminuidos en diferentes tejidos como el hígado, corazón y ovario de ratones envejecidos de la cepa CD-1. La disminución en la expresión de MSH2 es el resultado de una regulación epigenética, en donde observamos que el promotor de la enzima MSH2 se encuentra metilado en mayores proporciones en los individuos envejecidos en comparación con los individuos sanos (Conde-Perezprina, 2008). Finalmente, en recientes trabajos de nuestro grupo observamos que existe una disminución en los niveles de expresión de la enzima MSH2 dependiente de la edad en dos diferentes tipos de murciélagos, *Desmodus Rotundus* (hematófago) y *Myotis* (insectívoro) y que esta disminución en la expresión de MSH2 tiene como consecuencia un incremento en el daño al DNA evaluado por la aparición de secuencias satelitales, que es un mecanismo alternativo para evaluar el daño oxidativo al DNA.

Conclusión

El estrés oxidante es un factor importante en la acumulación de biomoléculas oxidadas durante el proceso de envejecimiento. Los perjuicios que destacan en las biomoléculas es el daño al DNA, que puede presentarse en diferentes formas como la aparición de aductos, los rompimientos de SSB y DSB, así como los diferentes tipos de mutaciones. Los sistemas de reparación del DNA cuya disminución se ha observado durante el envejecimiento son el BER, MMR y la enzima ATM. Es evidente que la falla en los sistemas de reparación del DNA tiene consecuencias graves en el funcionamiento bioquímico, estructural y molecular de los individuos, lo que sin duda es una de las características del proceso del envejecimiento. ¿Cómo podremos disminuir los daños oxidantes al DNA? ¿Será esta la alternativa que estamos buscando para aminorar los efectos del envejecimiento? Son algunas de las cuestiones que debemos resolver para comprender el proceso del envejecimiento. Para ello es necesario que desarrollemos modelos biológicos en donde se pueda aumentar la respuesta para contrarrestar el daño oxidante al DNA, tal vez incrementando la expresión de enzimas como Ogg1, ATM o MSH2, o quizá tratando de disminuir los niveles de ERO o aumentando la respuesta antioxidante. Para ello podemos utilizar las herramientas moleculares con las que contamos hasta hoy. En los últimos tiempos han surgido nuevas estrategias para el estudio del envejecimiento, entre las que destacan los modelos horméticos que

se basan en adaptar los modelos biológicos a condiciones ligeras de estrés oxidante, lo que se ha observado es un incremento en la respuesta antioxidante que le confiere protección ante restos letales. Éstos y otros modelos por investigar son los que debemos desarrollar para generar más conocimiento sobre el proceso de envejecimiento.

Referencias

- Alamuri P, Maier RJ. Methionine sulphoxide reductase is an important antioxidant enzyme in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 2004; 53: 1397–1406.
- Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Inv*, 1984; 73: 599-601.
- Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB, Rhee SG. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*. 1997; 272: 217–221.
- Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 2003; 421: 499–506.
- Barzilai A. The contribution of the DNA damage response to neuronal viability. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9: 211–218.
- Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53- regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science* 2004; 304:596-600
- Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 1997, 6:391–397.
- Carmody RJ, Cotter TG. Signalling apoptosis: a radical approach. *Redox Rep*. 2001; 6:77–90.
- Chen SK, Hsieh WA, Tsai MH *et al*. Age-associated decrease of oxidative repair enzymes, human 8-oxoguanine DNA glycosylases (hOgg1), in human aging. *J Radiat Res* 2003; 44: 31–35.
- Conde-Perezprina JC, Luna-López A, López-Diazguerrero NE, Damián-Matsumura P, Zentella A, Königsberg M. Msh2 promoter region hypermethylation as a marker of aging-related deterioration in old retired female breeder mice. *Biogerontology* 2008; 9(5):325-334
- Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1999; 39: 67-101.

- Delaunay A, Isnard A, Toledano MB. H₂O₂ sensing through oxidation of the Yap1 transcription factor. *EMBO Journal*. 2000; 19: 5157-5166.
- Doke N, Scandalios JG. The oxidative burst: roles in signal transduction and plant stress. In: *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor. 1997; 785-813.
- Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol*. 1956; 11, 298-300.
- Gabbita SP, Robinson K, Stewart C, Floyd R, Hensley K. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2000; 376: 1-13.
- Ghosh JMC. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 1998; 95: 13182-13187.
- Halliwell B, Gutteridge J M C. *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.) Oxford University Press. 1999; pp. 1-42
- Hande MP. DNA repair factors and telomere-chromosome integrity in mammalian cells. *Cytogenet Genome Res* 2004; 104: 116-122.
- Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, Kow YW, Roy R. Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. *DNA Repair (Amst)* 2007; 6: 470-480.
- Ishii, N., Fujii, M., Hartman, P.S., Tsuda, M., Yasuda, K., Senoo-Matsuda, N., Yanase, S., Ayusawa, D., and Suzuki, K. A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 1998;394, 694-697.
- Jang HH, Surh YJ. Protective effects of resveratrol on β -amyloid induced oxidative PC12 cell death. *Free Radic Biol Med*. 2003;34:1100-10.
- Kiley PJ, Storz G. Exploiting thiol modifications. *PLoS Biol*. 2004; 2:1714-1717.
- Kim HJ, So YJ, Jang JH, Lee JS, Oh YJ, Surh YJ. Differential cell death induced by salsolinol with and without copper: possible role of reactive oxygen species. *Mol Pharmacol*. 2001;60:440-9
- Kovtun IV, Liu Y, Bjoras M, Klungland A, Wilson SH, McMurray CT. OGG1 initiates age-dependent CAG tri-nucleotide expansion in somatic cells. *Nature* 2007; 447: 447-452.
- Lee JH, Paull TT. ATM activation by DNA double-strand breaks through the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Science* 2005; 308: 551-554. 17
- Lee YJ, Galoforo SS, Berns CM, Chen JC, Davis BH, Sim JE, Corry PM, Spitz DR. Glucose deprivation-induced cytotoxicity and alterations in mitogen activated protein kinase activation are mediated by oxidative stress in multidrug-resistant human breast carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273: 5294-5299.

- Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, Franco S, Gostissa M, Alt FW. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell* 2005; 120: 497–512.
- López-Diazguerrero, NE, Luna-López A, Gutiérrez-Ruiz MC, Zentella Dehesa A, Konigsberg Fainstein M. Susceptibility of DNA to oxidative stressors in young and aging mice. *Life Sci* 2005; 77:2840-2854.
- Martin, I., Jones, M.A., Rhodenizer, D., Zheng, J., Warrick, J.M., Seroude, L., and Grotewiel, M. Sod2 knockdown in the musculature has whole organism consequences in *Drosophila*. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 47, 803–813.
- Meek DW. The p53 response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 2004; 3: 1049–1056.
- Miller D.M, Buettner GR, Aust SD. Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radic Biol. Med.* 1990;8: 95–108.
- Moradas-Ferreira P, Costa V. Adaptive response of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to reactive oxygen species: defenses, damage and death. *Redox Report.* 2000;5:277-285.
- Pandita TK. ATM function and telomere stability. *Oncogene* 2002; 21: 611–618.
- Paulovich AG, Toczysky DP, Hartwell LH. When checkpoints fail. *Cell.* 1997;88:315-321.
- Ruis H, Schuller C. Stress signaling in yeast. *BioEssays.* 1995;17: 959-965.
- Scandalios JG. Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Cold Spring Harbor Laboratory Press Plainview NY U.S.A. 1997; 240-425
- Scandalios JG. Genomic responses to oxidative stress. In: Meyers RA (Editor), *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*. Vol. 5. 2nd edn. Wiley-VCH Weinheim Germany. 2004;489-512.
- Schriner, S.E., Linford, N.J., Martin, G.M., Treuting, P., Ogburn, C.E., Emond, M., Coskun, P.E., Ladiges, W., Wolf, N., Van Remmen, H., *et al.* Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* 2005;308, 1909–1911.
- Shiloh Y, Kastan MB. ATM: genome stability, neuronal development, and cancer cross paths. *Adv Cancer Res* 2001; 83: 209–254.
- Storz G, Imlay JA. Oxidative stress. *Current Opin Microbiol.* 1999;2:188-194.
- Sun, J., and Tower, J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies. *Mol. Cell. Biol.* 1999;19, 216–228.
- Tohyama YTT, Yamamura HB. Cell responses to oxidative stress. *Curr Pharma Design.* 2004;10: 835–839.

3 El acetiloma y las sirtuinas: dos reguladores maestros del envejecimiento

Shaday Michán^{1,2} y Juan E. Castillo^{1,2}

Resumen

A partir del descubrimiento de que las proteínas no-histonas también se acetilan en los grupos amino-épsilon de las lisinas de manera reversible como HMG, alfa-tubulina y p53, una gran variedad de dianas se han añadido a la lista del proteoma que es dinámicamente regulado postraduccionalmente por este tipo de modificación y que en conjunto se denominan el “acetiloma”. Estudios recientes estiman que cerca de 3% de las proteínas totales y 20% de las proteínas mitocondriales en mamíferos forman el acetiloma, incluidos varios reguladores de la longevidad y enzimas que participan en las diversas vías metabólicas. Curiosamente, combustibles extracelulares como ácidos grasos, aminoácidos o glucosa modifican los niveles de acetilación y pueden afectar tanto la actividad enzimática como la estabilidad de las proteínas diana. Además, la restricción calórica, único régimen natural que consistentemente es capaz de retardar los efectos del envejecimiento en la mayoría de los modelos probados, también altera los niveles de acetilación global.

Las sirtuinas son una familia de genes conservados evolutivamente que regulan el envejecimiento y el acetiloma ya que codifican para enzimas con actividad de desacetilasa dependiente de NAD⁺. Los mamíferos poseen siete sirtuinas (SIRT1-SIRT7) con diferentes localizaciones subcelulares las cuales median el

¹ Departamento de Investigación Básica, Instituto de Geriátría (INGER), SSA, México DF.

² Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

detrimento de diversas funciones biológicas dependientes de la edad, incluyendo el deterioro cognitivo, el cáncer y la neurodegeneración. En este trabajo se discuten varios aspectos de la función de las sirtuinas y el acetiloma, y diferentes aproximaciones para estudiar como estas desacetilasas regulan el proteoma en el envejecimiento.

El acetiloma celular

La acetilación celular: de las histonas al proteoma

Desde hace más de cuarenta y cinco años se describió la acetilación de las histonas como un mecanismo regulador de la expresión génica (Allfrey *et al.*, 1964). Las lisinas localizadas en las colas amino-terminales de las histonas son susceptibles de ser modificadas reversiblemente por acetilasas (HATs) y desacetilasas (HDACs) de histonas, las cuales adicionan o sustraen, respectivamente, un grupo acetilo en dicho residuo de aminoácido. La acetilación neutraliza las cargas positivas de las histonas y disminuye la afinidad de éstas por el DNA de carga negativa, lo cual modifica la arquitectura de la cromatina y permite una mayor accesibilidad de la maquinaria transcripcional a los promotores, incrementando la transcripción. De manera opuesta, la desacetilación reconstituye la carga positiva de las lisinas y promueve una mayor interacción de las histonas con el DNA, promoviendo la condensación de la cromatina y el silenciamiento génico.

Diferentes estudios han demostrado que las modificaciones de la cromatina y por consecuencia de la expresión génica desempeñan un papel determinante en la fisiología de los seres vivos y regulan procesos desde el desarrollo hasta el envejecimiento. Diversas hipótesis, como la de la “Isla heterocromatínica”, sugieren que el envejecimiento es resultado de las alteraciones cromatínicas y transcripcionales que ocurren con el paso del tiempo (Vijg, 2004). Investigaciones en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han demostrado que los cambios epigenéticos son la principal causa del fenotipo envejecido y que la desacetilasa Sir2 desempeña funciones importantes que integran ambos eventos. Ésta mantiene silenciados los loci *HMR* y *HML* que determinan el tipo sexual en la levadura y también suprime la recombinación de las secuencias repetidas de DNA ribosomal, la cual genera círculos extracromosómicos que al acumularse en ésta causan el enve-

jecimiento. Diversas condiciones como el estrés oxidativo, el daño al DNA y el envejecimiento producen la relocalización de Sir2 en la cromatina, el desilenciamiento de los genes sexuales *HM* y la esterilidad del microorganismo, ésta última una característica típica de envejecimiento en levadura. Nuestro trabajo sugiere que de manera similar a *S. cerevisiae*, la desregulación en la expresión génica a consecuencia de la relocalización de los modificadores de la cromatina, también está asociada con el envejecimiento en mamíferos. El estrés oxidativo induce la relocalización del ortólogo de Sir2, SIRT1, en células troncales de ratón e induce la expresión de más de dos tercios de los genes que en condiciones normales se encuentran silenciados por SIRT1. Estos mismos genes también se desregulan con el envejecimiento en el cerebro de ratón y la sobre-expresión de SIRT1 retarda la pérdida del silenciamiento génico que experimentan los ratones viejos (Oberdoerffer *et al.*, 2008). Cambios en la expresión génica con el envejecimiento también se han reportado en el cerebro de humanos, el análisis del perfil transcripcional de la corteza frontal de sujetos entre 26 y 106 años reveló cambios en los niveles de expresión en 4% de 11 mil genes estudiados (Lu *et al.*, 2004).

Peleg *et al.* (2010) reportaron un mecanismo epigenético en ratones que asocia la acetilación de las histonas y los cambios de expresión génica con el deterioro cognitivo durante el envejecimiento. Sus estudios demostraron que ratones viejos (16 meses de edad) tenían alterada la memoria asociativa y espacial en comparación con animales jóvenes (3 meses de edad) o de mediana edad (8 meses). Este efecto se asoció a la falta tanto de un aumento transitorio de los niveles de acetilación de la H4K12 (lisina 12 de la histona 4) como a la modificación de la expresión génica en respuesta al estímulo en ratones viejos. Mientras que 2,229 genes fueron expresados diferencialmente en el hipocampo de los ratones jóvenes 1 h después del condicionamiento al miedo, sólo seis genes cambiaron su nivel de expresión en ratones viejos. Los altos niveles de expresión génica se correlacionaron con el aumento de la acetilación de H4K12 en toda la región codificante de los genes. Esto sugiere que en ratones viejos la disminución de la acetilación de H4K12 interfiere con la elongación transcripcional de 88% de los genes, mismos que en contraste sí se indujeron en los ratones jóvenes con el condicionamiento al miedo. Los niveles de acetilación de H4K12, la expresión génica y las capacidades de aprendizaje en ratones viejos en respuesta al condicionamiento clásico fueron restaurados mediante la infusión en el hipocampo de alguno de los dos inhibidores de HDACs tipo I y II, las cuales se describen en detalle más adelante, como

SAHA o butirato de sodio. En conjunto, estas investigaciones demuestran que la acetilación es uno de los mecanismos epigenéticos que regulan el detrimento de las funciones de los seres vivos dependiente de la edad.

Hemos sabido por largo tiempo que la acetilación desempeña un papel muy importante en la regulación epigenética; sin embargo, apenas estamos empezando a entender cómo ésta impacta al proteoma. En las proteínas se distinguen dos tipos de acetilaciones: la co-traducciona en el extremo N-alfa-terminal y la postraducciona en el grupo amino-épsilon de los residuos de lisina. La modificación del primer tipo se encuentra en 85% de las proteínas de eucariontes (Polevoda y Sherman, 2000) y aunque se ha relacionado con la estabilidad proteica, se conoce muy poco sobre sus repercusiones en las funciones celulares. A diferencia de la primera, la acetilación en el grupo amino-épsilon de las lisinas es reversible y se ha asociado con una gran variedad de procesos celulares relacionados con el envejecimiento.

El grupo de proteínas cromatínicas de alta movilidad no histonas (HMG) fueron las primeras que se reportaron acetiladas en los grupos amino-épsilon de lisinas (Sterner *et al.*, 1979). Años más tarde se reportó la alfa-tubulina (Hernault y Rosenbaum, 1985) y hace sólo 13 años se descubrió que p53 es regulado de manera reversible por acetilación en los residuos de lisinas (Gu y Roeder, 1997) y se identificó a la acetiltransferasa p300 como la responsable de dicha modificación. Ésta al interaccionar y acetilar las lisinas localizadas en la región C-terminal de p53, neutraliza las cargas positivas de los residuos lo que evita la interacción entre el dominio terminal y el de unión al DNA, confiriéndole al factor transcripcional una conformación activa. A partir del descubrimiento de la acetilación de p53, una diversidad de dianas se han añadido a la lista del proteoma acetilado o “acetiloma”, esto es, el conjunto de proteínas que son dinámicamente reguladas postraduccionalmente por acetilación reversible (Choudhary *et al.*, 2009).

Kim *et al.* (2006) realizaron el primer estudio proteómico para conocer el tamaño del acetiloma celular, el cual consistió en la inmunoprecipitación global de proteínas acetiladas con anticuerpos anti-acetil-lisina y la posterior identificación de los péptidos correspondientes con el uso de espectrometría de masas. Para esto se utilizaron células de cáncer cervicouterino, células HeLa, y mitocondrias aisladas del hígado de ratón. Los resultados demostraron la presencia de 388 sitios de acetilación en 195 proteínas, de los cuales 277 sitios correspondieron a 133 proteínas mitocondriales, 67 sitios a 37 proteínas del citosol y 81 sitios a 38

proteínas de la fracción nuclear. Estos experimentos permitieron identificar 195 proteínas acetiladas de las cuales únicamente 13 ya se habían reportado anteriormente.

Choudhary *et al.* (2009) encontraron 3600 sitios de acetilación en 1,750 proteínas utilizando tres líneas celulares humanas diferentes: la MV4-11 de leucemia mieloide aguda, la línea epitelial A549 y Jurkat de origen linfoide. Análisis ontológicos, basados en la clasificación de las funciones de las proteínas encontradas, muestran que el acetiloma está constituido por miembros que participan en diversos procesos celulares como la edición del RNA (ayuste), la regulación del ciclo celular, la remodelación de la cromatina y el citoesqueleto, y el transporte nuclear. Las tres líneas celulares compartieron 500 proteínas acetiladas y 710 sitios de acetilación, lo que sugiere una regulación diferencial del acetiloma dependiente del tipo celular.

Un tercer estudio realizado por Zhao *et al.* (2010) en células humanas de hígado reveló 703 proteínas más del acetiloma que no habían sido reportadas en los dos trabajos anteriores. En éste se identificaron enzimas acetiladas que participan en las vías metabólicas de la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos.

Liu *et al.* (2011) publicaron recientemente el Compendium of Protein Lysine Acetylation (CPLA), una base de datos que agrupa todas las proteínas acetiladas registradas en la literatura desde bacterias hasta mamíferos. Mientras que en procariontes el tamaño de los acetilomas reportados son de 91 proteínas para *E. coli* y de 191 para *Salmonella enterica* (Wang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2009), en mamíferos son de 3,311 proteínas con 7,151 lisinas diana. En los principales modelos biológicos de envejecimiento no se han realizado estudios globales del acetiloma por lo que son escasas las proteínas diana reportadas; por ejemplo, en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* se conocen únicamente cuatro proteínas acetiladas con funciones reguladoras de la expresión génica, de las cuales tres corresponden a proteínas que participan en la remodelación de la cromatina como la subunidad NURF-140 del factor remodelador de nucleosomas y las histonas H3 y H4, y la otra es el activador transcripcional dTCF. En el gusano *Caenorhabditis elegans* las proteínas acetiladas descritas a la fecha son la histona H2A, la alfa-tubulina, y la proteína pop-1 que forma parte de la vía de señalización Wnt. En la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se han reportado 44 proteínas dentro de las cuales algunas participan en el metabolismo de hidratos de carbono y otras en la regulación

transcripcional como son la histonas, las proteínas no-histonas remodeladoras de la cromatina y los activadores o represores transcripcionales.

En la actualidad se conocen más de 25 tipos de modificaciones postraduccionales reversibles e irreversibles que regulan la actividad, localización y estabilidad de las proteínas como la fosforilación, glicosilación, sumoilación, ubiquitinación, ADP-ribosilación, nitrosilación, hidroxilación, carbonilación y acetilación. De éstas, la fosforilación —descrita desde hace casi cien años— es la modificación proteica más estudiada. Sin embargo, los descubrimientos actuales sobre la acetilación de lisinas sugieren que esta última tiene un impacto celular comparable al de la fosforilación ya que la mayoría de las enzimas que participan en las diferentes vías metabólicas son modificadas por acetilaciones reversibles en sus lisinas. Además, tanto las proteínas como los sitios diana de acetilación se encuentran conservados desde bacterias hasta humanos. Por ejemplo, la acetil-coenzima A sintetasa (Acs) muestra un residuo acetilado conservado en bacterias como *E. coli*, en la levadura *S. cerevisiae*, y en mamíferos como el ratón *M. musculus* y el ser humano. También la alfa-tubulina presenta una lisina que se acetila en la posición 40 y la cual se encuentra conservada durante la evolución (Kim y Yang, 2010).

A la fecha se ha encontrado que el acetiloma humano está compuesto por 2,585 proteínas con 5,409 lisinas diana, mientras que el fosforiloma humano —de acuerdo con la base de datos de los sitios de fosforilación (PHOSIDA)— es de 8,283 proteínas con 24,262 sitios de fosforilación (Gnad *et al.*, 2011). El tamaño del acetiloma ha aumentado considerablemente en los últimos años y se estima que éste pudiera ser comparable con el del fosforiloma, siendo éstas dos las modificaciones postraduccionales más abundantes en la célula (figura 1).

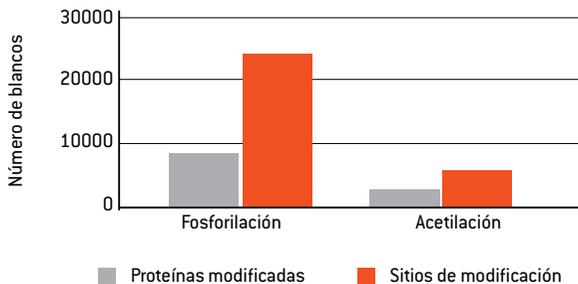


FIGURA 1. Comparación entre el número de blancos en el acetiloma y el fosforiloma humanos.

Regulación del acetiloma

La homeostasis del acetiloma celular es mantenida por las lisina-acetiltransferasas (KAT) y las lisina-desacetilasas (KDAC), originalmente conocidas como acetil-transferasas (HATs) y desacetilasas (HDACs) de histonas, respectivamente, las cuales se encuentran conservadas desde bacterias hasta el ser humano. La acetilación es mediada por la transferencia de un grupo acetilo proveniente de una molécula de acetil-coenzima A (Ac-CoA) al grupo amino-épsilon de un residuo de lisina. El proceso inverso consiste en la hidrólisis del grupo acetilo y para esta reacción se han identificado dos mecanismos mediados por las HDACs que se describen en la figura 2.

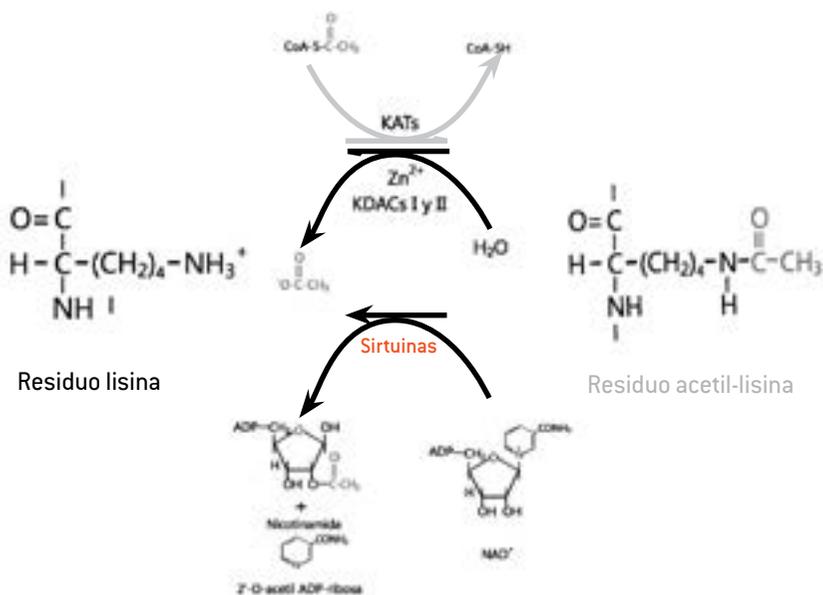


FIGURA 2. Regulación reversible del acetiloma. La flecha gris muestra la acetilación catalizada por una acetil-transferasa en la que se transfiere un grupo acetilo de una molécula de acetil-coenzima A (Ac-CoA) a un residuo de lisina. La reacción inversa mostrada en flechas negras cataliza la desacetilación de los residuos de lisina por medio de dos mecanismos diferentes. Las desacetilasas de lisinas de la clase I y II mostradas en la flecha negra superior utilizan zinc y producen acetato. A diferencia de lo anterior, las sirtuinas son dependientes de NAD⁺ y como subproductos de la reacción producen 2'-O-acetil ADP-ribosa y nicotinamida.

En mamíferos existen 18 desacetilasas de lisinas, las cuales de acuerdo a su homología se agrupan en cuatro clases, las HDACs I-IV. En la clase I se encuentran las HDACs 1, 2, 3 y 8 que presentan homología con la desacetilasa *Rpd3* de la levadura, son de expresión ubicua, se localizan en el núcleo y tienen un tamaño aproximado de 50 kDa (Mariadason, 2008). La clase II incluye los homólogos de la *Hda-1* de *S. cerevisiae* y se dividen en dos subclases, la IIa en la que se agrupan las HDACs 4, 5, 7 y 9; y la IIb en las que se encuentran las HDACs 6 y 10. Los miembros de la clase II tienen un tamaño promedio de 120-150 kDa y se expresan de manera diferencial en los tejidos. Por ejemplo, las HDAC4 y HDAC5 se expresan en cerebro, corazón y músculo esquelético y la HDAC6 en corazón, hígado, riñón y páncreas (Grozinger *et al.*, 1999). Los miembros de la clase IIa son núcleo-citoplasmáticos, mientras que dentro de la clase IIb, HDAC6 es únicamente citoplasmática y HDAC10 tiene ambas localizaciones (Guardiola y Yao, 2002). La HDAC11 forma la clase IV que no presenta homología con alguna de las otras.

Las clases I, II y IV son también conocidas como desacetilasas dependientes de zinc y presentan homología en el dominio de desacetilación por lo que comparten un mecanismo enzimático similar (Hernick y Fierke, 2005).

En la clase III se encuentran los siete miembros de la familia de las sirtuinas, SIRT1-7, homólogos del generontogen o gen de longevidad de levadura, *Sir2*. Estas desacetilasas son dependientes de NAD⁺ y como productos de la reacción generan 2'-O-acetil ADP-ribosa y nicotinamida (Hu *et al.*, 2008). Las sirtuinas se expresan en todos los tejidos. SIRT1 tiene localización núcleo-citoplásmica, es la más estudiada en los mamíferos y participa en múltiples funciones desde el ritmo circadiano y la regulación neuroendocrina hasta la hipertrofia cardiaca, tumorigénesis y el metabolismo energético. SIRT2 es citoplásmica y regula el ciclo celular, cáncer y diferenciación de oligodendroglia y adipocitos. SIRT3, SIRT4 y SIRT5 se encuentran en la mitocondria, sin embargo a SIRT4 únicamente se le ha detectado actividad de ADP-ribosil transferasa. SIRT6 se localiza en el núcleo y regula la homeostasis de la glucosa, la cromatina, la estabilidad genómica y los telómeros. SIRT7 está en el nucleolo y regula la apoptosis (Michan y Sinclair, 2007; Haigis y Sinclair, 2010).

El acetiloma en el envejecimiento

La acetilación de la lisinas en las proteínas es un regulador potencial del envejecimiento y de las enfermedades relacionadas con este proceso ya que distintos factores que regulan el “acetiloma” en la célula como las histonas desacetilasas I y II (HDACs), las sirtuinas y las histonas acetil-transferasas (HATs), también median el detrimento de diversas funciones biológicas dependientes de la edad, incluyendo el deterioro cognitivo, el cáncer y la neurodegeneración (Puri y Sartorelli, 2010). Modificaciones en el acetiloma también están relacionadas con la autofagia, mecanismo de degradación de los componentes intracelulares por la maquinaria lisosomal, el cual tiende a disminuir con el envejecimiento (Madeo *et al.*, 2010).

Desde 1935 McCay demostró que la restricción calórica incrementa la longevidad en mamíferos y varios de los principales cambios experimentados por esta dieta repercuten en el funcionamiento de las mitocondrias (McCay *et al.*, 1989). En el estudio de Kim *et al.* (2006) mencionado anteriormente, se observó que más de 20% de las proteínas mitocondriales del hígado de ratón se encontraban acetiladas. En 2009, Schwer *et al.* demostraron que cambios en los niveles de acetilación de las proteínas mitocondriales del hígado y tejido adiposo café (BAT) ocurrían bajo restricción calórica. Mientras que en el hígado aumentaron los niveles de acetilación, en el BAT disminuyeron. De las proteínas que se detectaron hiperacetiladas están las que participan en la generación de ATP, el ciclo de la urea, el metabolismo de lípidos, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la cadena de transporte de electrones.

Por otro lado Kendrick *et al.* (2010) demostraron cambios en acetilación de proteínas mitocondriales en ratones alimentados con una dieta alta en grasa. En esta condición detectaron acetilación en 193 proteínas de las cuales 90% participan en la regulación del metabolismo de aminoácidos, en el metabolismo de ácidos grasos, la glicólisis, la gluconeogénesis, las enzimas del ciclo del ácido tricarbóxico, la regulación redox y la respuesta al estrés. Además, Zhao *et al.* (2010) demostraron que combustibles extracelulares como los ácidos grasos, los aminoácidos o la glucosa pueden alterar el acetiloma.

En resumen, el acetiloma a nivel molecular es regulado directamente por las KDACs y KATs que en conjunto modifican los niveles de acetilación celular en respuesta a factores externos del medio, los cuales a su vez alteran el envejeci-

miento. A continuación discutiremos la función de las KATs tipo III o sirtuinas como reguladores maestros del acetiloma y del envejecimiento.

Las sirtuinas y sus dianas del acetiloma

Dentro de la célula los blancos de la sirtuinas incluyen proteínas localizadas en los diferentes compartimentos celulares como el núcleo, el citoplasma y la mitocondria, los cuales desempeñan diversas funciones, desde las que regulan la estabilidad genómica, la reparación del DNA y el cáncer —como XPA, CtBP, p53, p73, STAT3, NFkB y beta-catenina—, hasta proteínas que tienen papeles importantes en el metabolismo y el estrés oxidativo —como FOXOs 1-4, el activador de la lipogénesis SREBP-1c, malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa (Idh2), acil coenzima A deshidrogenasa de cadena larga (LCAD), pgc-1 alfa, la superóxido dismutasa mitocondrial y 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA sintasa (HMGCS2) (Michán y Sinclair, 2007; Haigis y Sinclair, 2010; figura 3).

Nuestros estudios en modelos murinos han demostrado que SIRT1 es esencial para las funciones cerebrales normales como la memoria, el aprendizaje y la plasticidad sináptica (Michan *et al.*, 2010). En enfermedades neurodegenerativas se han encontrado que las dianas del acetiloma regulados por sirtuinas desempeñan un papel central en el mecanismo molecular que subyace a dichas patologías como tau y el receptor de ácido retinoico. Min *et al.*, (2010) demostraron que la acetilación de tau hiperfosforilada impide su ubiquitinación y degradación vía el proteosoma, promoviendo la acumulación y la formación de ovillos neurofibrilares en ciertas regiones del cerebro, los cuales están asociados a las enfermedades de Alzheimer y de Parkinsonismo ligado al cromosoma 17. En este mismo estudio demostraron que la sobreexpresión de SIRT1 reduce los niveles totales de tau en células en cultivo.

Por otra parte, Donmez *et al.* (2010) utilizaron un modelo murino de Alzheimer y describieron que la activación de la transcripción mediada por SIRT1 protege contra esta enfermedad. El receptor de ácido retinoico desacetilado por SIRT1 activa directamente al gen ADAM10 cuyo producto es la alfa-secretasa. Esta última compite con la beta-secretasa para escindir al precursor de la proteína amiloide. Mientras que la actividad de la alpha-secretasa protege contra la formación de las placas neurofibrilares, la escisión de la beta-secretasa da origen a

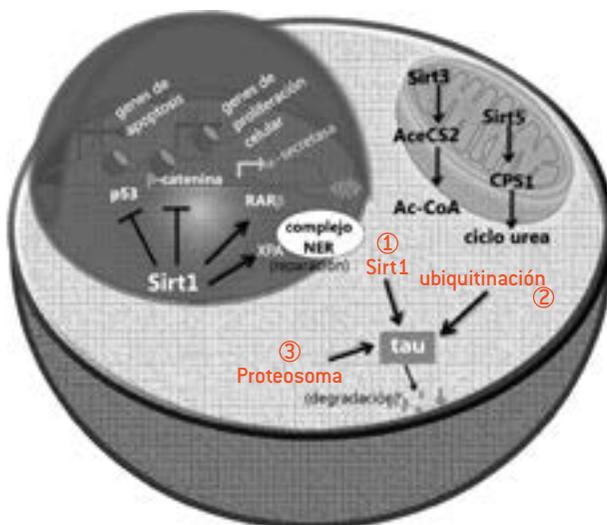


FIGURA 3. Regulación del acetiloma por las sirtuinas en diferentes compartimentos celulares. En el núcleo SIRT1 participa en la activación o inhibición de factores de transcripción como p53, β -catenina o el receptor de ácido retinoico (RAR β). En el citoplasma SIRT1 favorece la degradación de tau hiperfosforilada y en la mitocondria SIRT3 activa la síntesis de acetil-coenzima A mientras que SIRT5 regula el inicio del ciclo de la urea.

la formación de uno de los marcadores de esta enfermedad, los depósitos beta-amiloides.

Todo esto sugiere que cambios globales en la acetilación de la lisinas de las proteínas, o modificaciones en el acetiloma regulan el deterioro de las funciones celulares que experimentan los organismos con la edad, así como la longevidad y las enfermedades asociadas al envejecimiento. Se han estudiado en detalle cada una de las diversas proteínas que son dinámicamente acetiladas/desacetiladas en cuanto a las enzimas que las regulan, el efecto que esta modificación postraduccional tiene sobre ellas y su impacto funcional. Sin embargo, son contados los estudios globales sobre el acetiloma, se desconoce cómo se regula con el envejecimiento, cuáles de las sirtuinas median dichos cambios y si éste pudiera ser un biomarcador proteómico del envejecimiento.

TABLA 1. Proteínas diana de las sirtuinas

<i>Sustrato</i>	<i>Sirtuina</i>	<i>Tipo de regulación</i>	<i>Cita</i>
β -catenina	Sirt1	Inhibe su actividad transcripcional y evita la proliferación celular.	[Firestein <i>et al.</i> , 2008]
Tau	Sirt1	Permite su degradación por medio del proteosoma.	[Min <i>et al.</i> , 2010]
Xeroderma pigmentosum grupo A (XPA)	Sirt1	Activa el complejo de reparación por escisión de nucleótidos.	[Fan y Luo, 2010]
p53	Sirt1	Inhibe su actividad y la respuesta apoptótica dependiente de p53.	[Luo <i>et al.</i> , 2001]
Transductor de señales y activador de la transcripción 3 [STAT3]	Sirt1	Inhibe su regulación negativa durante la gluconeogénesis.	[Nie <i>et al.</i> , 2009]
Coactivador del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma-1 α (PGC-1 α)	Sirt1	Activa a este cofactor transcripcional e induce el metabolismo de ácidos grasos	[Gerhart-Hines <i>et al.</i> , 2007]
Receptor del ácido retinoico β (RAR β)	Sirt1	Activa al receptor y la transcripción del gen ADAM10 cuyo producto es un protector contra el Alzheimer	[Donmez <i>et al.</i> , 2010]
Acetil-coenzima A sintetasa 2 (AceCS2)	Sirt3	Activa la formación de acetil-coenzima A	[Hallows <i>et al.</i> , 2006]
Carbomoiil fosfato sintetasa 1 (CPS1)	Sirt5	Activa CPS1 y regula el ciclo de la urea	[Nakagawa <i>et al.</i> , 2009]

Con el desarrollo de las tecnologías ómicas —como la proteómica, que incluye la aplicación de la espectrometría de masas global (MS)— podemos actualmente obtener una “imagen global” del proteoma, analizar sus cambios postraduccionales en una condición determinada y estudiar cuáles de ellos son mediados por las sirtuinas u otras enzimas que regulan la homeostasis del mismo.

Perspectivas

La biología del envejecimiento es un campo de la investigación básica relativamente joven. En la actualidad hay una gran diversidad de metodologías de punta disponibles para explorar en detalle los procesos moleculares que subyacen al envejecimiento indispensables para abordar adecuadamente preguntas biogerontológicas fundamentales como: ¿cuáles son los mecanismos que regulan la prolongación del estado saludable durante el envejecimiento?, y ¿cómo influyen los distintos niveles de regulación de las funciones celulares en el envejecimiento como: la epigenética, transcripcional, postranscripcional, traduccional y postraduccional? De estas últimas, la fosforilación es la modificación postraduccional (PTM) reversible que se conoce con más detalle, en gran parte debido a la relativa facilidad de detección de la fosforilación de las proteínas *in vitro* y *in vivo*. Sin embargo, el desarrollo de la proteómica y el análisis de espectrometría de masas han permitido descubrir una gran variedad de PTMs reversibles, como la acetilación, metilación, ADP-ribosilación, glicosilación, ubiquitinación y sumoilación, todos estos mecanismos han emergido recientemente como reguladores potenciales del envejecimiento.

De éstos, la acetilación ha despertado gran interés ya que una extensa variedad de proteínas nucleares, citoplásmicas y mitocondriales son reguladas postraduccional y reversiblemente por acetilación, constituyendo una forma modificada del proteoma celular conocida como acetiloma, cuya homeostasis es mantenida por acetilasas y desacetilasas. Las sirtuinas, clasificadas dentro de estas últimas pero dependientes de NAD⁺ y los compuestos activadores o inhibidores de las mismas como el resveratrol, sirtinol, EX-357 y nicotinamida, regulan la acetilación de lisinas de las proteínas diana, así como también la longevidad y diversas funciones relacionadas con el envejecimiento como el aprendizaje, memoria, neurodegeneración, cáncer, inflamación y metabolismo. Además, las sirtuinas parecen mediar varios de los efectos positivos de la restricción calórica en el retraso de los procesos de envejecimiento. Si bien, varios blancos nucleares y citoplásmicos se han descrito de la SIRT1, la sirtuina más estudiada de mamíferos, y otros tantos mitocondriales de la SIRT3, la acetilación/desacetilación de cada uno de ellos se ha analizado de manera independiente (tabla 1). Sin embargo, por medio de la implementación de tecnologías de punta como la proteómica es factible realizar el análisis simultáneo de múltiples componentes acetilados del proteoma, lo cual

permite identificar nuevas dianas y resulta una aproximación experimental altamente informativa, global e integral sobre la dinámica del acetiloma celular en el envejecimiento.

Referencias

- Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1964;51:786-794.
- Choudhary C, Kumar C, Gnäd F, *et al.* Lysine Acetylation Targets Protein Complexes and Co-Regulates Major Cellular Functions. *Science*. 2009;325(5942):834-840.
- Donmez G, Wang D, Cohen DE, Guarente L. SIRT1 suppresses beta-amyloid production by activating the alpha-secretase gene ADAM10. *Cell*. 2010;142(2):320-332.
- Fan W, Luo J. SIRT1 Regulates UV-Induced DNA Repair through Deacetylating XPA. *Mol Cell*. 2010;39(2):247-258.
- Firestein R, Blander G, Michan S, *et al.* The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS one*. 2008;3(4).
- Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, *et al.* Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1alpha. *The EMBO journal*. 2007;26(7):1913-1923.
- Gnäd F, Gunawardena J, Mann M. PHOSIDA 2011: the posttranslational modification database. *Nucleic acids research*. 2011;39(Database issue):D253-D260.
- Grozinger CM, Hassig CA, Schreiber SL. Three proteins define a class of human histone deacetylases related to yeast Hda1p. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(9):4868-4873.
- Gu W, Roeder R. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell*. 1997;90(4):595-606.
- Guardiola AR, Yao T-PP. Molecular cloning and characterization of a novel histone deacetylase HDAC10. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(5):3350-3356.
- Haigis, M. C., & Sinclair, D. A. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annual review of pathology*. 2010;5 (1): 253-295.
- Hallows WC, Lee S, Denu JM. Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(27):10230-10235.
- Hernick M, Fierke CA. Zinc hydrolases: the mechanisms of zinc-dependent deacetylases. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2005;433(1):71-84.

- Hu P, Wang S, Zhang Y. Highly dissociative and concerted mechanism for the nicotinamide cleavage reaction in Sir2Tm enzyme suggested by ab initio QM/MM molecular dynamics simulations. *Journal of the American Chemical Society*. 2008;130(49):16721-16728.
- Kendrick AA, Choudhury M, Rahman SMM, *et al.* Fatty liver is associated with reduced SIRT3 activity and mitochondrial protein hyperacetylation. *The Biochemical Journal*. 2011; 433: 505-514.
- Kim G-WW, Yang X-JJ. Comprehensive lysine acetylomes emerging from bacteria to humans. *Trends in Biochemical Sciences*. 2011;36(4): 211-220.
- Kim SCC, Sprung R, Chen Y, *et al.* Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Molecular cell*. 2006;23(4):607-618.
- L'Hernault, S. W., & Rosenbaum, J. L. Chlamydomonas alpha-tubulin is posttranslationally modified by acetylation on the epsilon-amino group of a lysine. *Biochemistry*, 1985;24(2): 473-478.
- Liu Z, Cao J, Gao X, *et al.* CPLA 1.0: an integrated database of protein lysine acetylation. *Nucleic acids research*. 2011;39 (Database issue).
- Lu T, Pan Y, Kao S-YY, *et al.* Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature*. 2004;429(6994):883-891.
- Luo J, Nikolaev A, Imai S, *et al.* Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell*. 2001;107(2):137-148.
- Madeo, F., Tavernarakis, N., & Kroemer, G. Can autophagy promote longevity? *Nature Cell Biology*. 2010;12 (9), 842-846.
- Mariadason JM. HDACs and HDAC inhibitors in colon cancer. *Epigenetics*. 2008;3(1):28-37.
- McCay C, Crowell M, Maynard L. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.). 1989;5(3).
- Michan, S., Li, Y., Chou, M. M., Parrella, E., Ge, H., Long, J. M., Allard, J. S., Lewis, K., Miller, M., Xu, W., Mervis, R. F., Chen, J., Guerin, K. I., Smith, L. E. H., McBurney, M. W., Sinclair, D. A., Baudry, M., de Cabo, R., & Longo, V. D. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. *The Journal of Neuroscience*. 2010;30 (29), 9695-9707.
- Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *The Biochemical journal*. 2007;404(1):1-13.
- Min S-WW, Cho S-HH, Zhou Y, *et al.* Acetylation of tau inhibits its degradation and contributes to tauopathy. *Neuron*. 2010;67(6):953-966.
- Nakagawa T, Lomb DJ, Haigis MC, Guarente L. SIRT5 Deacetylates Carbamoyl Phosphate Synthetase 1 and Regulates the Urea Cycle. *Cell*. 2009;137(3):560-570.

- Nie Y, Erion DM, Yuan Z, *et al.* STAT3 inhibition of gluconeogenesis is downregulated by SirT1. *Nature cell biology.* 2009;11(4):492-500.
- Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, *et al.* SIRT1 Redistribution on Chromatin Promotes Genomic Stability but Alters Gene Expression during Aging. *Cell.* 2008;135(5):907-918.
- Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, *et al.* Altered Histone Acetylation Is Associated with Age-Dependent Memory Impairment in Mice. *Science.* 2010;328(5979):753-756.
- Polevoda B, Sherman F. Nalpha -terminal acetylation of eukaryotic proteins. *The Journal of Biological Chemistry.* 2000;275(47):36479-36482.
- Puri PL, Sartorelli V. HDACs and sirtuins: Targets for new pharmacological interventions in human diseases. *Pharmacological Research.* 2010;62(1):1-2.
- Schwer B, Eckersdorff M, Li Y, *et al.* Calorie restriction alters mitochondrial protein acetylation. *Aging Cell.* 2009;8(5):604-606.
- Sterner, R., Vidali, G., & Allfrey, V. G. Studies of acetylation and deacetylation in high mobility group proteins. identification of the sites of acetylation in HMG-1. *Journal of Biological Chemistry.* 1979; 254 (22):11577-11583.
- Vijg J. Impact of genome instability on transcription regulation of aging and senescence. *Mechanisms of ageing and development.* 2004;125(10-11):747-753.
- Wang Q, Zhang Y, Yang C, *et al.* Acetylation of metabolic enzymes coordinates carbon source utilization and metabolic flux. *Science (New York, N.Y.).* 2010;327(5968):1004-1007.
- Zhang J, Sprung R, Pei J, *et al.* Lysine acetylation is a highly abundant and evolutionarily conserved modification in Escherichia coli. *Molecular & cellular proteomics : MCP.* 2009;8(2):215-225.
- Zhao S, Xu W, Jiang W, *et al.* Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science (New York, N.Y.).* 2010;327(5968):1000-1004.

4 Sirtuina 1: papel en el envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer

*Mercè Pallàs Lliberia,¹ Andrés Jiménez,¹ David Porquet,¹
Anna M. Canudas¹ y Jaume del Valle¹*

Resumen

La alteración de vías neuronales es una de las causas que se relaciona con el envejecimiento cerebral y los procesos neurodegenerativos ligados al envejecimiento, que incrementan de forma dramática la incidencia de patologías neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer.

Se ha demostrado que la activación de la familia de las sirtuinas familia de deacetilinas participa en el proceso de senescencia en diferentes especies. La sirtuina 1 se ha caracterizado en los últimos años como una proteína reguladora clave en la supervivencia que se activa con sustancias como el resveratrol o por modificaciones en el estilo de vida, como la restricción calórica o el ejercicio. Se conoce que los efectos beneficiosos pueden ser, en parte, debido a la regulación del metabolismo celular y de la tolerancia al estrés, y desde hace poco se la relaciona con el proceso de autofagia. En este capítulo se abordan estos dos mecanismos, la vía de la sirtuina y la autofagia, su papel en neurodegeneración y sus posibilidades como dianas profilácticas o terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas.

¹ Unidad de Farmacología y Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona y CIBERNED. España

Introducción

El envejecimiento de la población y los fenómenos migratorios son los hechos sociológicos más importantes en este inicio del siglo XXI.

El envejecimiento poblacional empieza a ser un hecho consustancial a los países desarrollados. La consecuencia inmediata es el incremento de los problemas sociosanitarios a los cuales contribuyen los siguientes aspectos:

1. Alto índice de envejecimiento poblacional.
2. Existencia de enfermedades asociadas de tipo crónico e incapacitantes.
3. Elevado gasto sanitario en farmacia y en atención médica.

Hacer frente a las enfermedades relacionadas con el envejecimiento requiere desarrollar el conocimiento de la predisposición genética individual y avanzar en los métodos de diagnóstico precoz, así como en la instauración de tratamientos eficaces.

Para ello resulta esencial, en primer lugar, investigar los cambios que se producen en el envejecimiento fisiológico y, por otro lado, los que se desarrollan en las enfermedades degenerativas asociadas a la edad, como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, las patologías autoinmunes y los procesos neurodegenerativos.

En el sistema nervioso es difícil diferenciar lo que es el envejecimiento normal del patológico, en concreto, a nivel cerebral. Durante el envejecimiento normal, el cerebro sufre cambios morfológicos y funcionales que afectan a la neurotransmisión, la sinapsis, las neuronas, los árboles dendríticos, la circulación y el metabolismo. Dichos cambios se reflejan en alteraciones de los sistemas motores y sensoriales, en el sueño, la memoria y el aprendizaje (Mariani y col., 2005).

Muchas de estas alteraciones son características de enfermedades como el Alzheimer o el Parkinson, la diferencia con los casos no patológicos es eminentemente cuantitativa (Delacourte, 2002a). La edad desempeña un papel fundamental en las enfermedades neurodegenerativas. Un ejemplo lo constituye la enfermedad de Alzheimer cuya incidencia aumenta de forma exponencial con la edad, doblándose aproximadamente cada cinco años a partir de los 65 de edad.

Envejecimiento y neurodegeneración

Está ampliamente descrito que tanto en el envejecimiento normal como en las enfermedades neurodegenerativas se produce un incremento del estrés oxidativo y una disfunción mitocondrial, que estarían involucrados en la degeneración de neuronas hipocámpales que desempeñan un papel importante en la pérdida de función cognitiva asociada al envejecimiento (Lin y Beal, 2006). Es necesario destacar que el efecto del envejecimiento producido por el estrés oxidativo afecta principalmente a células post-mitóticas como son las neuronas, células cardíacas y de la matriz extracelular, causando defectos en la difusión y comunicación intercelular (Brunk y Terman, 2002).

En las neuronas o en el intersticio de los cerebros de los ancianos considerados normales en su rendimiento intelectual, se encuentran lesiones con acúmulos de pigmentos lipídicos, degeneración neurofibrilar, placas neuríticas y β -amiloide oligomerizado.

La gran mayoría de las enfermedades neurodegenerativas se caracteriza patológicamente por la acumulación de unos agregados filamentosos insolubles procedentes de proteínas solubles del sistema nervioso central. En el año 1907, Alois Alzheimer describió por primera vez la presencia de unas placas seniles, formadas por agregados de β -amiloide y ovillos neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada, en el neocórtex y en el hipocampo de una paciente que presentaba una pérdida de memoria y un progresivo deterioro de las funciones cognitivas (Alzheimer, 1907).

A la agregación extracelular de péptido β -amiloide, formando placas seniles se le denomina amiloidosis. El péptido β -amiloide se genera a partir de la proteína precursora de amiloide (APP), siendo de pequeño tamaño, aproximadamente de unos 4 kDa (Beyreuther y Masters, 1991). La APP es una glicoproteína que puede ser procesada proteolíticamente por dos vías competitivas, la no amiloidogénica y la amiloidogénica (Kang y col., 1987). Este procesamiento de la APP se realiza mediante la intervención de α , β y γ secretasas. En la vía no amiloidogénica la α -secretasa corta dentro del dominio $A\beta$ de la APP y se produce el ectodominio α -APP soluble y el fragmento C83 anclado a la membrana. Por esta vía se excluye la formación de amiloide β generando fragmentos no amiloidogénicos y una forma de APP que es secretada (Kang y col., 1987; Verdile y col., 2007). En la vía amiloidogénica la β -secretasa libera otras formas solubles, la β -APPs y una región

carboxilo terminal que contiene el dominio β -amiloide. El paso final de esta vía amiloidogénica es la proteólisis por la γ -secretasa que libera péptidos β -amilodes de diferentes tamaños. Las formas más largas, de 42 y 43 aminoácidos ($A\beta$ -42 y $A\beta$ -43), se agregan dando lugar a la formación de las placas seniles (Kang y col., 1987; Verdile y col., 2007). Las formas más cortas, de 39 y 40 aminoácidos ($A\beta$ -39 y $A\beta$ -40), se pueden acumular alrededor de los vasos sanguíneos (Prelli y col., 1988) generando lo que se conoce como angiopatía amiloidea cerebral. El β -amiloide además de encontrarse formando depósitos, también se puede hallar en forma soluble en el plasma y en el líquido cefalorraquídeo de los enfermos y de individuos normales.

La taupatía consiste en la asociación intracelular de proteína tau en filamentos anómalos (Goedert, 1999). La proteína tau está asociada a la formación de los microtúbulos que mantienen la estabilidad estructural de las neuronas y sirven de soporte en el transporte axonal. Esta proteína contiene un gran número de serinas y treoninas, muchas de las cuales están fosforiladas en condiciones fisiológicas normales. Bajo condiciones patológicas tau comienza a hiperfosforilarse, esta modificación post-traducciona reduce la unión de tau a los microtúbulos favoreciendo su desestructuración. Con la pérdida de la funcionalidad de tau, disminuye la neurotransmisión y el axón pierde su morfología, lo que conduce a que la neurona degenera (Grundke-Iqbal y col., 1986; Lee y col., 2005). No obstante, estudios realizados en humanos, han revelado que una gran mayoría de personas mayores de 75 años, sin padecer demencia, presentan taupatía en la corteza entorrinal que se extiende a otras partes del cerebro a medida que avanza la edad (Delacourte y col., 2002a). Ello demuestra que, a diferencia de la amiloidosis que sólo se encuentra de forma consistente en condiciones patológicas, las agregaciones de tau son un buen biomarcador para el estudio del envejecimiento ya que también aparecen en condiciones fisiológicas en la senescencia (figura 1).

La hiperfosforilación de tau está mediada por varias cinasas, fundamentalmente cinasa dependiente de ciclina 5 (Cdk5) y cinasa de la glicógeno sintasa 3β (Glycogen synthase kinase 3β , GSK3 β). La activación de Cdk5 está regulada por dos proteínas p35 y p39, que son sustrato de las calpaínas que las proteoliza a p25 o p29 respectivamente, confiriendo actividad cinasa a Cdk5 (Pei y col., 1998). GSK3 β ve modulada su actividad por fosforilaciones o bien por formación de complejos (Cohen y Frame, 2001).

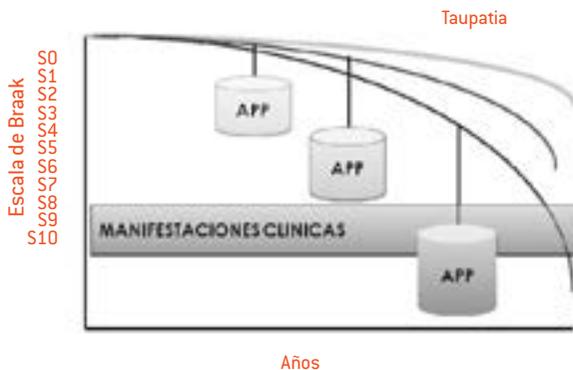


FIGURA 1. Correlación entre tau y acumulación de APP con la enfermedad de Alzheimer (Modificado de Delacourte y col. 2002b).

Sirtuinas

Las sirtuinas son una familia de desacetilasas dependientes de NAD^+ . Las sirtuinas están sorprendentemente conservadas a lo largo de la evolución, desde levaduras a organismos eucariotas, hecho que indica que estas proteínas tienen un papel vital en los procesos fisiológicos. El primer miembro descubierto fue la proteína reguladora 2 del silenciamiento de información o Sir2 de *Saccharomyces cerevisiae*, su función principal es la de desacetilar los residuos de lisina de las histonas provocando la compactación de la cromatina (Blander y Guarente, 2004).

En humanos se han descrito siete sirtuinas con una alta homología entre ellas. Todas comparten un dominio catalítico formado por un dominio de unión a NAD^+ y otro de unión al sustrato acetil-lisina. Además, todas tienen dominios variables en los extremos amino y carboxiterminales que regulan su localización subcelular y su actividad catalítica (North y Verdin, 2004). Tienen diferentes localizaciones subcelulares, las SIRT1, 3, 6 y 7 son nucleares, y entre ellas la SIRT7 se encuentra en el nucléolo, y la SIRT6 en la heterocromatina. La SIRT2 se encuentra normalmente en el citoplasma, aunque durante la fase G2/M se une a la cromatina del núcleo. La SIRT3 además de en el núcleo, también se encuentra en la mitocondria juntamente con SIRT4 y 5 (Yamamoto y col., 2007).

Las sirtuinas ejercen diferentes funciones protectoras a nivel de mecanismos relacionados con la muerte neuronal. Una de esas acciones es a través de la modificación de la cromatina ya que la desacetilación de las histonas permite su metilación, silenciando la cromatina y a su vez, en algunos casos, permitiendo la reparación del DNA (Fernández-Capetillo y Nussenzweig, 2004).

Sirtuina 1 regula varios procesos en mamíferos como la muerte celular, la autofagia, la reparación del DNA, los ritmos circadianos, el metabolismo y la neurodegeneración. Es posible la modulación de la actividad sirtuina mediante resveratrol o bien por reducción del aporte calórico. En respuesta al daño del DNA por estrés oxidativo, sirtuina 1 desacetila p53, este gen supresor de tumores a través del incremento de la transcripción de sus genes diana regula procesos de senescencia y muerte celular en respuesta a diferentes estímulos. La desacetilación de p53 por sirtuina 1, provoca su desactivación, reprimiendo la apoptosis dependiente de p53. Otros sustratos implicados en la reparación del DNA están también regulados por sirtuina 1. Por ejemplo sirtuina 1 desacetila la proteína reparadora del DNA Ku70, induciendo a que éste interaccione con Bax, impidiendo así que esta proteína proapoptótica se integre en la mitocondria y que se active la vía intrínseca de muerte celular por apoptosis (Jeong y col., 2007).

Por otra parte, sirtuina 1 regula la acción de la familia de factores de transcripción FoxO, que regulan por transactivación la función de p53 (Brunte y col., 2004). Los factores de transcripción FoxO (1, 3, 4 y 6) inducen la transcripción de diferentes genes implicados en respuesta al estrés y supervivencia, incluyendo proteínas reparadoras del DNA, estrés oxidativo (Mn SOD), inhibición de la entrada en el ciclo celular (p27kip1) y apoptosis (BIM). En general, sirtuina 1 favorece señales de supervivencia reguladas a través de FoxO.

Además, sirtuina1 puede inhibir la muerte celular modulando la actividad NF- κ B, proteína que puede conducir a la apoptosis mediando sobre todo procesos inflamatorios. Dado que, como hemos mencionado, en el envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer existe un incremento en la transcripción de genes ligados a la respuesta inflamatoria en el cerebro, la activación de sirtuina 1 produce una atenuación de dicha sobreexpresión, en parte debido al bloqueo de las acciones proinflamatorias de NF κ B (Quivy y Van., 2004).

En relación a la formación de placas de β -amiloide, tanto durante el proceso de envejecimiento como en la enfermedad de Alzheimer, es de especial importancia mencionar la relación que se ha establecido entre la actividad de sirtuina

1 y el incremento en la activación de las α -secretasas, proteasas implicadas en el correcto procesamiento del APP (Quin y col., 2006). En algunos modelos de envejecimiento se ha demostrado niveles reducidos de ADAM10, un miembro de la familia de las α -secretasas (Gutiérrez-Cuesta y col., 2009). Este fenómeno se correlaciona con una mayor expresión de los oligómeros de APP-as que son agregaciones solubles de A β que se producen en las primeras fases de la enfermedad de Alzheimer (Lacor y col., 2004). Concretamente, sirtuina 1 desacetila y activa el receptor del ácido retinoico (RAR β), que una vez desacetilado estimula la transcripción del gen *ADAM10* que codifica para α -secretasa. El incremento de esta α -secretasa, favorece la vía no amiloidogénica del procesamiento de APP, y por tanto disminuye la producción de β -amiloide y su agregación (Tippmann y col., 2009).

En cuanto a la participación de sirtuina 1 en la hiperfosforilación de tau, otra de las características histopatológicas de la enfermedad de Alzheimer, se ha demostrado que la activación de esta desacetilasa en ratones que sobreexpresan la p25 humana, por ejemplo con resveratrol, se traduce en una reducción de la hiperfosforilación de la proteína tau, una reducción del daño en hipocampo y una mejora en el proceso de cognición en estos animales (Karuppagounder y col., 2009).

Una posible hipótesis que explicaría por qué en la enfermedad de Alzheimer se produce una inhibición de la sirtuina 1, sería el hecho de que se ha demostrado que en las zonas cerebrales más afectadas por la enfermedad se produce una glucólisis aeróbica, lo que produce una depleción importante de los niveles de NAD⁺ que provoca la inhibición de sirtuina 1 (recordemos que es una deacetilasa dependiente de NAD⁺). La inactivación de sirtuina 1 producirá el desequilibrio en el procesamiento de APP hacia la vía amiloidogénica, la oligomerización de amiloide y su agregación, provocando la disfunción neuronal y en última instancia el deterioro cognitivo (Bonda y col., 2011).

Recientemente se ha demostrado que la activación de la sirtuina, con resveratrol o con restricción calórica, es capaz de activar la autofagia, de forma independiente a mTOR o p53 y, por tanto, se postula que la acción pro-longevidad de la vía sirtuina se produce en parte a través de la autofagia celular (Morselli y col., 2010).

Autofagia y neurodegeneración

La autofagia o autodigestión celular es una ruta implicada en la degradación de proteínas y orgánulos que puede ser importante en la patogenia de algunas enfermedades (Oshumi, 2001; He y Klionsky, 2009). Disfunciones en el proceso de autofagia se asocian con cáncer, neurodegeneración, infección y envejecimiento (Madeo y col., 2010). Paradójicamente aunque la autofagia es un proceso de autodigestión celular y a primera vista, así como durante mucho tiempo, se podría considerar un proceso de muerte celular, la autofagia es un proceso protector de la célula (Kroemer y Levine, 2008).

No parece lógico que un proceso de autodigestión pueda ser beneficioso, pero en casos de falta de nutrientes la célula se ve obligada a utilizar sus propios recursos para sobrevivir. Así, por ejemplo, en la vida diaria durante los periodos de ayuno entre las comidas, la autofagia se activa en el hígado para mantener sus funciones metabólicas (Mizushima y Klionsky, 2007). Existen varios tipos de autofagia entre los que se encuentran la macroautofagia, la microautofagia y la autofagia mediada por chaperonas (CMA: chaperone mediated autofagia). En la microautofagia se fagocitan grandes estructuras celulares a través de mecanismos selectivos, mientras que en la macroautofagia se fagocitan de forma no selectiva. La autofagia mediada por chaperonas es responsable de la degradación selectiva únicamente de proteínas solubles.

La autofagia aumenta la supervivencia celular en estados de privación de nutrientes o de factores de crecimiento, de estrés del retículo endoplásmico, de desarrollo, de infección microbiana y de enfermedad por acumulación de agregados de proteínas (Tasdenir y col., 2008). El estrés metabólico es común en los procesos neurodegenerativos —como hemos visto—, lo cual aumentaría la autofagia y, en consecuencia, podría aumentar la supervivencia celular (Morselli y col., 2009). Experimentos bloqueando genes asociados con la autofagia parecen acelerar la muerte celular; sin embargo, existen excepciones como la activación descontrolada de la proteína beclina 1, involucrada en la autofagia, que produce un aumento de la muerte celular (Boya y col. 2005; González-Polo y col., 2005). Esto puede deberse a una activación de la apoptosis o a una degradación masiva de contenido citoplasmático. Las interrelaciones entre la autofagia que funciona primariamente como mecanismo de supervivencia celular y la apoptosis, que es una ruta que conduce inevitablemente a la muerte celular, son complejas (Gon-

zález-Polo y col., 2005; Wu y col., 2009). Los dos mecanismos son regulados por factores comunes, comparten componentes y se influyen mutuamente. Muchas señales de activación de apoptosis inducen también autofagia y existen señales que inhiben ambos procesos (Galluzi y col., 2008a). Hasta ahora los intrincados mecanismos moleculares entre ambos están aún por determinar.

La macroautofagia y la autofagia mediada por chaperonas (CMA) también disminuyen con la edad (Galluzi y col., 2008b). Esto indica que la autofagia es un proceso clave en el envejecimiento. De esta forma existen modelos de ratón con la autofagia alterada en los que el fenotipo de envejecimiento es dramático (Hara y col., 2006; Komatsu y col., 2006). En la misma dirección existen experimentos en los que la restricción calórica reduce el envejecimiento, probablemente debido a los bajos niveles de insulina que tienen una acción activadora de la autofagia (Young y col., 2009). Este estado de privación de nutrientes estimulador de la autofagia es también el objetivo de algunos nuevos tratamientos anti-envejecimiento basados en fármacos anti-lipolíticos o por ejemplo la acción longeva de la restricción calórica (Kaeberlein, 2008).

Cada vez aparecen más evidencias que demuestran la existencia de alteraciones en los procesos de autofagia en muchas enfermedades neurodegenerativas. Es especialmente necesaria en tejidos en los que las células no se dividen tras la diferenciación, como es el caso de neuronas o miocitos (Carreira y col., 2010). Una característica común del envejecimiento celular es la acumulación de proteínas y orgánulos dañados. Estos depósitos alterados son especialmente negativos en las células diferenciadas. Estudios recientes demuestran que la degradación de proteínas mutadas que se generan en muchas enfermedades neurodegenerativas es muy dependiente de la autofagia. Entre ellas las proteínas que contienen secuencias de poliglutamina causantes de enfermedades como el Huntington o la ataxia espinocerebelosa y las formas de alfa-sinucleína que causan el Parkinson familiar (Rubisztein y col., 2006; Madeo y col., 2009). En la enfermedad de Alzheimer se han observado alteraciones en los procesos de autofagia (Ling y Salvaterra, 2009). En las neuritis distróficas que aparecen en la enfermedad de Alzheimer parece producirse una acumulación de estructuras de tipo autofagosomas que no acaban de madurar hacia autolisosomas, porque no se unen a lisosomas (figura 2). Además el β -amiloides puede producirse en estas estructuras ya que contienen las proteasas necesarias para su producción en los restos de retículo endoplásmico secuestrado que contienen (Ling y Salvaterra, 2009, 2011).

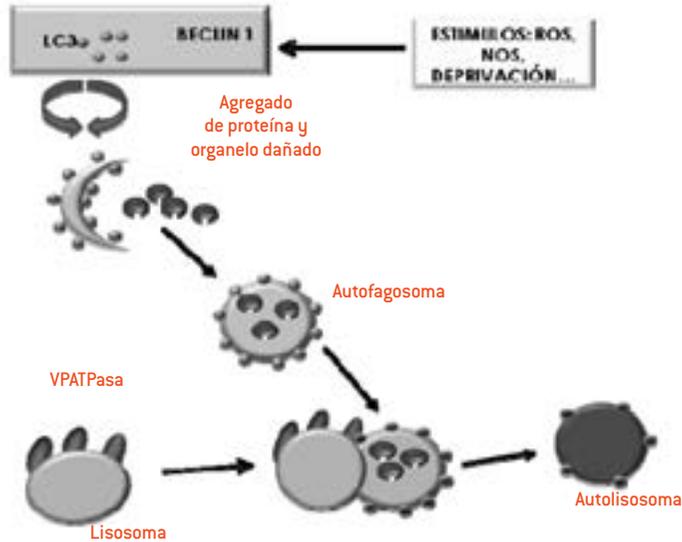


FIGURA 2. Esquema del proceso autofágico.

Muchos autores indican que defectos en la autofagocitosis son la causa de la agregación proteica en diversas enfermedades, y por tanto, favorecer o potenciar la autofagia podría tener un efecto profiláctico/terapéutico. En esta línea, estudios recientes han demostrado que inductores de la autofagia, como por ejemplo la rapamicina y la trehalosa, reducen los agregados en ratones mutantes para huntingtina (Ravikumar y col., 2004; Sarkar y col., 2007, 2009).

Es razonable pensar que la autofagia es una diana terapéutica prometedora para algunas enfermedades neurodegenerativas (Gottlieb y Carreira, 2010). Así, se ha demostrado en modelos de *Drosophila* y ratón en que la estimulación de la autofagia mediante inhibidores de la proteína mTOR protege de la neurodegeneración que se produce en los modelos de enfermedades por poliglutaminas (Sarkar *et al.*, 2009).

Parece demostrado que la activación de la autofagia puede aumentar la longevidad, por tanto no es sorprendente que factores bien conocidos de longevidad como sirtuina 1, FoxO y p53 puedan estar implicados en la activación del proceso autofágico; al contrario que mTOR o NFκB, que como mediadores de senescen-

cia celular, también están implicados en la inhibición del proceso autofágico (Salminen y col, 2008; Jung y col., 2009).

Recientemente se ha demostrado que la activación de la sirtuina, con resveratrol o con restricción calórica es capaz de activar la autofagia, de forma independiente a mTOR o p53, y por tanto se postula que la acción pro-longevidad de la vía sirtuina se produce en parte a través de la autofagia celular (Morselli *et al.*, 2010; Morselli *et al.*, 2009).

Además, estudios recientes parecen indicar que los genes de la beclina 1 y el gen *atg5* funcionan como guardianes de la integridad del genoma. Así se ha visto que células inmortalizadas con pérdida de uno o ambos alelos de estos genes muestran daño en el DNA, amplificación de genes y aneuploidia, especialmente si existe isquemia, además de elevada tumorigenicidad (Chen and Karantza-Wadsworth, 2009).

Referencias

- Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin. 1907; 64:146–148.
- Beyreuther K, Masters CL. Amyloid precursor protein (APP) and beta A4 amyloid in the etiology of Alzheimer's disease: precursor-product relationships in the derangement of neuronal function. Brain Pathol. 1991; 1: 241-251.
- Blander G, Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases. Annu. Rev. Biochem. 2004; 73:417-435.
- Bonda DJ, Lee HG, Camins A, Pallàs M, Casadesus G, Smith MA, Zhu X. The sirtuin pathway in ageing and Alzheimer disease: mechanistic and therapeutic considerations. Lancet Neurol. 2011; 10:275-9.
- Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, Perfettini JL, Dessen P, Larochette N, Metivier D, Meley D, Souquere S, Yoshimori T, Pierron G, Codogno P, Kroemer G. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. Mol. Cell Biol. 2005; 25:1025-1040.
- Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y, Tran H, Ross SE, Mostoslavsky R, Cohen HY, Hu LS, Cheng HL, Jedrychowski MP, Gygi SP, Sinclair DA, Alt FW, Greenberg ME. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. Science 2004; 303:2011-2015.

- Brunk UT, Terman A. The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging: accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis. *Eur. J. Biochem.* 2002; 269:1996-2002.
- Carreira RS, Lee Y, Ghochani M, Gustafsson AB, Gottlieb RA. Cyclophilin D is required for mitochondrial removal by autophagy in cardiac cells. *Autophagy* 2010; 6:462 - 472.
- Chen N, Karantza-Wadsworth V. Role and regulation of autophagy in cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 2009; 1793:1516-1523.
- Cohen P, Frame S. The renaissance of GSK3. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2001; 2:769-776.
- Delacourte A, Sergeant N, Champain D, Wattez A, Maurage CA, Lebert F, Pasquier F, David JP. Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 2002a; 59:398-407.
- Delacourte A, Sergeant N, Wattez A, Maurage CA, Lebert F, Pasquier F, David JP. Tau aggregation in the hippocampal formation: an ageing or a pathological process? *Exp. Gerontol.* 2002b; 37:1291-1296.
- Fernandez-Capetillo O, Nussenzweig A. Linking histone deacetylation with the repair of DNA breaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 2004; 101:1427-1428.
- Galluzzi L, Joza N, Tasdemir E, Maiuri MC, Hengartner M, Abrams JM, Tavernarakis N, Penninger J, Madeo F, Kroemer G, 2008a. No death without life: vital functions of apoptotic effectors. *Cell Death. Differ.* 15:1113-1123.
- Galluzzi L, Vicencio JM, Kepp O, Tasdemir E, Maiuri MC, Kroemer G. To die or not to die: that is the autophagic question. *Curr. Mol. Med.* 2008b; 8:78-91.
- Goedert M. Filamentous nerve cell inclusions in neurodegenerative diseases: tauopathies and alpha-synucleinopathies. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 1999; 354:1101-1118.
- Gonzalez-Polo RA, Boya P, Pauleau AL, Jalil A, Larochette N, Souquere S, Eskelinen EL, Pierron G, Saftig P, Kroemer G. The apoptosis/autophagy paradox: autophagic vacuolization before apoptotic death. *J. Cell Sci.* 2005; 118:3091-3102.
- Gottlieb RA, Carreira RS. Autophagy in health and disease. 5. Mitophagy as a way of life. *Am. J. Physiol Cell Physiol* 2010; 299:C203-C210.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 1986; 83:4913-4917.
- Gutierrez-Cuesta J, Sureda FX, Romeu M, Canudas AM, Caballero B, Coto-Montes A, Camins A, Pallas M., Chronic administration of melatonin reduces cerebral injury biomarkers in SAMP8. *J. Pineal Res.* 2007; 42:394-402.

- Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, Okano H, Mizushima N. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006; 441:885-889.
- He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu. Rev. Genet.* 2009; 43:67-93.
- Jeong J, Juhn K, Lee H, Kim SH, Min BH, Lee KM, Cho MH, Park GH, Lee KH. SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med.* 2007; 39:8-13.
- Jung CH, Jun CB, Ro SH, Kim YM, Otto NM, Cao J, Kundu M, Kim DH. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Mol. Biol. Cell* 2009; 20:1992-2003.
- Kaeberlein M. The ongoing saga of sirtuins and aging. *Cell Metab* 2008; 8:4-5.
- Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Muller-Hill B. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987; 325:733-736.
- Karuppagounder SS, Pinto JT, Xu H, Chen HL, Beal MF, Gibson GE. Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2009; 54:111-8.
- Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, Ueno T, Koike M, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006; 441:880-884.
- Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008; 9:1004-1010.
- Lacor PN, Buniel MC, Chang L, Fernandez SJ, Gong Y, Viola KL, Lambert MP, Velasco PT, Bigio EH, Finch CE, Krafft GA, Klein WL. Synaptic targeting by Alzheimer's-related amyloid beta oligomers. *J. Neurosci.* 2004; 24:10191-10200.
- Lee HG, Perry G, Moreira PI, Garrett MR, Liu Q, Zhu X, Takeda A, Nunomura A, Smith MA. Tau phosphorylation in Alzheimer's disease: pathogen or protector? *Trends Mol. Med.* 2005; 11:164-169.
- Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443:787-795.
- Ling D, Salvaterra PM. A central role for autophagy in Alzheimer-type neurodegeneration. *Autophagy* 2009; 5:738-740.
- Ling D, Salvaterra PM. Brain aging and A β neurotoxicity converge via deterioration in autophagy-lysosomal system: a conditional *Drosophila* model linking Alzheimer's neurodegeneration with aging. *Acta Neuropathol.* 2011; 121:183-191.
- Madeo F, Eisenberg T, Kroemer G. Autophagy for the avoidance of neurodegeneration. *Genes Dev.* 2009; 23:2253-2259.

- Madeo F, Tavernarakis N, Kroemer G. Can autophagy promote longevity? *Nat. Cell Biol.* 2010; 12:842-846.
- Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 827:65-75.
- Mizushima N, Klionsky DJ. Protein turnover via autophagy: implications for metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 2007; 27:19-40.
- Morselli E, Galluzzi L, Kepp O, Criollo A, Maiuri MC, Tavernarakis N, Madeo F, Kroemer G. Autophagy mediates pharmacological lifespan extension by spermidine and resveratrol. *Aging* 2009; 1:961-970.
- Morselli E, Maiuri MC, Markaki M, Megalou E, Pasparaki A, Palikaras K, Criollo A, Galluzzi L, Malik SA, Vitale I, Michaud M, Madeo F, Tavernarakis N, Kroemer G. Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the Sirtuin-1-dependent induction of autophagy. *Cell Death. Dis.* 2010; 1:e10.
- North BJ, Verdin E. Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. *Genome Biol.* 2004; 5:224.
- Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2001; 2:211-216.
- Pei JJ, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Bogdanovic N, Winblad B, Cowburn RF. Accumulation of cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) in neurons with early stages of Alzheimer's disease neurofibrillary degeneration. *Brain Res.* 1998; 797:267-277.
- Prelli F, Castaño E, Glenner GG, Frangione B. Differences between vascular and plaque core amyloid in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 1988; 51:648-51.
- Quivy V, Van LC. Regulation at multiple levels of NF-kappaB-mediated transactivation by protein acetylation. *Biochem. Pharmacol.* 2004; 68:1221-1229.
- Qin W, Yang T, Ho L, Zhao Z, Wang J, Chen L, Zhao W, Thiyagarajan M, MacGrogan D, Rodgers JT, Puigserver P, Sadoshima J, Deng H, Pedrini S, Gandy S, Sauve AA, Pasinetti GM. Neuronal SIRT1 activation as a novel mechanism underlying the prevention of Alzheimer disease amyloid neuropathology by calorie restriction. *J. Biol. Chem.* 2006; 281:21745-21754.
- Ravikumar, B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, Scaravilli F, Easton DF, Duden R, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat. Genet.* 2004; 36:585-595.
- Rubinsztein DC. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature* 2006; 443:780-786.

- Salminen A, Ojala J, Huuskonen J, Kauppinen A, Suuronen T, Kaarniranta K. Interaction of aging-associated signaling cascades: inhibition of NF-kappaB signaling by longevity factors FoxOs and SIRT1. *Cell Mol. Life Sci.* 2008; 65:1049-1058.
- Sarkar, S. Davies JE, Huang Z, Tunnacliffe A, Rubinsztein DC. *et al.* Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant Huntington and α -synuclein. *J. Biol. Chem.* 2007; 282:5641–5652
- Sarkar S, Ravikumar B, Floto RA, Rubinsztein DC. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine-expanded huntingtin and related proteinopathies. *Cell Death. Differ.* 2009; 16:46-56.
- Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, Vitale I, Djavaheri-Mergny M, D'Amelio M, Criollo A, Morselli E, Zhu C, Harper F, Nannmark U, Samara C, Pinton P, Vicencio JM, Carnuccio R, Moll UM, Madeo F, Paterlini-Brechot P, Rizzuto R, Szabadkai G, Pierron G, Blomgren K, Tavernarakis N, Codogno P, Cecconi F, Kroemer G. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat. Cell Biol.* 2008; 10:676-687.
- Tippmann F, Hundt J, Schneider A, Endres K, Fahrenholz F. Up-regulation of the alpha-secretase ADAM10 by retinoic acid receptors and acitretin. *FASEB J.* 2009; 23:1643-54.
- Verdile G, Gandy SE, Martins RN. The role of presenilin and its interacting proteins in the biogenesis of Alzheimer's beta amyloid. *Neurochem. Res.* 2007; 32:609-623.
- Wu YT, Tan HL, Huang Q, Ong CN, Shen HM. Activation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway promotes necrotic cell death via suppression of autophagy. *Autophagy.* 2009; 5:824-834.
- Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J. Sirtuin functions in health and disease. *Mol. Endocrinol.* 2007; 21:1745-1755.
- Young JE, Martinez RA, La Spada AR. Nutrient deprivation induces neuronal autophagy and implicates reduced insulin signaling in neuroprotective autophagy activation. *J. Biol. Chem.* 2009; 284:2363-2373.
- Yu L, McPhee CK, Zheng L, Mardones GA, Rong Y, Peng J, Mi N, Zhao Y, Liu Z, Wan F, Hailey DW, Oorschot V, Klumperman J, Baehrecke EH, Lenardo MJ. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature* 2010; 465:942-946.

5 Envejecimiento, receptores y epilepsia

Manola Cuéllar Herrera¹ y Luisa L. Rocha Arrieta²

Resumen

Se sabe que la epilepsia es un trastorno común en sujetos de edad avanzada y que su tratamiento difiere del de sujetos de otras edades. Entre los factores que interfieren con estas diferencias están la hipersensibilidad a las drogas antiepilépticas así como cambios en su farmacocinética, que se producen en los sujetos de edad avanzada. Un factor importante por considerar es el cambio que presentan los receptores a diferentes neurotransmisores a lo largo de la vida, lo cual redundaría en que la edad de los sujetos sea esencial para el tratamiento de la epilepsia con drogas antiepilépticas y para que haya un buen control de la misma. En el presente capítulo se describen algunos cambios en receptores de diferentes sistemas de neurotransmisión asociados a la edad, en sujetos normales y con epilepsia.

Epilepsia y envejecimiento

La epilepsia es una alteración del sistema nervioso central que se caracteriza por una excitabilidad excesiva de la actividad neuronal. Se manifiesta por crisis recurrentes, espontáneas e impredecibles. Las crisis parciales complejas del lóbulo temporal denominadas epilepsia del lóbulo temporal (ELT) son las más frecuentes y constituyen 70% de los pacientes con epilepsia. Las bases neurobiológicas de

¹ Clínica de Epilepsia del Hospital General de México. México, D.F.

² Depto. Farmacobiología. Unidad Sur del Cinvestav. México, D.F.

la epilepsia involucran alteraciones de las funciones neuronales a varios niveles, con un desbalance entre sistemas de neurotransmisión de tipo excitador e inhibidor (Engel, 1996).

Por otra parte, el envejecimiento se define como la pérdida progresiva de los procesos fisiológicos necesarios para mantener la homeostasis del organismo en condiciones óptimas. La epilepsia es un trastorno común en sujetos de edad avanzada (mayores de 75 años), y se produce principalmente como consecuencia de enfermedades cerebrovasculares. La alta susceptibilidad del cerebro viejo a presentar epilepsia se asocia al decremento progresivo en el número de neuronas y alteraciones en circuitos de distintas poblaciones neuronales asociados con la edad. Por otra parte, las personas de edad avanzada presentan una mayor susceptibilidad a sufrir daño neuronal como consecuencia de las crisis epilépticas (DeToledo-Morell *et al.*, 1988).

En general, el tratamiento farmacológico en la vejez difiere al de otras edades de la vida como consecuencia de cambios farmacocinéticos que se presentan con la edad, los cuales involucran alteraciones en la absorción, metabolismo y eliminación de las drogas. Al respecto se sabe que la eliminación de varias drogas es lenta en los sujetos viejos, principalmente debido a una reducción del flujo sanguíneo hepático y renal. Con respecto a los niveles de albúmina sérica, éstos disminuyen con la edad avanzada por lo que existe una baja unión de los fármacos a proteínas séricas y se incrementa la fracción libre de los mismos. Esta situación alarga la vida media de las drogas por encima de los valores obtenidos en sujetos adultos jóvenes y aumenta el riesgo de presentar efectos tóxicos, especialmente para las drogas con una unión importante a proteínas. Por lo anterior, los sujetos viejos con frecuencia son más sensibles a los efectos inducidos por la fracción libre de las drogas. En ellos, a diferencia de los sujetos jóvenes, el tratamiento con fármacos antiepilépticos debe iniciarse a dosis bajas e incrementarse de manera progresiva (Engel, 1996).

Es importante considerar que las enfermedades concomitantes e hipersensibilidad a los fármacos antiepilépticos pueden disminuir el rango terapéutico y complicar los aspectos farmacocinéticos en esa etapa de la vida. A través del uso de modelos animales se sugiere que la alta susceptibilidad de sujetos viejos a la actividad epiléptica puede estar relacionada a cambios cerebrales asociados con la edad, tales como el decremento de las neuronas GABAérgicas en el hilus del

hipocampo (Shetty y Turner, 1998) y cambios en la microvasculatura (Moora-dian y McCuskey, 1992).

Existen evidencias de que la integridad funcional de varios sistemas de neurotransmisión se altera con el proceso del envejecimiento. En particular, los cambios de los receptores con la edad son relevantes debido a que, a través de ellos, los neurotransmisores o sustancias exógenas activan sistemas de transducción intracelular y así inducen efectos específicos. A continuación se describen algunas evidencias que existen en relación a cambios en receptores de sistemas de neurotransmisión específicos relacionados con el envejecimiento solo y con la epilepsia.

Receptores a dopamina (DA)

La DA es una catecolamina que cumple funciones de neurotransmisor en el sistema nervioso central. Está involucrada en el comportamiento y la cognición, la actividad motora, la motivación y la recompensa, la regulación de la producción de leche, el sueño, el humor, la atención y el aprendizaje. Para inducir sus efectos, la DA se une a varios subtipos de receptores, entre los que se encuentran los D1 y D2, los cuales inducen efectos excitadores e inhibidores, respectivamente (Starr, 1996).

Estudios realizados por tomografía de emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) revelan que la unión al receptor D2 en sujetos sanos (19 a 73 años) disminuye significativamente en el núcleo caudado, putamen y corteza frontal. Este efecto se relaciona con la edad ya que existe un decremento de 1% por año a partir de los 18 años (Wong *et al.*, 1984,1997). Con respecto al receptor D1, existe una disminución en su unión asociada con la edad en áreas cerebrales específicas, como es el núcleo caudado (6.9% por década), putamen (7.4% por década) y corteza occipital (8.6% por década) (Wang *et al.*, 1998). Estas evidencias sugieren que los cambios en la función cognitiva y en la coordinación de la actividad motora que acompañan con frecuencia al envejecimiento se correlacionan con cambios en las funciones mediadas a través de la activación de estos receptores (Volkow *et al.*, 1998).

Evidencias obtenidas en nuestro laboratorio indican un incremento en la expresión de la proteína y en la unión a los receptores D1 en la neocorteza temporal de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal mesial (ELTM). Lo anterior resulta relevante en la fisiopatología de dicho trastorno debido a que los

receptores D1 inducen efectos excitadores (Starr, 1996), los cuales pueden estar involucrados en la propagación de la actividad epiléptica de la neocorteza a otras áreas cerebrales. El aumento en la unión de los receptores D1 en los pacientes con ELTM se correlaciona negativamente con la edad de inicio de la epilepsia, sugiriendo mayores niveles de unión a los receptores D1 en sujetos que inician el padecimiento en edades tempranas (Rocha *et al.*, en proceso), situación que puede estar relacionada con la farmacorresistencia de dicho trastorno.

En cuanto a los receptores D2, los cuales inducen efectos inhibidores, su unión no se modifica en los pacientes con ELTM. Sin embargo, llama la atención que existe una mayor unión al receptor D2 cuando la epilepsia se inicia a edades tardías y cuando su duración es corta. Es posible que si los receptores D2 tienen un papel inhibitorio en la neocorteza cerebral, éste sea preponderante al inicio del padecimiento (Rocha *et al.*, en proceso).

Receptores a serotonina (5-HT)

La 5-HT es una monoamina que en el sistema nervioso central desempeña un papel importante como neurotransmisor en la regulación de la conducta, la temperatura corporal, el sueño, el vómito, la sexualidad, el apetito y en la depresión. La activación de los receptores a 5-HT puede inducir efectos excitadores o inhibidores, dependiendo del subtipo de receptor activado. Así mismo, las alteraciones en la función de dichos receptores durante el envejecimiento pueden contribuir a la alta incidencia de trastornos de la conducta de las personas de edad avanzada, tales como depresión. Al respecto, a través de estudios de PET se sabe que existe una reducción de más de 50% en la densidad de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{1D} en la corteza cerebral de personas de edad avanzada (61 a 76 años), en comparación con personas de 18 a 29 años de edad (Arranz *et al.*, 1993; Rosier *et al.*, 1996; Meltzer *et al.*, 1998).

En relación a los receptores 5-HT_{1A}, estudios de auto-radiografía en tejido *post mortem* sugieren que la unión a este receptor disminuye en la corteza, hipocampo y núcleo del rafe de sujetos de edad avanzada (Dillon *et al.*, 1991), efecto asociado a una disminución en su afinidad. Sin embargo, la capacidad de los receptores Mu para estimular a la proteína G con la cual están acoplados no se modifica con la edad (González-Maeso *et al.*, 2002). Sin embargo, estos cambios

no se reflejan en estudios de PET *in vivo* (Arranz *et al.*, 1993), probablemente debido a las diferencias entre las técnicas usadas para estudiar al receptor 5-HT_{1A}.

Con respecto a la ELTM, se describe que los pacientes con una larga duración de la epilepsia presentan una mayor reducción en la unión a los receptores 5-HT₄ (capas III-IV) y 5-HT₇ (capas III-IV, V-VI) (Rocha *et al.*, 2007). Por lo anterior, es posible que los sujetos de edad avanzada presenten niveles muy bajos de dichos receptores después de una larga evolución del padecimiento. Por el contrario, la unión al receptor 5-HT_{1A} y al transportador a 5-HT no presenta ninguna correlación con el tiempo de evolución de la epilepsia, sugiriendo que los cambios asociados a esta última son específicos para los receptores 5-HT₄ y 5-HT₇ (Rocha *et al.*, 2007).

Receptores de acetilcolina

La acetilcolina es un éster de ácido acético y colina que está ampliamente distribuida en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico. La activación de los receptores a la acetilcolina participa en funciones de aprendizaje, memoria, sueño/vigilia y movimiento.

En relación a la vejez, estudios *post mortem* indican una pérdida de receptores muscarínicos y nicotínicos en la corteza frontal, y un incremento a nivel talámico (Nordberg *et al.*, 1992). Estudios de PET en sujetos de 18-75 años sugieren una disminución de hasta 50% de la unión a los receptores muscarínicos en corteza frontal, parietal, occipital, temporal, cuerpo estriado, hipocampo y tálamo en sujetos de edad avanzada (Dewey *et al.*, 1990; Suhara *et al.*, 1993).

La activación del sistema colinérgico se ha asociado a la generación y propagación de la actividad epiléptica (Brudzynski *et al.*, 1995). Utilizando la técnica de autorradiografía, previamente describimos que en los focos epilépticos neocorticales existe un aumento en la unión a los receptores muscarínicos (Ondarza *et al.*, 2002). Por el contrario, en pacientes con ELTM estudios de PET indican un decremento en la unión a los receptores muscarínicos en el hipocampo epiléptico, amígdala y corteza temporal (Boundy *et al.*, 1996). Es posible que estos cambios se asocien a los trastornos en aprendizaje y memoria que presentan los pacientes con ELTM. Sin embargo, se requerirán estudios que relacionen a la unión y funcionalidad de los receptores a acetilcolina con la epilepsia y la edad.

Receptores opioides Mu

Los receptores a opioides Mu están ampliamente distribuidos en todo el sistema nervioso central humano con una ubicación especial en ganglios basales, corteza, tálamo, columna vertebral y los núcleos del tronco cerebral (Cross *et al.*, 1987; Pilapil *et al.*, 1987). Dicha distribución anatómica permite entender las distintas funciones de este receptor en la conducta, control motor, modulación de la nocicepción y de la regulación visceral. La evaluación *in vitro* e *in vivo* del cerebro de sujetos sanos de 1 a 88 años de edad, indica que los receptores Mu presentan un incremento en su afinidad y funcionalidad dependientes de la edad (Gross-Isseroff *et al.*, 1990; Gabilondo *et al.*, 1995; Gonzáles-Maeso *et al.*, 2002; Cuéllar-Herrera *et al.*, 2010; Zubieta *et al.*, 1999).

En la epilepsia, los receptores Mu median efectos duales, esto es, facilitan el proceso de epileptogénesis, y también aumentan la refractoriedad a crisis subsecuentes durante el periodo postictal (Rocha y Engel, 1991). Utilizando modelos experimentales, se sabe que en ratas viejas que han sufrido estado epiléptico por el ácido kaínico existe un decremento de la unión a receptores a opioides Mu en áreas cerebrales específicas como son la amígdala cerebral, sustancia negra y cortezas entorhinal y piriforme (Pérez-Cruz y Rocha, 2002), las cuales están involucradas en la propagación de la actividad epiléptica (McIntyre, 1986; McNamara *et al.*, 1986). Si los receptores Mu inducen un efecto antiepiléptico, su reducción puede estar facilitando la actividad epiléptica en el cerebro de sujetos viejos. Por el contrario, en pacientes con ELTM, estudios de autorradiografía *in vitro* revelan que el establecimiento de la epilepsia a edades tardías de la vida se asocia con niveles altos de unión y funcionalidad de los receptores Mu en la corteza temporal, ipsilateral al foco epiléptico. Estos cambios no se observan en otro tipo de receptores a opioides como son los de nociceptina (Rocha *et al.*, 2009). La diferencia entre los resultados obtenidos en modelos animales y pacientes con ELTM puede deberse a que estos últimos fueron sujetos con epilepsia farmacorresistente y con una larga evolución de la epilepsia, características que deben de ser reproducidas en modelos animales en futuros experimentos.

Conclusión

En el presente capítulo se describen los cambios que la epilepsia induce en diferentes receptores de neurotransmisores específicos en el cerebro humano. El estudio de biopsias del cerebro de sujetos con epilepsia farmacorresistente obtenidas durante la cirugía de epilepsia permite tener un mejor conocimiento de los cambios a nivel de receptores, y así, diseñar nuevas estrategias terapéuticas enfocadas a evitar la actividad epiléptica, la epileptogénesis y el daño neuronal que resulta de ambas.

A pesar de que existen varias desventajas en el uso de tejido de humanos, es posible hacer correlaciones entre los cambios obtenidos y variables clínicas de los pacientes con epilepsia, lo cual permite sugerir factores que puedan estar involucrados en las alteraciones producidas por la epilepsia. Uno de estos factores es la edad de los sujetos y los cambios cerebrales que esta condición conlleva, tal como la disminución de la población neuronal. Así mismo, resulta relevante correlacionar en los sujetos viejos alteraciones conductuales y psiquiátricas con cambios en receptores de diferentes sistemas de neurotransmisión, lo cual permitirá sugerir posibles mecanismos asociados a los trastornos que coexisten con la epilepsia, tal como la ansiedad y depresión.

Finalmente, es importante tratar de reproducir las condiciones observadas en los pacientes con epilepsia en modelos animales, con propósito de utilizar estos últimos para la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo técnico de Leticia Neri-Bazán y Héctor Vázquez Espinoza. El presente estudio fue parcialmente apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto 98386).

Referencias

- Arranz B, Eriksson A, Mellerup E, Plenge P, Marcusson J. Effect of aging in human cortical pre- and postsynaptic serotonin binding sites. *Brain Res*, 1993;620:163-166.
- Boundy KL, Rowe CC, Black AB, Kitchener MI, Barnden LR, Sebben R, Kneebone A, Kassiou M, Katsifis A, Lambrecht R. Localization of temporal lobe epileptic foci with iodine-123 iododexetimide cholinergic neuroreceptor single-photon emission computed tomography. *Neurology*, 1996;47:1015-1020.
- Brudzynski SM, Cruickshank JW, McLachlan RS. Cholinergic mechanisms in generalized seizures: importance of the zona incerta. *Can J Neurol Sci*, 1995;22:116-120.
- Cross AJ, Hille C, Slater P. Subtraction autoradiography of opiate receptor subtypes in human brain. *Brain Res*, 1987;418:343-348.
- Cuellar-Herrera M, Velasco AL, Velasco F, Chavez L, Orozco-Suárez S, Armagan G, Turunc E, Bojnik E, Yalcin A, Benyhe S, Borsodi A, Alonso-Vanegas M, Rocha L. Mu opioid receptor mRNA expression, binding, and functional coupling to G-proteins in human epileptic hippocampus. *Hippocampus*, 2010 doi: 10.1002/hipo.20891.
- deToledo-Morrell L, Geinisman Y, Morrell F. Age-dependent alterations in hippocampal synaptic plasticity: relation to memory disorders. *Neurobiol Aging*, 1988;9:581-590.
- Dewey SL, Volkow ND, Logan J, MacGregor RR, Fowler JS, Schlyer DJ, Bendriem B. Age-related decreases in muscarinic cholinergic receptor binding in the human brain measured with positron emission tomography (PET). *J Neurosci Res*, 1990;27:569-575.
- Dillon KA, Gross-Isseroff R, Israeli M, Biegon A. Autoradiographic analysis of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in the human brain postmortem: effects of age and alcohol. *Brain Res*, 1991;554:56-64.
- Engel J. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 1996;26:141-150.
- Gabilondo AM, Meana JJ, García-Sevilla JA. Increased density of mu-opioid receptors in the postmortem brain of suicide victims. *Brain Res*, 1995;682:245-250.
- González-Maeso J, Torre I, Rodríguez-Puertas R, García-Sevilla JA, Guimón J, Meana JJ. Effects of age, postmortem delay and storage time on receptor-mediated activation of G-proteins in human brain. *Neuropsychopharmacology*, 2002;26:468-478.
- Gross-Isseroff R, Dillon KA, Israeli M, Biegon A. Regionally selective increases in mu opioid receptor density in the brains of suicide victims. *Brain Res*, 1990;530:312-316.
- McIntyre DC. Kindling and the pyriform cortex. En Wada, J. A. (ed.). *Kindling 3*, Raven Press, New York, 1986:249-262.
- McNamara JO, Bonhaus DW, Crain BJ, Gellman RL, Shin C. An approach to elucidating the network of brain structures underlying kindling. En Wada, J. A. (ed.), *Kindling 3*, Raven Press, New York, 1986:125-138.

- Meltzer CC, Smith G, Price JC, Reynolds CF 3rd, Mathis CA, Greer P, Lopresti B, Mintun MA, Pollock BG, Ben-Eliezer D, Cantwell MN, Kaye W, DeKosky ST. Reduced binding of [¹⁸F]altanserin to serotonin type 2A receptors in aging: persistence of effect after partial volume correction. *Brain Res*, 1998;813:167-171.
- Mooradian AD, McCuskey RS. In vivo microscopic studies of age-related changes in the structure and the reactivity of cerebral microvessels. *Mech Ageing Dev*. 1992;64:247-254.
- Nordberg A, Alafuzoff I, Winblad B. Nicotinic and muscarinic subtypes in the human brain: changes with aging and dementia. *J Neurosci Res*. 1992;31:103-111.
- Ondarza R, Trejo-Martínez D, Corona-Amézcuca R, Briones M, Rocha L. Evaluation of opioid peptide and muscarinic receptors in human epileptogenic neocortex: an autoradiography study. *Epilepsia*, 2002;43:230-234.
- Pérez-Cruz C, Rocha L. Kainic acid modifies mu receptor binding in young, adult and elderly rat brain. *Cell Mol Neurobiol*, 2002;22:741-753.
- Pilapil C, Welner S, Magnan J, Gauthier S, Quirion R. Autoradiographic distribution of multiple classes of opioid receptor binding sites in human forebrain. *Brain Res Bull*, 1987;19:611-615.
- Rocha L, Lorigados-Pedre L, Orozco-Suárez S, Morales-Chacón L, Alonso-Vanegas M, García-Maeso I, Villeda-Hernández J, Osorio-Rico L, Estupiñán B, Quintana C. Autoradiography reveals selective changes in serotonin binding in neocortex of patients with temporal lobe epilepsy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31:1208-1218.
- Rocha L, Orozco-Suárez S, Alonso-Vanegas M, Villeda-Hernández J, Gaona A, Páldy E, Benyhe S, Borsodi A. Temporal lobe epilepsy causes selective changes in mu opioid and nociceptin receptor binding and functional coupling to G-proteins in human temporal neocortex. *Neurobiol Dis*, 2009;35:466-473.
- Rosier A, Dupont P, Peuskens J, Bormans G, Vandenberghe R, Maes M, de Groot T, Schiepers C, Verbruggen A, Mortelmans L. Visualisation of loss of 5-HT_{2A} receptors with age in healthy volunteers using [¹⁸F]altanserin and positron emission tomographic imaging. *Psychiatry Res*, 1996;68:11-22.
- Shetty AK, Turner DA. Hippocampal interneurons expressing glutamic acid decarboxylase and calcium binding proteins decrease with aging in Fisher rats. *J Comp Neurol*, 1998;394:252-269.
- Starr MS. The role of dopamine in epilepsy. *Synapse*, 1996;22:159-194.
- Suhara T, Inoue O, Kobayashi K, Suzuki K, Tateno Y. Age-related changes in human muscarinic acetylcholine receptors measured by positron emission tomography. *Neurosci Lett*, 1993;149:225-228.

- Volkow ND, Gur RC, Wang GJ, Fowler JS, Moberg PJ, Ding YS, Hitzemann R, Smith G, Logan J. Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am J Psychiatry*. 1998;155:344-349.
- Wang Y, Chan GL, Holden JE, Dobko T, Mak E, Schulzer M, Huser JM, Snow BJ, Ruth TJ, Calne DB, Stoessl AJ. Age-dependent decline of dopamine D1 receptors in human brain: a PET study. *Synapse*. 1998;30:56-61.
- Wong DF, Wagner HN Jr, Dannals RF, Links JM, Frost JJ, Ravert HT, Wilson AA, Rosenbaum AE, Gjedde A, Douglass KH. Effects of age on dopamine and serotonin receptors measured by positron tomography in the living human brain. *Science*. 1984; 226:1393-1396.
- Wong DF, Young D, Wilson PD, Meltzer CC, Gjedde A. Quantification of neuroreceptors in the living human brain: III. D2-like dopamine receptors: theory, validation, and changes during normal aging. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997;17:316-330.
- Zubieta JK, Dannals RF, Frost JJ. Gender and age influences on human brain mu-opioid receptor binding measured by PET. *Am J Psychiatry*, 1999;156:842-848.

6

El papel de la vía intranasal en las enfermedades neurodegenerativas

Argelia E. Rojas Mayorquín^{1,2} y Daniel Ortuño Sahagún³

Resumen

El sistema olfatorio tiene un papel primordial en la fisiología y en la calidad de vida de los animales. En diversos estudios se ha demostrado que el déficit en las funciones olfatorias precede a los clásicos síntomas de algunas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP) y el complejo parkinsonismo-demencia de Guam, sin embargo la causa primaria de estas enfermedades continúa siendo desconocida. En particular, la EP se caracteriza por una marcada pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra pars compacta*. Así mismo, algunos reportes han identificado una disminución de neuronas dopaminérgicas también en los tubérculos olfatorios. La hiposmia puede preceder a los signos motores de la EP y al déficit cognitivo de la EA. Lo cual apoya el importante papel complementario de las pruebas olfatorias en el diagnóstico y manejo de las mencionadas patologías. Recientemente se ha demostrado que el MPTP administrado por vía intranasal es capaz, incluso en una sola dosis, de producir una pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra pars compacta*, lo que permite postularlo como un adecuado modelo experimental para el estudio de la EP y reactiva la polémica en torno a la hipótesis olfativa como una de las probables causas en el origen de enfermedades neurodegenerativas.

¹ Departamento de Investigación Básica. Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

² Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Guadalajara.

³ Departamento de Biología Celular y Molecular. Universidad de Guadalajara.

Introducción

El sistema olfatorio tiene un papel primordial en la fisiología y en la calidad de vida de muchos animales, es crucial para la provisión de alimentos, el apareamiento, el cuidado maternal, la detección de predadores y muchos otros aspectos del comportamiento social. El órgano central del sistema olfatorio es el bulbo olfatorio, cuya estructura y conexiones han sido objeto de numerosas investigaciones desde los tiempos de Santiago Ramón y Cajal (Valverde, 2003).

En diversos estudios se ha demostrado que el déficit en las funciones olfatorias precede a los clásicos síntomas de algunas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP) y el complejo parkinsonismo-demencia (CPD) de Guam (Doty *et al.*, 1991). En el caso de la EP, la pérdida del olfato y las funciones cognitivas preceden a los síntomas motores que la caracterizan, por lo que la realización de pruebas olfatorias podría contribuir al diagnóstico temprano de esta enfermedad (Doty *et al.*, 1988; Stern *et al.*, 1994; Tissingh *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2002; Santin *et al.*, 2010). Por otra parte, las disfunciones olfatorias en la detección, discriminación e identificación de olores no son específicas de las enfermedades neurodegenerativas. El olfato puede afectarse por desórdenes transitorios, como las rinitis, o por algunos hábitos, como el tabaquismo, sin que esto conlleve al desarrollo de una patología como la EP. Sin embargo, se ha demostrado que las pruebas olfatorias pueden discriminar entre pacientes con EP en comparación con controles sanos con una sensibilidad de 88% y una especificidad de 83% (Tissingh *et al.*, 2001).

Entre las enfermedades neurodegenerativas, las principales alteraciones olfatorias han sido reportadas en la EP familiar y en la demencia de cuerpos de Lewy (entidad clínico-patológica recientemente descrita y con frecuencia mal diagnosticada como EP o EA), pero no en la parálisis supranuclear progresiva (entidad neurodegenerativa caracterizada por la pérdida del equilibrio y problemas para controlar los movimientos oculares), ni en el tremor esencial (denominado “de acción”; Liberini *et al.*, 2000).

Al igual que en la EP, la causa primaria de muchas enfermedades neurodegenerativas continua siendo desconocida. Estudios epidemiológicos han revelado que la incidencia de la EP se ve incrementada como consecuencia a la exposición de ciertas toxinas ambientales (Gorell *et al.*, 1998). Por lo que la hipótesis del

“vector olfatorio” postula que la EP puede ser originada o catalizada por agentes que ingresan el cerebro a través de la mucosa olfatoria (Doty, 2008).

La pérdida del olfato en las enfermedades neurodegenerativas

La EP es una patología neurodegenerativa, progresiva y debilitante, que se caracteriza en sus etapas clínicas avanzadas por un mal funcionamiento del sistema motor, que ocasiona rigidez en las extremidades, bradicinesias o lentitud de movimientos, arrastre de los pies, marcha anormal, alteraciones de la postura y pérdida de la coordinación, así como un temblor de reposo denominado “*pill-rolling*”. Esta sintomatología se acompaña también de rigidez muscular facial, lo cual es conocido como “rostro de máscara”. La EP afecta de 1% a 2% de la población mayor de 50 años de edad y la expectativa de vida después de realizado el diagnóstico es de aproximadamente 15 años. El curso de la enfermedad puede dividirse en una etapa pre-sintomática y una etapa sintomática y el proceso patológico progresa durante varios años (revisado en Rojas-Mayorquín y Ortuño-Sahagún, 2010).

La característica anatómica identificable en los tejidos de pacientes con EP es la disminución en el número de neuronas que contienen neuromelanina, localizadas en la sustancia *nigra pars compacta* (SNpc) en el cerebro medio. Estas neuronas dopaminérgicas proyectan sus axones tanto al cuerpo estriado como a otras regiones subcorticales (figura 1). Los primeros síntomas clínicos se manifiestan cuando aproximadamente 60% de las neuronas de la SNpc ya han muerto (German *et al.*, 1989) y se ha reducido en 70% la capacidad de respuesta a la dopamina (Ma *et al.*, 2002).

Algunos reportes neuropatológicos han identificado una disminución de las neuronas dopaminérgicas también en los tubérculos olfatorios (Liberini *et al.*, 2000). Por otro lado se ha demostrado, en modelos murinos de neurodegeneración, una disminución del número de neuronas positivas para la enzima tirosina hidroxilasa (TH) en los glomérulos olfatorios (figura 2).

La disminución de la capacidad para identificar olores se presenta en la mayoría de los pacientes con EP idiopática. Esta alteración es bilateral y estable a través del tiempo, se presenta en etapas muy tempranas del desarrollo de la enfermedad y lo hace independientemente de la administración de medicamentos antiparkinsonianos, además de que no se ha relacionado con los diferentes estadios de la

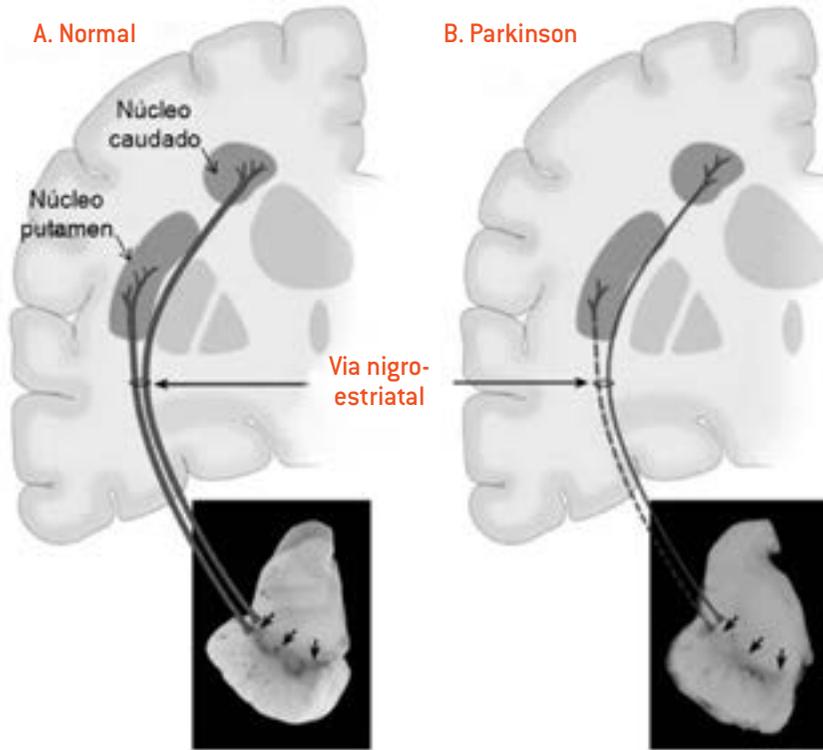


FIGURA 1. Neuropatología de la enfermedad de Parkinson. (A) Representación esquemática de la vía nigro-estriatal normal. Esta vía está compuesta por neuronas dopaminérgicas cuyos cuerpos celulares se encuentran localizados en la sustancia nigra pars compacta (SNpc, flechas cortas). En la fotografía se muestra la pigmentación de la SNpc producida por la neuromelanina de las neuronas dopaminérgicas. (B) Representación esquemática de la vía nigro-estriatal en la EP. En la EP la vía nigroestriatal ha degenerado (línea discontinua y línea delgada). La fotografía muestra la despigmentación de la SNpc producto de la pérdida de las neuronas dopaminérgicas (modificado de Dauer y Przedborski, 2003).

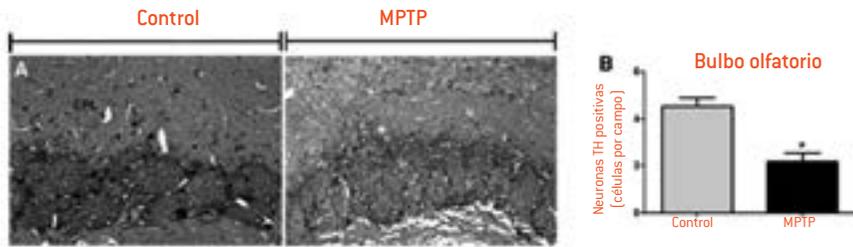


FIGURA 2. Neuropatología en el bulbo olfatorio de modelos de EP. Se muestra la disminución en los niveles de TH en los glomérulos olfatorios (A) después de 20 días de haber realizado la administración intranasal de MPTP en comparación con el control. La cuantificación (B) del número de neuronas TH(+) evidencia una disminución de 55% [Prediger *et al.*, 2010].

enfermedad, ni con la intensidad de las disfunciones motoras y cognitivas. A pesar de la importante disminución en la capacidad olfativa, la mayoría de los pacientes con EP no se percatan de ella hasta realizar una prueba olfatoria (Doty *et al.*, 1988, 1992a, 1992b; Quinn *et al.*, 1987; Ward *et al.*, 1983).

En la enfermedad de Alzheimer (EA) la neurodegeneración se presenta a nivel de la corteza cerebral y regiones subcorticales. Sus principales manifestaciones clínicas son el deterioro cognitivo (pérdida de la memoria y capacidades mentales) y los trastornos conductuales (para mayor información revisar los capítulos sobre Alzheimer en este libro). La EA se acompaña de disfunciones olfatorias (Djordjevic *et al.*, 2008), y éstas aparecen antes de que los síntomas clínicos se manifiesten completamente, sin embargo se desconoce qué tan temprano en el curso de la enfermedad ocurre dicho déficit. En un estudio clínico de seguimiento se determinó que 31% de los individuos que sólo presentaban de un leve a moderado deterioro cognitivo al momento de la prueba olfatoria, desarrollaron la sintomatología clásica de la EA (Fusetti *et al.*, 2010).

La hiposmia puede preceder a los signos motores de la EP y al déficit cognitivo de la EA. Lo cual apoya el importante papel complementario de las pruebas olfatorias en el diagnóstico y manejo de las mencionadas patologías (Eibenstein *et al.*, 2005).

Modelo experimental de la vía intranasal

Son varios los modelos experimentales que han sido desarrollados para el estudio de los mecanismos subyacentes en el desarrollo de la EP: uso de toxinas, animales transgénicos, bacterias, lesiones, etc. (revisado en Rojas-Mayorquín y Ortuño-Sahagún, 2010). Probablemente el modelo experimental de mayor avance es el que utiliza las propiedades neurotóxicas selectivas del MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro-piridina) para producir una degeneración nigral selectiva y por lo tanto parkinsonismo (Davis *et al.*, 1979; Langston *et al.*, 1983a, 1984a; Smeyne y Lewis, 2005). Las secuelas de la degeneración que ocurren tras la administración de MPTP en animales ha resultado ser un modelo útil de la EP, debido a que induce una patología similar a la presentada en los humanos y provee del primer modelo efectivo de la EP en primates no humanos (Burns *et al.*, 1983, 1984).

El MPTP es una toxina xenobiótica que ocasiona la destrucción selectiva de las células dopaminérgicas de la sustancia *nigra*, lo cual se asocia a un síndrome parkinsoniano, tanto en el ser humano como en los primates no humanos, cuando se administra por vía parenteral (Burns *et al.*, 1983; Jenner *et al.*, 1984; Langston *et al.*, 1983a, 1984a,b). Con base en esta observación, Calne y Langston (1983) propusieron la hipótesis de que la EP idiopática podría ser causada por toxinas ambientales que, como el MPTP, serían capaces de inducir una degeneración selectiva e irreversible de neuronas dopaminérgicas mesencefálicas. En roedores, se ha demostrado que únicamente algunas cepas específicas de ratones son sensibles a la administración del MPTP (Heikkila *et al.*, 1984; Sundström *et al.*, 1987; Riachi y Harik, 1988; Hamre *et al.*, 1999; Mitra *et al.*, 1994).

Se ha sugerido que la EP idiopática podría estar provocada por contaminantes ambientales con propiedades tóxicas semejantes al MPTP (revisado en Rojas-Mayorquín y Ortuño-Sahagún, 2010). La estructura del neurotóxico MPTP es similar a una gran cantidad de agentes ambientales, que incluyen herbicidas, como el paraquat (Di Monte *et al.*, 1986) y algunos insecticidas de jardín, como la rotenona, de los cuales se ha demostrado que inducen degeneración de células dopaminérgicas, sin embargo los mecanismos de acción de cada uno son diferentes (revisado en Smeyne y Lewis, 2005). El estudio de los mecanismos de cada una de estas toxinas puede conducir a la identificación de la vía común que subyace a la afectación inducida por dichas toxinas.

Recientemente, se ha demostrado en el modelo murino que ratones tratados con infusión intranasal de MPTP padecen los síntomas progresivos de la EP, que incluyen la degeneración de neuronas dopaminérgicas (Prediger *et al.*, 2010). En este trabajo se demostró que la mayoría de las alteraciones que presentan los ratones C57BL/6, que previamente fueron expuestos a una única dosis intranasal de MPTP (figura 3), fueron similares a las observadas en las fases tempranas de la EP. Los ratones presentaron una pérdida moderada de neuronas dopaminérgicas nigrales, lo que ocasionó un déficit olfatorio y de memoria, sin la presencia, sin embargo, de alteraciones motoras. Tal exposición disminuyó los niveles de la enzima TH en el bulbo olfatorio, el cuerpo estriado y la sustancia *nigra* a través de mecanismos de apoptosis, reduciendo la concentración de dopamina en diferentes estructuras cerebrales, como el bulbo olfatorio, el estriado y la corteza prefrontal, pero no en el hipocampo. Estos hallazgos refuerzan la idea de que el sistema olfatorio representa una ruta particularmente sensible para el transporte de neurotoxinas al sistema nervioso central, que podría estar relacionada con la etiología de la EP.

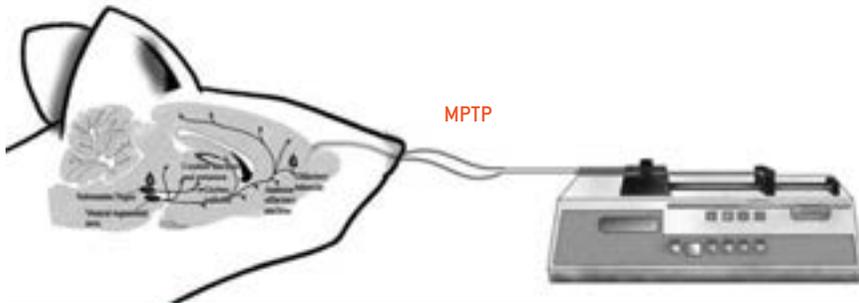


FIGURA 3. Modelo murino de intoxicación intranasal con MPTP. Representación esquemática de la administración intranasal de MPTP en el ratón. [Tomado de Prediger *et al.*, 2010].

Únicamente algunos tipos celulares neurales del sistema nervioso humano son propensos a desarrollar agregados proteicos anormales. Otros tipos neuronales, incluso a pesar de estar localizados en la cercanía de las células nerviosas afectadas, mantienen su morfología y su integridad funcional. Esto significa que el daño neuronal en el cerebro de pacientes con EP no es aleatorio y obedece a ciertas reglas, trazando un patrón de lesión a su paso (Braak *et al.*, 1998; 2003). La razón

de esta marcada vulnerabilidad de algunos tipos de neuronas y de la resistencia de otras aún no se ha dilucidado.

La EP muestra una gran afinidad por áreas corticales y núcleos de la sustancia gris, todos los centros somatosensoriales o viscerosensoriales del cerebro medio, en su mayor parte, se encuentran intactos excepto las estructuras del sistema olfatorio. Los resultados de los trabajos antes descritos proporcionan nuevas perspectivas para los modelos experimentales de la EP. La administración i.n. de MPTP representa un valioso modelo murino para el estudio de las primeras etapas de la EP y para las nuevas estrategias terapéuticas con la visión de restaurar los procesos sensoriales y cognitivos en la EP. Algunos autores han propuesto la teoría del origen dual para la EP (Hawkes *et al.*, 2007), en la cual proponen la existencia de un agente, un neurotóxico o probablemente un patógeno neurotrópico viral, que accede al cerebro a través de dos rutas: la vía nasal a través del bulbo olfatorio, que además se corresponde con la hipótesis del vector olfatorio (figura 4) y la vía gástrica, en la que el virus llega al sistema nervioso de forma retrógrada, a través de los nervios parasimpáticos (Braak *et al.*, 2004), en ambos casos por transporte axonal y transmisión transináptica (Saper *et al.*, 1987; Pearson, 1996).

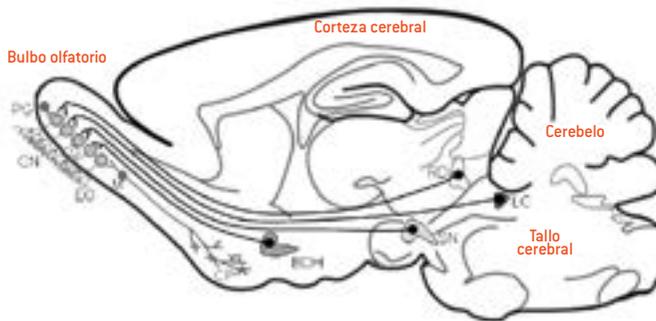


FIGURA 4. Vías olfatorias en la infección viral de áreas específicas del sistema nervioso. La hipótesis del “vector olfatorio” postula que la EP puede ser originada o catalizada por agentes que ingresan el cerebro por la vía de la mucosa olfatoria. CN–cavidad nasal, EO–epitelio olfatorio, G–glomérulo olfatorio, M–células mitrales, PG–células periglomerulares, CP–corteza piriforme, BDH–banda diagonal horizontal, SN–*substantia nigra*, RD–rafé dorsal, LC–*locus coeruleus*. [Tomado de Rojas Mayorquín *et al.*, 2009].

Es claro que muchos virus neurotrópicos pueden acceder al cerebro a través de la vía nasal y que las condiciones del huésped son fundamentales en la modulación de la virulencia y patogenicidad del virus. Actualmente se realizan experimentos en modelos animales para intentar responder a preguntas como: ¿pueden los virus persistir en el tejido nervioso o en el cerebro luego de una infección?, o bien ¿pueden las proteínas virales alterar la función sináptica?

Existen antecedentes de todos estos conceptos, por ejemplo: Howe y Bodian (1941, 1942) demostraron que el sitio de entrada del virus de la poliomielitis determina su tropismo en el sistema nervioso central; sólo el bulbo olfatorio y el núcleo septal participaron de forma selectiva después de la inoculación intranasal. Por otra parte y de forma similar, Anderson y Field (1983) mostraron que la inoculación intranasal del virus del herpes simple tipo 1 (HSV1) afecta al bulbo olfatorio, la corteza piriforme y el hipocampo, así como áreas precisas del tronco encefálico. Estas regiones no fueron afectadas cuando el virus fue inoculado por vía i.v. o intracerebral.

Aún no se ha establecido con precisión qué porcentaje de los pacientes que padecen la EP es como resultado exclusivo de factores ambientales o bien estrictamente una causa genética o posiblemente una combinación de ambas (Di Monte, 2003; Steece-Collier *et al.*, 2002). La mayoría de los estudios epidemiológicos concluyen que menos de 10% de los pacientes de la EP tiene una estricta etiología familiar (Payami y Zarepari, 1998; Polymeropoulos *et al.*, 1997; Gasser, 2001).

Las investigaciones más recientes están dirigidas a la prevención de la degeneración de las neuronas dopaminérgicas. A pesar de los avances en este campo, todos los tratamientos actuales son sintomáticos y ninguno cura o retarda la degeneración de las neuronas dopaminérgicas. El principal obstáculo en el desarrollo de medicamentos neuroprotectores es el desconocimiento de los fenómenos moleculares específicos que ocasionan la neurodegeneración en la EP (Dauer y Przedborski, 2003).

Consideraciones finales

Hasta el momento, queda claro que las disfunciones olfatorias son parte de los primeros signos clínicos identificables de algunas enfermedades neurodegenerativas como son la EP idiopática, la EA, la demencia de cuerpos de Lewy y el complejo

parkinsonismo-demencia de Guam. Se ha sugerido, por tanto, que las pruebas olfatorias no pueden ser utilizadas para distinguir entre estas cuatro enfermedades y que la disfunción olfatoria de estas patologías refleja un substrato neurológico común. Sin embargo, el desarrollo de pruebas olfatorias específicas podría representar una importante herramienta para el diagnóstico de las etapas tempranas de estas patologías. Si bien la vía olfatoria ha demostrado ser una puerta de entrada “directa” para patógenos y tóxicos hacia el sistema nervioso central de mamíferos, quedan aún por esclarecer con mayor precisión los mecanismos de transporte y daño de cada uno de estos agentes.

Referencias

- Anderson JR, Field HJ. (1983). The distribution of herpes simplex type I antigen in mouse central nervous system after different routes of inoculation. *J Neurol Sci.*, 60(2):181-195.
- Becker G, Müller A, Braune S, Büttner T, Benecke R, Greulich W, Klein W, Mark G, Rieke J, Thümler R. (2002) Early diagnosis of Parkinson's disease. *J Neurol.*, 249 Suppl 3:III/40-8.
- Braak H, de Vos RA, Jansen EN, Bratzke H, Braak E. (1998) Neuropathological hallmarks of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Prog Brain Res.*, 117:267-85.
- Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.*, 24(2):197-211.
- Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Del Tredici K. (2004). Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res.*, 318(1):121-134.
- Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM y Kopin IJ. (1983). A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 80(14):4546-4550.
- Burns RS, Markey SP, Phillips JM, Chiueh CC. (1984) The neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the monkey and man. *Can J Neurol Sci.*, (1 Suppl):166-8.
- Calne DB, Langston JW. (1983) Aetiology of Parkinson's disease. *Lancet.*, 2(8365-66):1457-1459.
- Dauer W, Przedborski S. (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron.* 39(6):889-909.

- Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Caine ED, Reichert CM, Kopin IJ. (1979). Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res.* 1(3):249-254.
- Di Monte D, Sandy MS, Ekström G, Smith MT. (1986). Comparative studies on the mechanisms of paraquat and 1-methyl-4-phenylpyridine (MPP+) cytotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 137(1):303-9.
- Di Monte DA. (2003). The environment and Parkinson's disease: is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins? *Lancet Neurol.* 2(9):531-538.
- Djordjevic J, Jones-Gotman M, De Sousa K, Chertkow H. (2008). Olfaction in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 29(5):693-706.
- Doty RL, Deems DA, Stellar S. (1988). Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration. *Neurology.* 38:1237-1244.
- Doty RL, Perl DP, Steele JC, Chen KM, Pierce JD Jr, Reyes P, Kurland LT. (1991). Odor identification deficit of the parkinsonism-dementia complex of Guam: equivalence to that of Alzheimer's and idiopathic Parkinson's disease. *Neurology.* 41(5 Suppl 2):77-81.
- Doty RL, Singh A, Tetrud J, Langston JW. (1992a). Lack of major olfactory dysfunction in MPTP-induced parkinsonism. *Ann Neurol.* 32:97-100.
- Doty RL, Stern MB, Pfeiffer C, Gollomp SM, Hurtig HI. (1992b). Bilateral olfactory dysfunction in early stage medicated and unmedicated idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 55:138-142.
- Doty RL. (2008). The Olfactory Vector Hypothesis of Neurodegenerative Disease: Is It Viable? *Ann Neurol.* 63(1):7-15.
- Eibenstein A, Fioretti AB, Lena C, Rosati N, Amabile G, Fusetti M. (2005). Modern psychophysical tests to assess olfactory function. *Neurol Sci.* 26(3):147-55.
- Fusetti M, Fioretti AB, Silvagni F, Simaskou M, Sucapane P, Necozone S, Eibenstein A. (2010). Smell and preclinical Alzheimer disease: study of 29 patients with amnesic mild cognitive impairment. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 39(2):175-81.
- Gasser T. (2001) Genetics of Parkinson's disease. *J. Neurol.* 248(10):833-840.
- German DC, Manaye K, Smith WK, Woodward DJ, Saper CB. (1989). Midbrain dopaminergic cell loss in Parkinson's disease: computer visualization. *Ann Neurol.* 26(4):507-514
- Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, Peterson EL, Richardson RJ. (1998) The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology.* 50(5):1346-50.

- Hamre K, Tharp R, Poon K, Xiong X, Smeyne RJ. (1999). Differential strain susceptibility following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) administration acts in an autosomal dominant fashion: quantitative analysis in seven strains of *Mus musculus*. *Brain Res.* 828(1-2):91-103.
- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. (2007). Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 33(6):599-614.
- Heikkilä RE, Hess A, Duvoisin RC. (1984). Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine in mice. *Science.* 224(4656):1451-1453.
- Howe HA, Bodian D. (1941) Second Attacks of Poliomyelitis: An Experimental Study. *J Exp Med.* 74(2):145-66
- Howe HA, Bodian D. (1942). Neural mechanisms in poliomyelitis. *Commonwealth Foundation.*
- Jenner P, Rupniak NM, Rose S, Kelly E, Kilpatrick G, Lees A, Marsden CD. (1984). 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in the common marmoset. *Neurosci Lett.* 50(1-3):85-90.
- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. (1983a). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science.* 219(4587):979-980.
- Langston JW, Ballard PA Jr. (1983b). Parkinson's disease in a chemist working with 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *N Engl J Med.* 309(5):310.
- Langston JW, Irwin I, Langston EB, Forno LS. (1984a). 1-Methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺): identification of a metabolite of MPTP, a toxin selective to the substantia nigra. *Neurosci Lett.* 48(1):87-92.
- Langston JW, Langston EB, Irwin I. (1984b). MPTP-induced parkinsonism in human and non-human primates--clinical and experimental aspects. *Acta Neurol Scand Suppl.* 100:49-54.
- Liberini P, Parola S, Spano PF, Antonini L. (2000). Olfaction in Parkinson's disease: methods of assessment and clinical relevance. *J Neurol.* 247(2):88-96.
- Ma Y, Dhawan V, Mentis M, Chaly T, Spetsieris PG, Eidelberg D. (2002). Parametric mapping of [18F]FPCIT binding in early stage Parkinson's disease: a PET study. *Synapse.* 45(2):125-33.
- Mitra N, Mohanakumar KP, Ganguly DK. (1994). Resistance of golden hamster to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: relationship with low levels of regional monoamine oxidase B. *J Neurochem.* 62(5):1906-12.
- Payami H, Zarepari S. (1998). Genetic epidemiology of Parkinson's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 11(2):98-106.
- Pearson, R.C. (1996). Cortical connections and the pathology of Alzheimer's disease. *Neurodegeneration.* 5(4):429-434.

- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papatropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. (1997). Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*. 276(5321):2045-2047.
- Prediger RD, Aguiar AS Jr, Rojas-Mayorquín AE, Figueiredo CP, Matheus FC, Ginestet L, Chevarin C, Bel ED, Mongeau R, Hamon M, Lanfumey L, Raisman-Vozari R. (2010). Single intranasal administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in C57BL/6 mice models early preclinical phase of Parkinson's disease. *Neurotoxicity Research*. 17(2):114-129.
- Quinn NP, Rossor MN, Marsden CD. (1987). Olfactory threshold in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 50:88-89.
- Riachi NJ, Harik SI. (1988). Strain differences in systemic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity in mice correlate best with monoamine oxidase activity at the blood-brain barrier. *Life Sci*. 42(23):2359-2363.
- Rojas-Mayorquín AE y Ortuño-Sahagún D. Administración de MPTP por vía intranasal como modelo efectivo para el estudio de la enfermedad de Parkinson. En: Tópicos de actualización en neurobiología. Excitotoxicidad y cognición en enfermedades neurodegenerativas: Aspectos básicos, clínicos y sociales. Eds: Beas, Ureña, Rivera, Pallás y Camins. Universidad de Guadalajara. ISBN 978-970-27-2012-16, 2010: 215-230 .
- Rojas-Mayorquín A.E., Guzmán-Brambila C., Álvarez-Palazuelos L.E. y Ortuño-Sahagún D. (2009) Características moleculares del virus de la Influenza A (H1N1) y su posible relación con la enfermedad de Parkinson. *Archivos de Ciencia* 1(2):102-112.
- Santin R, Fonseca VF, Bleil CB, Rieder CR, Hilbig A. (2010) Olfactory function and Parkinson's disease in Southern Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 68(2):252-7.
- Saper, C.B., Wainer, B.H., German, D.C. (1987). Axonal and transneuronal transport in the transmission of neurological disease: potential role in system degenerations, including Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 23(2):389-98.
- Smeyne RJ, Jackson-Lewis V. (2005). The MPTP model of Parkinson's disease. *Brain Res Mol Brain Res*. 134(1):57-66.
- Steece-Collier K, Maries E, Kordower JH. (2002). Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99(22):13972-13974.
- Stern MB, Doty RL, Dotti M, Corcoran P, Crawford D, McKeown DA, Adler C, Gollomp S, Hurtig H. (1994) Olfactory function in Parkinson's disease subtypes. *Neurology*. 44(2):266-8.
- Sundström E, Strömberg I, Tsutsumi T, Olson L, Jonsson G. (1987). Studies on the effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) on central catecholamine

- neurons in C57BL/6 mice. Comparison with three other strains of mice. *Brain Res.* 405(1):26-38.
- Tissingh G, Berendse HW, Bergmans P, DeWaard R, Drukarch B, Stoof JC, Wolters EC. (2001) Loss of olfaction in de novo and treated Parkinson's disease: possible implications for early diagnosis. *Mov Disord.* 16(1):41-6.
- Valverde F. (2003). El bulbo olfativo: un modelo para estudios experimentales. *Neurología.* 18(4):177-86.
- Ward CD, Hess WA, Calne DB. (1983). Olfactory impairment in Parkinson's disease. *Neurology.* 33:943-946.

7

Neurogénesis endógena en las enfermedades neurodegenerativas

*Carme Auladell,¹ Fèlix Junyent,^{2,3} Jaume Folch,³ Rafael Romero⁴
y Ester Verdaguer¹*

Resumen

En el cerebro adulto de vertebrados la existencia de neurogénesis, proceso que involucra la generación de nuevas neuronas, ha sido bien caracterizada. En mamíferos se han definido, de forma clara, dos zonas neurogénicas: la zona subventricular de los ventrículos laterales (ZSV) y la zona subgranular del giro dentado (GD) del hipocampo (ZSG). Ambas contienen precursores neurales/células madre de naturaleza glial, astrocitos, que derivan de las células neuroepiteliales embrionarias. La existencia de esta neurogénesis sugiere la capacidad intrínseca del cerebro para repararse, además de importantes implicaciones en su función y patología. En este capítulo presentamos una revisión de las alteraciones neurogénicas halladas en la enfermedad de Alzheimer (EA) y en la epilepsia del lóbulo temporal (ELT). Si bien en ambas patologías hay controversias importantes según el modelo experimental utilizado y el tejido humano analizado, las modificaciones de la neurogénesis, aunque divergentes, quedan patentes. En la

¹ Departament de Biologia Cel·lular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

² Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia Facultat de Farmàcia, Institut de Biomedicina (IBUB), Centros de Investigació Biomèdica en Red de Enfermedades Neurodegeneratives (CIBERNED), Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

³ Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

⁴ Unitat de Bioquímica, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona, España.

EA, la hipótesis más aceptada hasta el momento es la existencia de un aumento de la proliferación asociada a una disminución de la tasa de supervivencia de las neuronas generadas *de novo*. Por lo que respecta a la epilepsia, la neurogénesis del hipocampo incrementa en estados epilépticos agudos, además de inducirse migraciones aberrantes; mientras que en la ELT crónica, la aparición de convulsiones espontáneas da lugar a una disminución de la neurogénesis, en simultáneo a un incremento de células gliales. Incidir en la terapia de estas enfermedades, a través del control de la neurogénesis endógena, puede aportar resultados beneficiosos para el paciente.

Neurogénesis en el cerebro adulto

A partir de las observaciones de Altman y Das (1965), seguidas de las de Kaplan y Hinds (1977) sobre el proceso de generación de nuevas neuronas (neurogénesis) en el cerebro adulto, se descarta la premisa de que “todo puede morir, nada tiene capacidad de regenerar”. Actualmente se admite que la neurogénesis del sistema nervioso central (SNC) contribuye a la regeneración de los tejidos dañados, tanto en homeostasis como en estados patológicos (Abdipranoto y col., 2008). Si bien las dos zonas neurogénicas mejor caracterizadas son la zona subventricular en los ventrículos laterales (ZSV) y la zona subgranular del giro dentado (GD) del hipocampo (ZSG), continuamente se están localizando regiones del cerebro con actividad proliferativa, como por ejemplo en los órganos circunventriculares próximos a los ventrículos (Bennett y col., 2009).

La ZSV contiene células progenitoras de ciclo celular largo, conocidas como las células de tipo B de carácter astrocítico. Una subpoblación de estas células, las B1 están en la zona ventricular (ZV) en contacto con el líquido cefalorraquídeo, rodeadas por células endociliales, serían las auténticas células madre (Mirzadeh y col., 2008). Éstas dan lugar a células con alta actividad proliferativa, las de tipo C, que a su vez generan neuroblastos inmaduros, las células de tipo A (figura 1).

Estos neuroblastos migran tangencialmente en cadena, formando la vía migratoria rostral (Lois y Álvarez-Buylla, 1994, Lois y col., 1996, Peretto y col., 1997), hasta el bulbo olfativo, donde se diferencian en interneuronas (Álvarez-Buylla y García-Verdugo, 2002, Ma y col., 2009). Esta migración rostral, claramente definida en roedores, no ha sido descrita en cerebro humano adulto, sin

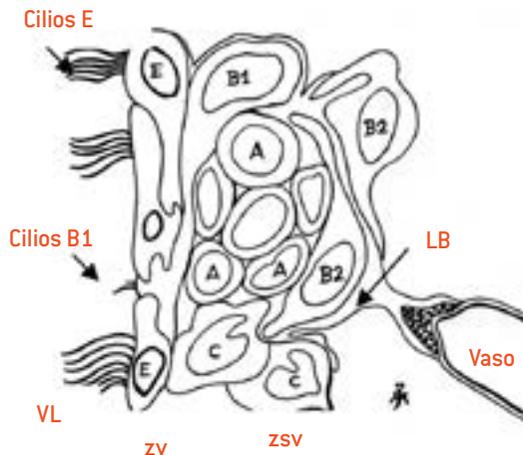


FIGURA 1. Arquitectura de la zona subventricular (ZSV) en cerebro de ratón. La ZSV se localiza al lado de los ventrículos laterales (VL). En la zona ventricular (ZV) se encuentran las células ependimales (E) y algunas células (astrocitos) de tipo B (las B1), las células madre. A través de cilios están en contacto con el ventrículo. En la ZSV se encuentran las células B2, las células C, los neuroblastos (células A). Estas células están en contacto con la lámina basal (LB) y los vasos sanguíneos. Esquema modificado de Ihrie y Álvarez-Buylla (2008).

embargo un estudio reciente ha evidenciado su presencia en cerebros de fetos humanos de 20 semanas de gestación (Guerrero-Cazares y col. 2011). Esta vía de neurogénesis está directamente relacionada con la discriminación y la memoria de los olores (Gheusi y col., 2000, Magavi y col., 2005). En la ZSV además de los precursores neuronales existen los gliales que migran a estriado, cuerpo calloso y fimbria, para diferenciarse a oligodendrocitos (Menn y col., 2006). Esta vía de gliogénesis se incrementa en procesos de remielinización y en enfermedades neurodegenerativas, como comentaremos más adelante.

En la ZSG, situada entre la interfase del hilus y la capa de células granulares del hipocampo, las células madre, también de carácter astrocítico, no contactan directamente con los ventrículos o el líquido cefalorraquídeo. Pero, al igual que ocurre en la ZSV, interaccionan con las células que derivan de ellas, las células de tipo D. Éstas tienen un carácter proliferativo y migran dentro de la capa de célu-

las granulares (CCG) para formar nuevas neuronas granulares que se incorporan funcionalmente en el circuito del hipocampo, estableciendo contactos sinápticos aferentes y eferentes (figura 2) (Seri y col., 2004).

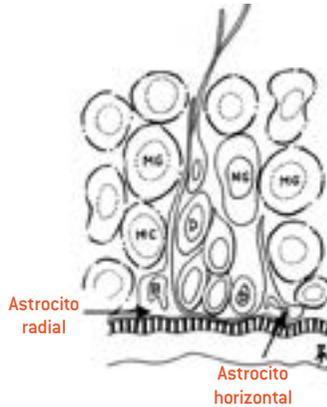


FIGURA 2. Arquitectura de la zona subgranular (ZSG) del cerebro de ratón. Esta zona contiene las células madre, astrocitos B radiales y horizontales. Los astrocitos horizontales tienen una proyección radial que penetra en la capa granular y procesos tangenciales, paralelos a la ZSG. D: células inmaduras que maduran a células granulares (NG). MG: células granulares maduras. Esquema modificado de Ihrie y Álvarez-Buylla (2008).

La neurogénesis en esta zona germinativa parece tener un papel crucial en procesos de memoria y aprendizaje (Aimone y col., 2010; Deng y col., 2009). La posición de las células precursoras en los nichos neurogénicos permite que su actividad (auto-renovación, proliferación y diferenciación) esté controlada por factores celulares extrínsecos e intrínsecos (revisión de Suh y col., 2009). Entre los factores secretados por el nicho neurogénico, cabe destacar la actividad de los genes Notch i BMP (bone morphonetic protein) como reguladores de la neurogénesis (Johnson y col., 2009) y los ligandos de la vía Wnt que participan en la proliferación y la diferenciación de los progenitores neurales adultos (Inestrosa y Arenas, 2010; Lie y col, 2005, Jessberger y col., 2009). La actividad del neurotransmisor GABA (ácido g-aminobutírico) que actúa como señal excitadora en las células indiferenciadas, a diferencia de lo que ocurre en las neuronas maduras, y es relevante para la formación de las sinapsis y el desarrollo dendrítico (Ge y

col., 2006; 2007). El factor de transcripción Sox2 es clave en el mantenimiento de las células progenitoras/madre (Episkopou, 2005; Gao y col., 2009) y el NeuroD1 controla la diferenciación y la supervivencia de las nuevas neuronas granulares (Gao y col., 2009). Diferentes estímulos intervienen en el control neurogénico tales como las experiencias olfativas, que lo harán sobre la ZSV (revisión de (Ma y col., 2009)), y el enriquecimiento del entorno, la actividad física, el estrés y la depresión actuarán sobre la ZSG del hipocampo (Kempermann y col., 1997; van Praag y col., 1999; Sahay y Hen, 2007).

Implicaciones fisiológicas en la neurogénesis del cerebro adulto

Si bien está plenamente aceptada y demostrada la actividad neurogénica en el cerebro adulto, quedan muchos interrogantes acerca de cómo las neuronas generadas *de novo* van a desarrollar su actividad y cómo van a influenciar en la dinámica global del cerebro. Estudios electrofisiológicos en el hipocampo han permitido demostrar que las nuevas neuronas, identificadas mediante inyecciones retrovirales, quedan integradas en una red neuronal preexistente, manifestando las mismas características eléctricas que la células granulares maduras a pesar de no conocerse sus funciones. Sin embargo, se ha podido demostrar que el umbral para la potenciación a largo término, que es la mejora de la transmisión entre las neuronas, es menor que el requerido en las células granulares maduras (Synder y col., 2001). Se ha sugerido que esta característica sea la que intervenga en el incremento de la plasticidad hipocampal y, por lo tanto, esté relacionada con el control de los estados emocionales (Bannerman y col., 2004) y la capacidad de memorizar y aprender (Kempermann, 2008). En el presente capítulo haremos una breve revisión de los procesos de neurogénesis en la enfermedad de Alzheimer (EA) de acuerdo a Varela y col., (2010) y en los estados epilépticos (revisión de Kuruba y col., 2009).

Neurogénesis en la enfermedad de Alzheimer

El Alzheimer, enfermedad neurodegenerativa (EA), es uno de los grandes males a los que se enfrenta el siglo XXI. Se caracteriza por la aparición de alteraciones cognitivas, como dificultades en el aprendizaje y pérdida de memoria debida a una neurodegeneración generalizada en el sistema límbico y la corteza asociativa

(Dickson, 1997). Como caracteres neuropatológicos de la EA hay la formación de ovillos neurofibrilares dentro de la neurona (filamentos de proteína tau), la aparición de neuritas distróficas y la acumulación de agregados fibrilares extracelulares insolubles (las placas seniles) (Grundke-Iqbal y col., 1986). Estos depósitos están compuestos de una proteína llamada β -péptido-amiloidea (Ab) (Morgan y col., 2004), generada por el proceso proteolítico de la proteína precursora amiloidea (APP) (Perl y col., 2010; Jarrett y col., 1993). Mutaciones en la APP y las presenilinas (PS1 y PS2), que actúan como núcleo catalítico en la función del complejo γ -secretasa, enzima que rompe la APP, se atribuyen como causantes del EA familiar (Levy-Lahad y col., 1995). La neurodegeneración inicial de la EA aparece en la corteza transentorrinal, posteriormente se extiende a la corteza entorrinal y al hipocampo y en las últimas etapas difunde al lóbulo temporal, frontal y parietal (Thompson y col., 2003; Thompson y Apostolova, 2007). La afectación temprana en el hipocampo y la presencia de un nicho neurogénico en esta área, sugieren que la neurogénesis quede afectada y ello pueda ser clave en la progresión de la enfermedad (Seaberg y van der Kooy, 2002; Chevallier y col., 2005; López-Toledano y Shelanski, 2007; Rodríguez y col., 2008,; Rodríguez y col., 2009).

Neurogénesis en modelos animales para EA y en tejido post mortem

La EA, como cualquier otra forma de demencia, es exclusiva de los humanos (Toledano y Álvarez, 2004). Por ello, y dada la dificultad de estudiarla, se han realizado muchos esfuerzos en la generación de modelos EA animales que reproduzcan varias de las neuropatologías que se desencadenan en pacientes con esta enfermedad, como alteraciones afectivas y/o bioquímicas (Gotz y col., 2004; Moreau y col., 2008). La ausencia de un modelo estándar dificulta su estudio y explica la controversia de resultados a nivel de neurogénesis, generada a partir de modelos de ratones transgénicos. Así, en transgénicos que expresan la proteína mutante precursora amiloidea (APP) se observó una disminución de la neurogénesis, tanto en el GD como en la ZSV (Feng y col., 2001; Wang y col., 2004; Wen y col., 2004; Donovan y col., 2006; Wolf y col., 2006). Sin embargo, en ratones transgénicos mutantes “platelet-derived-growth factor-APP(Sw,Ind)” jóvenes (3 meses) se detectó un incremento de la neurogénesis en el hipocampo (Jin y col., 2004b; López-Toledano y Shelanski, 2007). Aumento observado, también, en la ZSV de ratones jóvenes APP/presenilina 1 (PS1) que expresan la proteína

mutada APP y la PS1 (Sotthibundhu y col. 2009) mientras que Zhang y col. (2007) con este doble *knock-in* (APP-PS1) en edades más avanzadas, determinaron una disminución de la neurogénesis en la zona del GD del hipocampo. El modelo transgénico triple (3xTg-AD) con tres genes mutados (para APP_{swe}, para PS_{1M146V} y para tau_{p301L}) (Oddo y col., 2003a, 2003b) ha revelado que hay una disminución de la neurogénesis, tanto en la ZSV como en la ZSG (Rodríguez y Verkhatsky, 2011). Dado que los modelos animales estudiados no presentan todos los caracteres patológicos asociados a la EA, es posible que las variaciones observadas en la neurogénesis dependan del genotipo estudiado (Wolf y col., 2006), de la progresión de la patología y del marcador utilizado para definirla.

Estudios derivados del análisis de cerebros *post mortem* también han dado resultados controvertidos (Haughey y col., 2002; Jin y col., 2004a; 2004b). Debe tenerse en cuenta que, normalmente, el tejido procede de pacientes que están en las últimas etapas de la enfermedad y que el enfermo ha seguido un tratamiento clínico que puede enmascarar la interpretación del proceso de neurogénesis. Estudios en el hipocampo de cerebros EA preseniles revelaron un incremento de la proliferación, en simultaneo a una disminución de la neurogénesis, sugiriendo un aumento del proceso de gliogénesis (Boekhoorn y col., 2006). Un estudio similar, focalizado en la ZSV, evidenció una reducción de los precursores neurales en esta área (Ziabreva y col., 2006). Se ha sugerido, también, que los pacientes con EA presentan un incremento de la proliferación pero una disminución en la tasa de supervivencia de las neuronas generadas *de novo* (Shruster y col., 2010). Actualmente es la hipótesis más aceptada, de acuerdo con los resultados observados en pacientes y en los modelos EA animales. Esta afirmación puede explicarse por la existencia de aberraciones en el ciclo celular que podrían inducir la neurodegeneración (Bonda y col. 2010a y 2010b).

Neurogénesis en epilepsia

Los mecanismos que inducen las convulsiones son el resultado de un desequilibrio entre señales excitadoras (despolarizantes) e inhibitoras (hiperpolarizantes). Esto da lugar a una descarga neuronal anormal, asociada a una gran liberación de glutamato. El tipo de epilepsia más frecuente en humanos es la epilepsia

del lóbulo temporal (ELT), que afecta a distintas estructuras del sistema límbico (Engel y col., 1989).

Debido a la dificultad que plantea el estudio de los mecanismos patológicos de la ELT en pacientes humanos, se han generado distintos modelos experimentales animales que han permitido avanzar en el conocimiento de los procesos celulares que se desencadenan en los estados epilépticos, en las técnicas de diagnóstico y en el desarrollo de fármacos. Los modelos más utilizados en el estudio de la ELT son el de *kindling* (Goddard, 1967) y los basados en drogas excitotóxicas, como el ácido kaínico (AK) y la pilocarpina (Turski y col., 1983; Ben-Ari, 1985). A diferencia del modelo de *kindling*, los estatus epilépticos, inducidos con los agentes excitotóxicos, determinan alteraciones anatómicas en el hipocampo, similares a las descritas en los pacientes humanos que sufren la ELT (Niquet y col., 1994; Blumcke y col., 2000; Lee y col., 2002). En este capítulo haremos una breve revisión de las alteraciones neurogénicas en la ZSG, asociadas a la inducción de un *estatus epiléptico*.

Respuesta neurogénica hipocampal ante convulsiones agudas

Los primeros estudios neurogénicos en modelos experimentales de ELT revelaron un incremento neuronal en la ZSG y en la capa de células granulares (CCG) del GD, tras convulsiones agudas inducidas con policarpina (Parent y col., 1997) o por estimulaciones provocadas con el fenómeno *kindling* (Benzon y col., 1997). También se observó incremento después de inyecciones con AK (Gray y Sundstrom, 1998). Estos resultados han sido refrendados por los estudios realizados con otros modelos de epilepsia (Nakagawa y col., 2000; Jessberger y col., 2005). Por tanto, en humanos podría ocurrir un fenómeno similar tras una convulsión aguda. Dado que ello es difícil de evaluar, se ha analizado la tasa de neurogénesis en el hipocampo de niños con ELT. Los resultados han evidenciado un incremento en el número de los precursores neurales y la proliferación (Blumcke y col., 2001), lo que hace suponer un incremento de la neurogénesis hipocampal en estadios tempranos de la ELT humana.

Tanto en modelos animales para la ELT como en pacientes con ELT, además de un incremento en la proliferación, se ha detectado una migración anómala hacia el hilus o la capa molecular del hipocampo, de las neuronas generadas *de novo* (Houser, 1990; Sloviter, 1991). Un estudio de Gong y col. (2007), sugiere que la bajada en

la expresión de la *reelina* (proteína de matriz extracelular que interviene en la guía neuronal durante la migración) después de convulsiones agudas, contribuye a la formación de una cadena migratoria ectópica y a la integración de las nuevas neuronas en lugares anómalos. Al mismo tiempo, se ha observado que una fracción significativa de las nuevas células granulares presenta un patrón dendrítico basal alterado, posiblemente involucrado en la formación de los circuitos epileptogénicos (Shapiro y col., 2007). Por tanto, la supresión de la neurogénesis anormal en el hipocampo después de convulsiones agudas puede resultar beneficiosa, reduciendo la excitabilidad y en consecuencia las alteraciones derivadas.

Respuesta neurogénica hipocampal ante convulsiones espontáneas crónicas

En ratas, el incremento en la neurogénesis, observado justo después de las convulsiones agudas, revierte a los dos meses del primer episodio convulsivo (Jessberger y col., 2007). Sin embargo, la neurogénesis baja radicalmente en la fase crónica de la epilepsia, cuando de forma espontánea se desarrollan numerosas convulsiones. En esta fase, estudios de Hattiangady y col. (2004) en ratas tratadas con AK, determinaron un descenso en la neurogénesis del GD (entre 64% y 81%); sin embargo, la incorporación de nuevas células en la ZSG-CCG y su supervivencia eran similares a las encontradas en hipocampos no patológicos. Al analizar la naturaleza de las células generadas, se detectó un incremento en astrocitos y oligodendrocitos, sugiriendo un cambio en la diferenciación de los precursores neurales; en concreto 79% se diferenciaban a astrocitos o a progenitores de oligodendrocitos, a diferencia del 25% que ocurre en el hipocampo no patológico. Estos datos indican que la disminución en la neurogénesis es debida a un incremento en la gliogénesis, más que a cambios en el mantenimiento y proliferación de los precursores neurales (Hattiangady y Shetty, 2010; Crespel y col., 2005).

A pesar de la dificultad para estudiar pacientes humanos, Mathern y col. (2002) observaron una disminución de la neurogénesis en el GD de niños que presentaban convulsiones espontáneas muy frecuentes. Este descenso fue detectado, también, en pacientes adultos con ELT crónica a pesar del incremento hallado de células precursoras/madre (Musashi-1, positivas) (Crespel y col., 2005; Pirttila y col., 2005). Posiblemente, el mantenimiento homeostático de niveles bajos de la neurogénesis contribuya a la persistencia de las convulsiones, disfunciones cognitivas y estados depresivos. Terapéuticamente, el control endógeno de los procesos

de neurogénesis podría disminuir muchas de las alteraciones asociadas a la ELT. El resultado final dependerá de la conectividad con que las neuronas generadas *de novo* restablezcan el patrón.

Conclusiones

Enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ALS) o los estados epilépticos crónicos, se caracterizan por una pérdida de neuronas. Se cree que la pérdida de células es la base de la subsiguiente disminución en las capacidades cognitivas o en la función motora. El reciente descubrimiento de la neurogénesis en SNC y su afectación en las enfermedades neurodegenerativas nos plantea si la terapia sobre la neurogénesis endógena podría contribuir al tratamiento de estas patologías. Para ello es necesario profundizar en los mecanismos celulares que controlan este proceso.

Referencias

- Abdipranoto A, Wu S, Stayte S y Vissel B. 2008. The role of neurogenesis in neurodegenerative diseases y its implications for therapeutic development. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 7, 187-210.
- Aimone JB, Deng W y Gage FH. 2010. Adult neurogenesis: integrating theories y separating functions. *Trends Cogn Sci*. 14, 325-337.
- Altman J. y Das GD. 1965. Autoradiographic y histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*. 124, 319-335.
- Álvarez-Buylla A y García-Verdugo JM. 2002. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci*. 22, 629-634.
- Bannerman DM, Rawlins JN, McHugh SB, Deacon RM, Yee BK, Bast T, Zhang WN, Pothuizen HH y Feldon J. 2004. Regional dissociations within the hippocampus—memory y anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 28, 273-283.
- Ben-Ari Y. 1985. Limbic seizure y brain damage produced by kainic acid: mechanisms y relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*. 14, 375-403.
- Bengzon J, Kokaia Z, Elmer E, Nanobashvili A, Kokaia M y Lindvall O. 1997. Apoptosis y proliferation of dentate gyrus neurons after single y intermittent limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94, 10432-10437.

- Bennett L, Yang M, Enikolopov G y Lacovitti L. 2009. Circumventricular organs: a novel site of neural stem cells in the adult brain. *Mol Cell Neurosci*. 41, 337-347.
- Blumcke I, Becker AJ, Klein C, Scheiwe C, Lie AA, Beck H, Waha A, Friedl MG, Kuhn R, Emson P, Elger C y Wiestler OD. 2000. Temporal lobe epilepsy associated up-regulation of metabotropic glutamate receptors: correlated changes in mGluR1 mRNA y protein expression in experimental animals y human patients. *J Neuropathol Exp Neurol*. 59, 1-10.
- Blumcke I, Schewe JC, Normann S, Brustle O, Schramm J, Elger CE y Wiestler OD. 2001. Increase of nestin-immunoreactive neural precursor cells in the dentate gyrus of pediatric patients with early-onset temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*. 11, 311-321.
- Boekhoorn, K., Joels, M y Lucassen, P. J., 2006. Increased proliferation reflects glial y vascular-associated changes, but not neurogenesis in the presenile Alzheimer hippocampus. *Neurobiol Dis*. 24, 1-14.
- Bonda, DJ, Bajic VP, Spremo-Potparevic B, Casadesus G, Zhu X, Smith MA y Lee H. G. 2010a. Review: cell cycle aberrations y neurodegeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 36, 157-163.
- Bonda DJ, Lee HP, Kudo W, Zhu X, Smith MA y Lee HG. 2010b. Pathological implications of cell cycle re-entry in Alzheimer disease. *Expert Rev Mol Med*. 12, e19.
- Chevallier NL, Soriano S, Kang DE, Masliah E, Hu G y Koo EH. 2005. Perturbed neurogenesis in the adult hippocampus associated with presenilin-1 A246E mutation. *Am J Pathol*. 167, 151-159.
- Crespel A, Rigau V, Coubes P, Rousset MC, de Bock F, Okano H, Baldy-Moulinier M, Bockaert J y Lerner-Natoli M, 2005. Increased number of neural progenitors in human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis*. 19, 436-450.
- Deng W, Saxe MD, Gallina IS y Gage FH. 2009. Adult-born hippocampal dentate granule cells undergoing maturation modulate learning y memory in the brain. *J Neurosci*. 29, 13532-13542.
- Dickson DW. 1997. The pathogenesis of senile plaques. *J Neuropathol Exp Neurol*. 56, 321-339.
- Donovan MH, Yazdani U, Norris RD, Games D, German DC y Eisch AJ. 2006. Decreased adult hippocampal neurogenesis in the PDAPP mouse model of Alzheimer's disease. *J Comp Neurol*. 495, 70-83.
- Engel J Jr, Babb TL y Cryall PH. 1989. Surgical treatment of epilepsy: opportunities for research into basic mechanisms of human brain function. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 46, 3-8.
- Episkopou V. 2005. SOX2 functions in adult neural stem cells. *Trends Neurosci*. 28, 219-221.
- Feng R, Rampon C, Tang YP, Shrom D, Jin J, Kyin M, Sopher B, Miller MW, Ware C, B, Martin GM, Kim SH, Langdon RB, Sisodia SS y Tsien JZ. 2001. Deficient neuro-

- genesis in forebrain-specific presenilin-1 knockout mice is associated with reduced clearance of hippocampal memory traces. *Neuron*. 32, 911-926.
- Gao Z, Ure K, Ables JL, Lagace DC, Nave KA, Goebbels S, Eisch AJ, y Hsieh J. 2009. *Neurod1* is essential for the survival y maturation of adult-born neurons. *Nat Neurosci*. 12, 1090-1092.
- Ge S, Goh EL, Sailor KA, Kitabatake Y, Ming GL y Song H. 2006. GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature*. 439, 589-593.
- Ge S, Pradhan DA, Ming GL y Song H. 2007. GABA sets the tempo for activity-dependent adult neurogenesis. *Trends Neurosci*. 30, 1-8.
- Gheusi G, Cremer H, McLean H, Chazal G, Vincent JD y Lledo, PM. 2000. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97, 1823-1828.
- Goddard GV. 1967. Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*. 214, 1020-1021.
- Gong C, Wang, TW, Huang HS y Parent JM. 2007. Reelin regulates neuronal progenitor migration in intact y epileptic hippocampus. *J Neurosci*. 27, 1803-1811.
- Gotz J, Streffer JR, David D, Schild A, Hoerndli F, Pennanen L, Kurosinski P y Chen F. 2004. Transgenic animal models of Alzheimer's disease y related disorders: histopathology, behavior y therapy. *Mol Psychiatry*. 9, 664-683.
- Gray WP y Sundstrom LE. 1998. Kainic acid increases the proliferation of granule cell progenitors in the dentate gyrus of the adult rat. *Brain Res*. 790, 52-59.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM y Binder LI. 1986. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (τ) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 83, 4913-4917.
- Guerrero-Cazares H, Gonzalez-Perez O, Soriano-Navarro M, Zamora-Berridi G, García-Verdugo JM y Quinones-Hinojosa A. 2011. Cytoarchitecture of the lateral ganglionic eminence y rostral extension of the lateral ventricle in the human fetal brain. *J Comp Neurol*. 519, 1165-1180.
- Hattiangady B, Rao MS y Shetty AK. 2004. Chronic temporal lobe epilepsy is associated with severely declined dentate neurogenesis in the adult hippocampus. *Neurobiol Dis*. 17, 473-490.
- Hattiangady B y Shetty AK. 2010. Decreased neuronal differentiation of newly generated cells underlies reduced hippocampal neurogenesis in chronic temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*. 20, 97-112.
- Haughey NJ, Liu D, Nath A, Borchard AC y Mattson MP. 2002. Disruption of neurogenesis in the subventricular zone of adult mice, y in human cortical neuronal precursor cells in culture, by amyloid beta-peptide: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med*. 1, 125-135.

- Houser CR. 1990. Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 535, 195-204.
- Inestrosa NC y Arenas E. 2010. Emerging roles of Wnts in the adult nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 11, 77-86.
- Jarrett JT, Berger EP y Lansbury PT. Jr. 1993. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry.* 32, 4693-4697.
- Jessberger S, Clark RE, Broadbent, N. J., Clemenson, G. D., Jr., Consiglio, A., Lie, D. C., Squire, L. R. y Gage, F. H., 2009. Dentate gyrus-specific knockdown of adult neurogenesis impairs spatial y object recognition memory in adult rats. *Learn Mem.* 16, 147-154.
- Jessberger, S, Romer B, Babu H y Kempermann G, 2005. Seizures induce proliferation y dispersion of doublecortin-positive hippocampal progenitor cells. *Exp Neurol.* 196, 342-351.
- Jessberger S, Zhao C, Toni N, Clemenson GD Jr., Li Y y Gage FH. 2007. Seizure-associated, aberrant neurogenesis in adult rats characterized with retrovirus-mediated cell labeling. *J Neurosci.* 27, 9400-9407.
- Jin K, Galvan V, Xie L, Mao XO, Gorostiza OF, Bredesen DE y Greenberg DA. 2004a. Enhanced neurogenesis in Alzheimer's disease transgenic (PDGF-APP^{Sw,Ind}) mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101, 13363-13367.
- Jin K, Peel AL, Mao XO, Xie L, Cottrell BA, Henshall DC y Greenberg DA. 2004b. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101, 343-347.
- Johnson MA, Ables JL y Eisch AJ. 2009. Cell-intrinsic signals that regulate adult neurogenesis in vivo: insights from inducible approaches. *BMB Rep.* 42, 245-259.
- Kaplan MS y Hinds JW. 1977. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science.* 197, 1092-1094.
- Kempermann G. 2008. The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? *Trends Neurosci.* 31, 163-169.
- Kempermann G, Kuhn HG y Gage FH. 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature.* 386, 493-495.
- Kuruba R, Hattiangady B y Shetty AK. 2009. Hippocampal neurogenesis y neural stem cells in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 14 Suppl 1, 65-73.
- Lee AC, Wong RK, Chuang SC, Shin HS y Bianchi R. 2002. Role of synaptic metabotropic glutamate receptors in epileptiform discharges in hippocampal slices. *J Neurophysiol.* 88, 1625-1633.

- Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu CE, Jondro PD, Schmidt SD Wang K y col., 1995. Cyidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science*. 269, 973-977.
- Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Desire L, Mira H, Consiglio A, Lein ES, Jessberger S, Lansford H, Dearie AR y Gage FH. 2005. Wnt signaling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature*. 437, 1370-1375.
- Lois C y Álvarez-Buylla A. 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*. 264, 1145-1148.
- Lois C, García-Verdugo JM y Álvarez-Buylla A. 1996. Chain migration of neuronal precursors. *Science*. 271, 978-981.
- López-Toledano MA y Shelanski ML. 2007. Increased neurogenesis in young transgenic mice overexpressing human APP(Sw, Ind). *J Alzheimers Dis*. 12, 229-240.
- Ma DK, Kim WR, Ming G L y Song H. 2009. Activity-dependent extrinsic regulation of adult olfactory bulb y hippocampal neurogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 1170, 664-673.
- Magavi SS, Mitchell BD, Szentirmai O, Carter BS y Macklis JD. 2005. Adult-born y pre-existing olfactory granule neurons undergo distinct experience-dependent modifications of their olfactory responses in vivo. *J Neurosci*. 25, 10729-10739.
- Menn B, García-Verdugo JM, Yaschine C, González-Pérez O, Rowitch D y Álvarez-Buylla A. 2006. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *J Neurosci*. 26, 7907-7918.
- Mirzadeh Z, Merkle FT Soriano-Navarro M, García-Verdugo JM y Álvarez-Buylla A. 2008. Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. *Cell Stem Cell*. 3, 265-278.
- Moreau PH, Cosquer B, Jeltsch H, Cassel JC y Mathis C. 2008. Neuroanatomical y behavioral effects of a novel version of the cholinergic immunotoxin mu p75-saporin in mice. *Hippocampus*. 18, 610-622.
- Morgan C, Colombres M, Nunez MT y Inestrosa NC. 2004. Structure y function of amyloid in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 74, 323-349.
- Nakagawa E, Aimi Y, Yasuhara O, Tooyama I, Shimada M, McGeer PL y Kimura H. 2000. Enhancement of progenitor cell division in the dentate gyrus triggered by initial limbic seizures in rat models of epilepsy. *Epilepsia*. 41, 10-18.
- Niquet, J., Ben-Ari, Y. y Represa, A., 1994. Glial reaction after seizure induced hippocampal lesion: immunohistochemical characterization of proliferating glial cells. *J Neurocytol*. 23, 641-656.
- Oddo S, Caccamo A, Kitazawa M, Tseng BP y LaFerla FM. 2003a. Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 24, 1063-1070.

- Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y y LaFerla FM. 2003b. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques y tangles: intracellular Abeta y synaptic dysfunction. *Neuron*. 39, 409-421.
- Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS y Lowenstein DH. 1997. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures y contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 17, 3727-3738.
- Peretto P, Merighi A, Fasolo A y Bonfanti L. 1997. Glial tubes in the rostral migratory stream of the adult rat. *Brain Res Bull*. 42, 9-21.
- Perl DP. 2010. Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*. 77, 32-42.
- Pirttila TJ, Manninen A, Jutila L, Nissinen J, Kalviainen R, Vapalahti M, Immonen A, Paljarvi L, Karkola K, Alafuzoff I, Mervaala E and Pitkanen, A. 2005. Cystatin C expression is associated with granule cell dispersion in epilepsy. *Ann Neurol*. 58, 211-223.
- Rodríguez JJ, Jones VC, Tabuchi M, Allan SM, Knight EM, LaFerla FM, Oddo S y Verkhratsky A. 2008. Impaired adult neurogenesis in the dentate gyrus of a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 3, e2935.
- Rodríguez JJ, Jones VC y Verkhratsky A. 2009. Impaired cell proliferation in the subventricular zone in an Alzheimer's disease model. *Neuroreport*. 20, 907-912.
- Rodríguez JJ y Verkhratsky A. 2011. Neurogenesis in Alzheimer's disease. *J Anat*.
- Sahay A y Hen R. 2007. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci*. 10, 1110-1115.
- Seaberg RM y van der Kooy D. 2002. Adult rodent neurogenic regions: the ventricular subependyma contains neural stem cells, but the dentate gyrus contains restricted progenitors. *J Neurosci*. 22, 1784-1793.
- Seri B, García-Verdugo JM, Collado-Morente L, McEwen BS y Álvarez-Buylla A. 2004. Cell types, lineage, y architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J Comp Neurol*. 478, 359-378.
- Shapiro LA, Upadhyaya P y Ribak CE. 2007. Spatiotemporal profile of dendritic outgrowth from newly born granule cells in the adult rat dentate gyrus. *Brain Res*. 1149, 30-37.
- Sotthibundhu A, Li QX, Thangnipon W and Coulson EJ. 2009. Abeta(1-42) stimulates adult SVZ neurogenesis through the p75 neurotrophin receptor. *Neurobiol Aging*. 30, 1975-1985.
- Shruster A, Melamed E. y Offen D. 2010. Neurogenesis in the aged y neurodegenerative brain. *Apoptosis*. 15, 1415-1421.
- Sloviter RS. 1991. Permanently altered hippocampal structure, excitability, y inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the "dormant basket cell" hypothesis y its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*. 1, 41-66.

- Suh H, Deng W y Gage FH. 2009. Signaling in adult neurogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 25, 253-275.
- Synder M, Harcke HT, Conard K y Bowen JR. 2001. Experimental epiphyseodesis: magnetic resonance imaging evaluation with histopathologic correlation. *Int Orthop.* 25, 337-342.
- Thompson K, Menzies S, Muckenthaler M, Torti FM, Wood T, Torti SV, Hentze MW, Beard J y Connor J. 2003. Mouse brains deficient in H-ferritin have normal iron concentration but a protein profile of iron deficiency y increased evidence of oxidative stress. *J Neurosci Res.* 71, 46-63.
- Thompson PM y Apostolova L G. 2007. Computational anatomical methods as applied to ageing y dementia. *Br J Radiol.* 80 Spec No 2, S78-91.
- Toledano A y Álvarez MI. 2004. Lesions y dysfunctions of the nucleus basalis as Alzheimer's disease models: general y critical overview y analysis of the long-term changes in several excitotoxic models. *Curr Alzheimer Res.* 1, 189-214.
- Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z y Turski L. 1983. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic y neuropathological study. *Behav Brain Res.* 9, 315-335.
- van Praag H, Kempermann G y Gage F H. 1999. Running increases cell proliferation y neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci.* 2, 266-270.
- Varela-Nallar L, Aranguiz FC, Abbott AC, Slater PG, y Inestrosa NC. 2010. Adult Hippocampal Neurogenesis in Aging and Alzheimer's Disease. *Birth Defects Research (Part C)* 90:284-296
- Wang R, Dineley K T, Sweatt JD y Zheng H. 2004. Presenilin 1 familial Alzheimer's disease mutation leads to defective associative learning y impaired adult neurogenesis. *Neuroscience.* 126, 305-312.
- Wen PH, Hof PR, Chen X, Gluck K, Austin G, Younkin SG, Younkin LH, DeGasperi R, Gama Sosa MA, Robakis NK, Haroutunian V y Elder GA. 2004. The presenilin-1 familial Alzheimer disease mutant P117L impairs neurogenesis in the hippocampus of adult mice. *Exp Neurol.* 188, 224-237.
- Wolf S A, Kronenberg G, Lehmann K, Blankenship A, Overall R, Staufenbiel M y Kempermann G. 2006. Cognitive y physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 60, 1314-1323.
- Zhang C, McNeil E, Dressler L y Siman R. 2007. Long-lasting impairment in hippocampal neurogenesis associated with amyloid deposition in a knock-in mouse model of familial Alzheimer's disease. *Exp Neurol.* 204, 77-87.
- Ziabreva I, Perry E, Perry R, Minger SL, Ekonomou A, Przyborski S y Ballard C. 2006. Altered neurogenesis in Alzheimer's disease. *J Psychosom Res.* 61, 311-316.

8

La leptina como agente neuroprotector

*Francesc X. Sureda,² Ingacio Pedrós,^{1,2} Félix Junyent,³
Ester Verdaguer,⁴ Carme Auladell[†] y Jaume Folch¹*

Resumen

Se ha demostrado que la obesidad y la resistencia a la insulina son factores de riesgo en la enfermedad de Alzheimer (AD). La leptina, más allá de sus funciones en el control de la ingesta a nivel hipotalámico, modula la supervivencia neuronal. Los receptores de leptina están ampliamente expresados en el sistema nervioso central, comparten rutas de señalización con las del receptor de insulina, y ambos estarían implicados en los procesos neurodegenerativos. La activación del receptor de leptina tendría efectos neuroprotectores frente al progreso de la enfermedad de Alzheimer, inhibiendo la formación de placas de proteína amiloide, así como la formación de ovillos intracelulares de proteína Tau. Estudios *in vivo* e *in vitro* han puesto de manifiesto que la leptina puede mejorar la homeostasis de la proteína A β , reducir los niveles de fosforilación de la proteína Tau, así como mejorar las capacidades cognitivas en modelos animales de la enfermedad de Alzheimer sometidos a tratamiento crónico con leptina.

¹ Unitat de Bioquímica, , Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España.

² Unitat de Farmacologia, Centros de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona, España.

³ Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia Facultat de Farmàcia, Institut de Biomedicina (IBUB), Centros de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

⁴ Departament de Biologia Cel·lular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

Neurodegeneración y enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un proceso neurodegenerativo progresivo caracterizado por la pérdida de memoria y de capacidades cognitivas. Estos síntomas incrementan su severidad a medida que la enfermedad progresa, y conducen a la pérdida completa de las citadas capacidades. Desde un punto de vista patológico, hay dos elementos que caracterizan el cerebro afectado por AD: placas seniles y ovillos neurofibrilares (NFT). Las placas seniles están constituídas fundamentalmente por péptidos A β que polimerizan formando protofibrillas que se asocian formando las placas amiloides. Las NFT derivan del acúmulo intracelular de neurofilamentos y de formas hiperfosforiladas de proteína tau.

Sin embargo, a pesar de las evidencias que apoyan la hipótesis amiloide, es decir, que tanto los péptidos A β como la proteína tau son los responsables de la enfermedad, la etiología de la AD es demasiado compleja para ser la consecuencia de un único factor, y no parece razonable que los acúmulos de proteína A β puedan explicar completamente los múltiples elementos relacionados con la enfermedad (1). En efecto, ha sido posible identificar centenares de genes implicados tanto en el desarrollo del envejecimiento como la longevidad y la AD (2). Por ejemplo, resultados del análisis por técnicas de *microarray* de la expresión genética en hipocampo de ratas normales, envejecidas, muestran una activación de genes relacionados con el catabolismo lipídico, proteólisis, transporte de colesterol y la mielinogénesis, entre otros (3). Por el contrario, en fases iniciales del desarrollo de la AD se observa una sobreexpresión de los genes implicados en procesos de supresión tumoral y en la síntesis de factores de crecimiento de los oligodendrocitos (4).

Los modelos murinos transgénicos afectados por mutaciones en los genes APP y presenilina 1 (PS1) reproducen buena parte de la complejidad del proceso de pérdida de memoria propia de la AD, además de ser útiles como modelos de estudio de posibles terapias. Por ello, a los ratones dobles transgénicos APP/PS1 se les considera como uno de los mejores modelos para el estudio de la AD. Por ello, nuestro grupo de investigación se planteó estudiar los genes expresados en etapas tempranas de la amiloidogénesis en hipocampo de ratones transgénicos APP/PS1, mediante técnicas de *microarray*, así como estudiar como esos genes se agrupaban funcionalmente (Junyent *et al.*, artículo en preparación).

En el estudio se planteó determinar las funciones fisiológicas del conjunto de genes expresados de forma temprana en ratones transgénicos APP/PS1 de tres

y seis meses de edad. De acuerdo con todo ello, se identificaron correctamente un total de 106 genes mediante el uso de la plataforma *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>), todos ellos sobre expresados en animales APP/PS1. Los transcritos regulados negativamente no fueron incluidos en el análisis. El análisis de agrupaciones (*clusters*) nos permitió identificar siete procesos principales: relacionados con membranas, unión al DNA, unión de nucleótidos (ATP), captación de iones, procesos mitocondriales, procesos relacionados con lipoproteínas y señalización intracelular (figura 1).

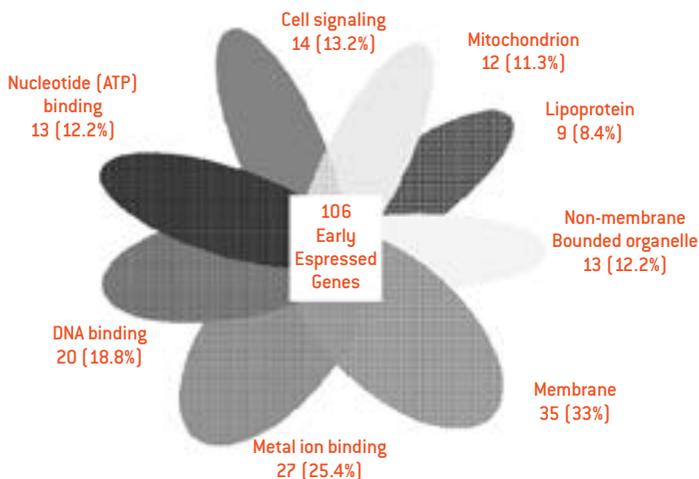


FIGURA 1. Asociaciones funcionales de genes implicados en el desarrollo de la AD en ratones APP/PS1 de tres meses de edad [Junyent et al., en preparación].

En particular, entre los genes activados en animales de 3 meses de edad, se encuentran moléculas implicadas en el metabolismo energético. Por ejemplo, el enzima ATP Sintasa (*Atp1f1*) y genes relacionados con la actividad mitocondrial como *Gpr39* y *Pank4*. El receptor de obestatina GPR39 está presente en cerebro y en la glándula pituitaria, mientras que la obestatina juega un papel en la regulación en funciones gastrointestinales y metabólicas gracias a su interacción con el

receptor de GPR39 (5,6). En efecto, recientemente se ha puesto de manifiesto la relación existente entre la aparición de trastornos metabólicos como la resistencia a la insulina, obesidad o el síndrome metabólico, con la aparición de procesos neurodegenerativos. Este hecho ha llevado a algunos autores a proponer que la AD puede constituir una manifestación neurológica de un trastorno que tiene un origen metabólico (7).

Obesidad, dislipemia, resistencia a la insulina y neurodegeneración.

En la última década se ha puesto de manifiesto la importancia del metabolismo lipídico entre los factores etiopatológicos de la AD. Diferentes estudios clínicos ponen de manifiesto que pacientes con diabetes mellitus tienen un riesgo mayor de presentar AD. En efecto, es bien conocida la asociación entre obesidad y la alteración de los mecanismos de señalización dependientes de insulina (8), y que ello comporta una mayor susceptibilidad a sufrir procesos neurodegenerativos (9,10], mientras que estudios *in vivo* con ratones obesos muestran la aparición de alteraciones propias de la neurodegeneración que se observa en la AD (11). En estos casos, parece que tanto la hiperinsulinemia periférica como la resistencia a la insulina son los factores determinantes en el incremento del riesgo de padecer AD.

Sin embargo existe controversia a la hora de determinar las relaciones específicas entre obesidad y AD (12), y mientras algunos autores consideran que la obesidad de la mediana edad es un riesgo de demencia (13), otros niegan la existencia de relación entre ambos procesos (14). En efecto, previo a la aparición de los síntomas de la AD se observa una pérdida de peso, lo que lleva a pensar en la influencia de un proceso metabólico asociado a la enfermedad (15). Por otro lado, se sabe que tanto la resistencia a la insulina, que está asociada a un incremento en los niveles plasmáticos de ácidos grasos, como las elevadas concentraciones de VLDL contribuyen a la amiloidogénesis (16).

En efecto, en animales sanos, el bloqueo de los receptores de insulina implicaría también una disminución en la fosforilación de AKT y de GSK-3 β , lo que conduciría a un incremento significativo de la fosforilación de la proteína Tau (17). Por lo tanto, existiría una base molecular que explicaría la relación que se ha propuesto entre el desarrollo de diabetes de tipo 2 y el progreso de la enfermedad de Alzheimer (18). Tanto la resistencia a la insulina como el péptido amiloide

alterarían la cascada de señalización constituida por PI3-K, AKT y GSK-3 β , contribuyendo con ello a reforzar la progresión de la enfermedad.

Como se ha citado anteriormente, no solamente la insulina parece estar implicada en la AD, sino que también moléculas implicadas en la regulación metabólica pueden tener un papel importante, como es el caso de GPR34 comentado anteriormente. La atención se ha centrado particularmente en el papel de las adipocinas tales como leptina, un polipéptido de 16 kDa producido por el tejido adiposo e implicado en la regulación del almacenamiento y movilización y bio-disponibilidad de los lípidos (19). En efecto, se ha descrito que la leptina puede actuar disminuyendo la actividad beta secretasa, lo que disminuiría los depósitos de péptido β -amiloide. Por otro lado, se ha descrito que la disponibilidad de leptina en el cerebro de individuos obesos estaría disminuida, por dificultades en su transporte a través de la barrera hematoencefálica (20).

Igualmente, se ha sugerido que existe una interacción entre la leptina y las alteraciones en el metabolismo de la dopamina en el cerebro de los enfermos de Parkinson. La leptina ejerce sus efectos neuroprotectores mediante la activación de vías de supervivencia como las de JAK2-STAT3, AKT y MEK/ERK (21), y se sabe que también ejerce sus efectos protectores incrementando la actividad de la vía PI3-K, utilizando para ello el mecanismo de señalización de los receptores de insulina (22).

Las complejas relaciones entre el metabolismo lipídico y la AD se ilustran en la figura 2. Cada factor actúa de forma independiente, contribuyendo a la síntesis y depósito de proteína A β , o bien favoreciendo su eliminación (7). Parece que tanto la presencia de ácidos grasos libres, colesterol, lipoproteínas y APOE favorecerían la amiloidogénesis, mientras que la leptina favorecería su eliminación. La intervención en uno o varios de éstos factores podría retardar i/o limitar el proceso de amiloidogénesis.

Funciones fisiológicas de la leptina

El gen de la leptina (OB) codifica un polipéptido de 16 kDa (23). La secuencia primaria, así como los datos cristalográficos indican que la leptina adopta una estructura tridimensional en hélice, y que recuerda a la de algunas citoquinas, como la interleucina 2 (figura 3). La leptina ha sido ampliamente caracterizada

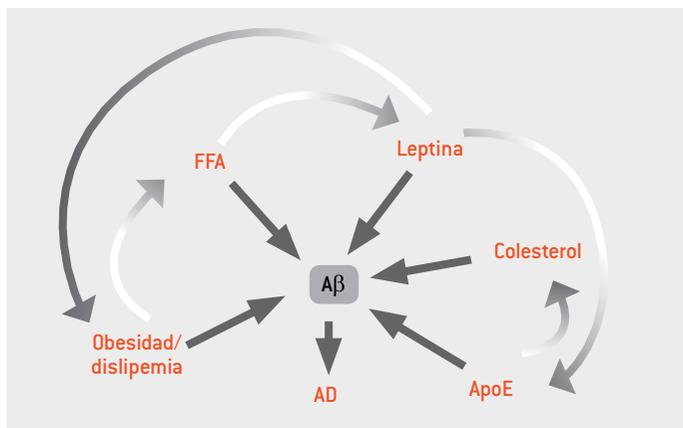


FIGURA 2. Factores implicados en la amiloidogénesis. Los ácidos grasos libres (FFA), colesterol, lipoproteínas y APOE favorecerían la amiloidogénesis, mientras que la leptina favorecería su eliminación. Adaptado de Merlo *et al.*, 2010.



FIGURA 3. Estructura tridimensional de la molécula de leptina. De *Institut Européen de Chimie et Biologie*, <http://www.cellbiol.net/>

como hormona adipostática. La hormona actúa como elemento señalizador liberado por el tejido adiposo blanco con capacidad para regular a nivel cerebral el control de la ingesta y la homeostasis energética.

Los niveles plasmáticos de leptina están altamente relacionados con el volumen de grasa corporal, y sería la población femenina la que presentaría unos niveles más altos en cualquiera de los diferentes grados de adiposidad corporal (24, 25). Los niveles de leptina en plasma están comprendidos entre los 0 ng/ml (en casos de deficiencia congénica de leptina) a más de 100 ng/ml en casos de obesidad mórbida. Por otro lado, se observan variaciones circadianas en la concentración plasmática de leptina, mayores a últimas horas del día que por la mañana.

El cerebro capta la leptina circulante a través del plexo coroideo, el cual la transfiere al medio extracelular del mismo y lo concentra hasta niveles aproximadamente de 0,7 nM (11,8 ng/ml) en el fluido cerebroespinal (23). La amplia expresión del receptor de la leptina en el conjunto del tejido cerebral sugiere que esta molécula debe ejercer otras funciones menos conocidas.

En efecto, más allá de sus funciones en el control de la ingesta a nivel hipotalámico, la leptina está implicada en el control de la supervivencia de las células neuronales (26). Se ha demostrado que el tejido adiposo no es el único capaz de sintetizar leptina, y que ésta también es producida por el cerebro. En cerebros de rata, las células que presentan niveles elevados del receptor de leptina, también presentan niveles elevados de leptina y de su mRNA, y que éstos colocalizan con las neuronas (27).

Senalización del receptor de leptina en neuronas

El receptor de leptina en humanos (Ob-R) es miembro de la superfamilia de receptores de citoquinas de clase I (gp130) (28, 29).

Los receptores de leptina están ampliamente expresados en el sistema nervioso central, comparten rutas de señalización comunes a las del receptor de insulina y se sabe que ambos mecanismos pueden actuar sinérgicamente mediando la evolución de los procesos neurodegenerativos.

En el cerebro humano, la máxima expresión de la forma larga del receptor de leptina (Ob-Rb) tiene lugar en el núcleo arqueado y en la eminencia media del hipotálamo, aunque también se expresa de forma importante en el hipocampo,

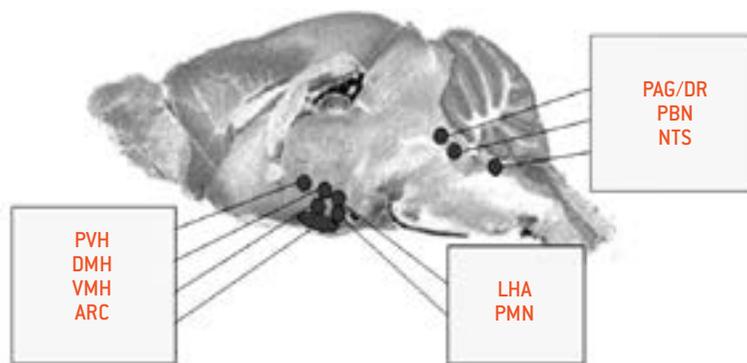


FIGURA 4. Distribución de los Ob-Rb funcionales en el cerebro de ratón. Núcleo infundibular o arqueado (ARC), dorsomedial (DMH), ventromedial (VMH), núcleo ventral premamilar (PMV), área hipotalámica lateral (LHA), núcleo paraventricular (PVH), el núcleo dorsomedial (DR), sustancia gris periacueductal (PAG), núcleo parabranchial (PBN), núcleo del tracto solitario (NTS).

en el giro dentado y en las áreas CA1, seriamente afectadas en la enfermedad de Alzheimer (30) (figura 4). En ratones, se pueden detectar niveles elevados del mRNA correspondiente a la isoforma Ob-Rb en el núcleo infundibular o arqueado (ARC), dorsomedial (DMH), ventromedial (VMH) y núcleo ventral premamilar (PMV). Niveles más moderados de expresión se pueden encontrar en el núcleo hipotalámico paraventricular y en el área hipotalámica lateral (LHA) (30).

A partir del gen del receptor de la leptina se sintetizan un total de seis isoformas distintas, todas ellas proteínas de membrana con la excepción de la isoforma soluble Ob-Re. La forma Ob-Rb es la isoforma más larga y la única responsable de la señalización inducida por la unión del ligando. Diferentes estudios bioquímicos han revelado, elegantemente, la vía de señalización de la leptina, estimulada por la activación de su receptor. Brevemente, la unión de la leptina, o de un agonista, a su receptor estimula la activación de la quinasa de Jano 2 (JAK2), la cual a su vez fosforila residuos de tirosina en el dominio intracelular del receptor de leptina (figura 5). Ello conduce a la activación de diferentes mecanismos moleculares, incluyendo a los transductores de señal y activadores de la transcripción 3 y 5 (STAT3, STAT5) críticos para que la leptina produzca sus efectos sobre el control del peso corporal (31,32), la ruta de fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K), la quinasa AKT, la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), y la de la proteína quinasa activada por

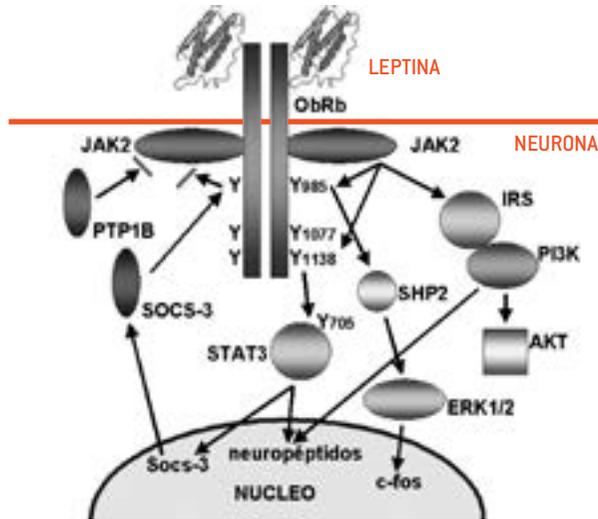


FIGURA 5. Mecanismo de señalización del receptor de leptina. La activación del Ob-Rb por leptina incrementa la actividad de las quinasas JAK2 que fosforilan diversos sustratos intracelulares como Y985 y Y1138 [pertenecientes a Ob-Rb] y a Y705 [perteneciente a STAT3]. Adaptado de Bjørbaek y Kahn, 2004.

5'-AMP (30). El mecanismo de señalización del receptor de la leptina está regulado negativamente por la molécula supresora de la señalización por citoquinas 3 (SOCS3), y por la proteína fosfatasa de tirosinas 1B (PTP1B) (33).

Tanto STAT3, PI3K y ERK modularían procesos transcripcionales, mientras que la expresión de la molécula supresora de la señalización por citoquinas (SOCS)-3 estaría regulada por STAT3. PI3k estaría igualmente implicada en diferentes procesos de la neurona, independientes de los procesos de transcripción, y en la liberación de neurotransmisores. Más recientemente, se ha propuesto que Cdk5/p35 modularían la señalización activada por leptina y mediada por STAT3 (34).

La leptina como agente neuroprotector

En los últimos años se han identificado diferentes moléculas de origen endógeno que han demostrado poseer capacidad para revertir los efectos tóxicos genera-

dos en modelos de estudio de enfermedades neurodegenerativas. Estas moléculas son, además, interesantes por la elevada tolerabilidad a las mismas por parte de los pacientes y por la escasa presencia de efectos adversos tras su administración. Entre éstas, la más representativa sería la leptina (35, 36). Diferentes estudios desarrollados en modelos *in vitro* muestran que la leptina es neuroprotectora en células dopaminérgicas (37), pero también en otras áreas cerebrales. Se ha demostrado que la administración exógena de leptina revierte la pérdida de células dopaminérgicas sometidas a la acción tóxica de la neurotoxina 6-hidroxidopamina, y que este efecto está relacionado con la modulación de la vía de la quinasa mitógena extracelular (MEK) y de las quinasas reguladas extracelularmente (ERK) (35). En efecto, diferentes grupos de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo presentan niveles elevados de receptor de leptina, como las que forman la sustancia nigra, cuya pérdida masiva constituye el agente etiológico de la enfermedad de Parkinson. También se ha establecido que la leptina es capaz de proteger a neuronas hipocámpales en diferentes modelos *in vitro* de privación de factores tróficos (37), entre otros.

Como ya se ha comentado, la obesidad dificulta el transporte de leptina a través de la barrera hematoencefálica (BHE), lo cual constituiría un factor de riesgo en AD. Se ha descrito que el desarrollo de resistencia a la leptina (y el subsiguiente aumento de peso) puede estar producido por una de las subsiguientes disfunciones: [1] disminución de la señalización dependiente del receptor de la leptina por regulación negativa o atenuación de la actividad de la vía de JAK/STAT, o por un aumento de la actividad de los inhibidores de la vía SOCS3 y/o PTP1B; [2] déficits en el transporte de leptina al cerebro o la unión de ésta a la forma corta, afuncional, de su receptor (38, 39); [3] reducción del transporte del receptor a la membrana plasmática de las células neuronales (40). Por ello, los tratamientos que permitan mejorar el transporte de la leptina, o que incrementen la sensibilidad a la misma, pueden poseer una función potencialmente protectora frente a los procesos neurodegenerativos.

Leptina y la enfermedad de Alzheimer

La leptina puede interferir con la patogénesis de la AD de diferentes formas. Estudios *in vivo* e *in vitro* han puesto de manifiesto que la leptina puede mejorar

la homeostasis de la proteína A β , reducir los niveles de fosforilación de la proteína Tau, así como mejorar las capacidades cognitivas en modelos animales de la enfermedad de Alzheimer sometidos a tratamiento crónico con leptina. En primer lugar, parece que la leptina puede reducir la amiloidogénesis disminuyendo la actividad del enzima responsable de la rotura de la APP en el sitio β (BACE) en neuronas y, por tanto, disminuyendo la cantidad de proteína A β formada. Se ha sugerido que éste efecto puede ser indirecto, y se relaciona con la actividad lipolítica de la leptina. Paralelamente, también la leptina puede potenciar la eliminación de la proteína A β gracias al efecto de captación dependiente de APOE. Dado que este efecto depende del alelo APOE presente, en los portadores del alelo $\epsilon 4$ la leptina no ejercería este efecto de eliminación de los agregados de A β con la misma intensidad. Estas observaciones han sido corroboradas en experimentos *in vitro* e *in vivo* tomando como modelo ratones transgénicos para la AD, a los que se ha administrado leptina de forma crónica (41). También se ha descrito que este efecto se relaciona con una mejora en las capacidades cognitivas y en la memoria. Sin embargo, el efecto protector de la leptina frente a la AD, también se debe a su capacidad para limitar la formación de los agregados de proteína tau, o NFT (42). El efecto de la leptina se debería en este caso a una reducción de la actividad fosforilasa de GSK3 β sobre la serina 9 de la proteína tau (41).

Tanto insulina como leptina actuarían sinérgicamente a concentraciones fisiológicas. Por otro lado, el efecto de la leptina tanto sobre la acumulación de proteína A β como sobre la fosforilación de tau, parece que implica la actividad de la quinasa activada por AMP (AMPK). La actividad anormal de AMPK podría generar alteraciones en el metabolismo lipídico y en la composición de las membranas de las células neuronales, afectando a su fluidez. Ésto último podría repercutir en la producción de A β . Está bien caracterizado que AMPK puede inhibir a GSK-3 β , estimulando la actividad de AKT (figura 6). Por el contrario, la cascada de señalización entre AMPK y el control de A β está menos definida. Se ha propuesto que la deficiencia en leptina contribuiría a una insuficiente estimulación del mecanismo molecular dependiente de AMPK lo cual, a su vez, incrementaría los niveles de A β y de Tau fosforilada, además de provocar un descenso en los niveles generales de actividad metabólica (36).

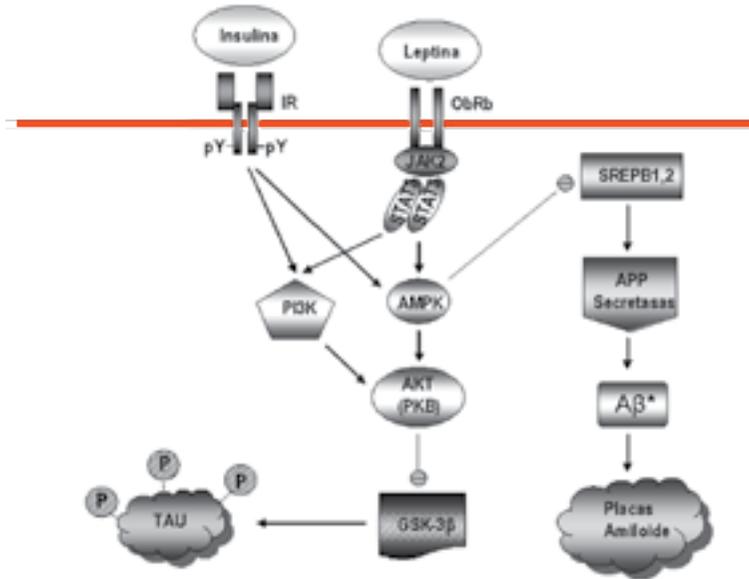


FIGURA 6. AMPK puede inhibir a GSK-3 β , estimulando la actividad de AKT, y puede inhibir los factores de transcripción SREBP1,2, regulados negativamente por la leptina, y que están implicados en el control del metabolismo lipídico. Existen evidencias de que también la insulina tiene la capacidad de modular AMPK. Además de AMPK, insulina y leptina tienen como diana común a PI3K que, a su vez, inhibe la actividad de GSK-3 β por un proceso de fosforilación en la serina 9, lo cual impide la hiperfosforilación de la proteína Tau.

Referencias

1. Pimplikar SW. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int. J. Biochem. Biol.* 2009; 41: 1261–1268
2. Budovsky A, Tacutu R, Yanai H, Abramovich A, Wolfson M, Fraifeld V. Common gene signature of cancer and longevity. *Mech Ageing Dev.* 2009; Jan-Feb;130(1-2):33-9.
3. Wolfson M, Budovsky A, Tacutu R, Fraifeld V. The signaling hubs at the crossroad of longevity and age-related disease networks. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; Mar;41(3):516-20.

4. Kadish I, van Groen T. Lesion-induced hippocampal plasticity in transgenic Alzheimer's disease mouse models: influences of age, genotype, and estrogen. *J Alzheimers Dis.* 2009; 18(2):429-45.
5. Moechars D, Depoortere I, Moreaux B, de Smet B, Goris I, Hoskens L, Daneels G, Kass S, Ver Donck L, Peeters T, Coulie B. Altered gastrointestinal and metabolic function in the GPR39-obestatin receptor-knockout mouse. *Gastroenterology.* 2006; Oct;131(4):1131-41.
6. Samson WK, White MM, Price C, Ferguson AV. Obestatin acts in brain to inhibit thirst. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; Jan; 292(1):R637-43.
7. Merlo, Spampinato, Canonico, Copani and Sortino. Alzheimer's disease: brain expression of a metabolic disorder?. *Endocrinology and Metabolism* 2010; Vol.21, 9: 537-544.
8. Gil A, María Aguilera C, Gil-Campos M, Cañete R. Altered signalling and gene expression associated with the immune system and the inflammatory response in obesity. *Br J Nutr.* 2007; Oct;98 Suppl 1:S121- 27.
9. Schubert M, Gautam D, Surjo D, Ueki K, Baudler S, Schubert D, Kondo T, Alber J, Galldik N, Küstermann E, Arndt S, Jacobs AH, Krone W, Kahn CR, Brüning JC. Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; Mar 2;101(9):3100-5.
10. Bruce-Keller AJ, Keller JN, Morrison CD. Obesity and vulnerability of the CNS. *Biochim Biophys Acta.* 2008.
11. Moroz N, Tong M, Longato L, Xu H, de la Monte SM. Limited Alzheimer-type neurodegeneration in experimental obesity and type 2 diabetes mellitus. *J Alzheimers Dis.* 2008; Sep;15(1):29-44.
12. Luchsinger JA. Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease: an epidemiological perspective. *Eur. J. Pharmacol.* 2008; 585, 119–129.
13. Whitmer RA. *et al.* Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* 2008; 71:1057–1064.
14. Stewart R. *et al.* A 32-year prospective study of change in body weight and incident dementia: the Honolulu–Asia Aging Study. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 55–60.
15. Atti AR. *et al.* Late-life body mass index and dementia incidence: nine-year follow-up data from the Kungsholmen Project. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2008; 56: 111–116.
16. Craft S. The role of metabolic disorders in Alzheimer disease and vascular dementia: two roads converged. *Arch. Neurol.* 2009; 66: 300–305.
17. Plum L, Schubert M, Brüning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab.* 2005; Mar;16(2):59-65.

18. Zhao WQ, Townsend M. Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2008.
19. Schwartz, M.W. *et al.* Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661–671.
20. Wang S, Yu C, Sun C, Liu Z. Changes and relations of leptin, growth hormone and insulin during puberty in obese and non-obese children. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2001; Jul;30(4):219-20.
21. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372, 425-432.
22. Prins JB, O'Rahilly S. Regulation of adipose cell number in man. *Clin Sci (Lond)* 1997; 29, 3-11.
23. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3424-3427.
24. Kurrimbux D, Gaffen Z, Farrell CL, Martin D, Thomas SA. The involvement of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers in the distribution of leptin into and out of the rat brain. *Neuroscience* 2004;123(2):527-36.
25. Signore AP, Zhang F, Weng Z, Gao Y, Chen J. Leptin neuroprotection in the CNS: mechanisms and therapeutic potentials. *J Neurochem*. 2008; Sep;106(5):1977-90.
26. Morash B, Li A, Murphy PR, Wilkinson M, Ur E. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology*. 1999; Dec;140(12):5995-8.
27. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83, 1263-1271.
28. Heshka JT, Jones PJ. A role for dietary fat in leptin receptor, OB-Rb, function. *Life Sci* 2001; 69: 987-1003.
29. Huang XF, Koutcherov I, Lin S, Wang HQ, Storlien L. Localization of leptin receptor mRNA expression in mouse brain. *Neuroreport* 1996; 7, 2635-2638.
30. Bjørbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res*. 2004; 59:305-31.
31. Bates SH. *et al.* STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature* 2003; 421: 856–859.
32. Cui Y. *et al.* Essential role of STAT3 in body weight and glucose homeostasis. *Mol. Cell Biol*. 2004; 24: 258–269.
33. Howard JK. *et al.* Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3. *Nat. Med*. 2004; 10: 734–738.

34. Weng Z, Signore AP, Gao Y, Wang S, Zhang F, Hastings T, Yin XM, Chen J. Leptin protects against 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic cell death via mitogen-activated protein kinase signaling. *J Biol Chem.* 2007; Nov 23;282(47):34479-91.
35. Dicou E, Attoub S, Gressens P. Neuroprotective effects of leptin in vivo and in vitro. *Neuroreport.* 2001; 12(18):3947-51.
36. Guo Z, Jiang H, Xu X, Duan W, Mattson MP. Leptin-mediated cell survival signaling in hippocampal neurons mediated by JAK STAT3 and mitochondrial stabilization. *J Biol Chem.* 2008; Jan 18;283 (3):1754-63.
37. Zhang F, Chen J. Leptin protects hippocampal CA1 neurons against ischemic injury. *J Neurochem.* 2008; Oct;107(2):578-87.
38. Pan W. *et al.* Astrocyte leptin receptor (ObR) and leptin transport in adult-onset obese mice. *Endocrinology* 2008; 149: 2798–2806.
39. Zhang J and Scarpace, PJ. The soluble leptin receptor neutralizes leptin-mediated STAT3 signalling and anorexic responses in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 2009; 158: 475–482.
40. Seo S *et al.* Requirement of Bardet-Biedl syndrome proteins for leptin receptor signaling. *Hum. Mol. Genet.* 2009; 18: 1323–1331.
41. Greco SJ, Sarkar S, Casadesus G, Zhu X, Smith MA, Ashford JW, Johnston JM, Tezapsidis N. Leptin inhibits glycogen synthase kinase-3beta to prevent tau phosphorylation in neuronal cells. *Neurosci Lett.* 2009; May 22;455(3):191-4.
42. Greco SJ, Bryan KJ, Sarkar S, Zhu X, Smith MA, Ashford JW, Johnston JM, Tezapsidis N, Casadesus G. Leptin reduces pathology and improves memory in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010; 19 (4):1155-67.

9

Marcadores bioquímicos y moleculares en la enfermedad de Alzheimer

Genaro Gabriel Ortiz,^{1,2} Fermín Pacheco Moisés,³ Irma E. Velázquez Brizuela,⁴ Elva D. Arias Merino,⁵ Miguel Ángel Macías Islas,⁶ José A. Cruz Ramos,¹ Viridiana Ramírez Ramírez,¹ Edic Willie Morales Sánchez¹ y Viviana González Enríquez¹

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una alteración neurodegenerativa progresiva que se caracteriza por la pérdida de las habilidades cognitivas y anormalidades en el comportamiento, lo que conduce a la muerte. La EA se origina por la degeneración específica y progresiva de ciertas poblaciones de neuronas; los hallazgos neuropatológicos incluyen la acumulación de placas neuríticas (depósitos extracelulares del péptido β -amiloide), marañas neurofibrilares (acumulaciones intracelulares) y pérdida de sinapsis.

En el desarrollo de la EA están involucradas alteraciones en el metabolismo de la proteína precursora del amiloide (PPA) y de la proteína tau, así como una

¹ División de Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO). Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Guadalajara, Jalisco. México.

² División de Ciencias de la Salud, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey-Campus Guadalajara. Zapopan, Jalisco.

³ Departamento de Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería (CUCEI), Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco. México.

⁴ OPD Instituto Jalisciense de Cancerología-SSA. Guadalajara, Jalisco. México.

⁵ Departamento de Salud Pública, Centro Universitario de Ciencias de la Salud (CUCS) Universidad de Guadalajara, Guadalajara Jalisco. México.

⁶ Departamento de Neurología, Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional de Occidente (CMNO). Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Guadalajara, Jalisco. México.

disfunción de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, estrés oxidativo y defectos en las membranas.

La hipótesis que sugiere que la EA es sistémica, ha conducido a la búsqueda de marcadores periféricos, tales como las plaquetas, que pueden manifestar alteraciones bioquímicas relacionadas con la enfermedad.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común e importante de enfermedad neurodegenerativa y de demencia. Se estima que su prevalencia es de 10% en personas mayores de 65 años y de 50% en adultos de más de 85 años. La EA se caracteriza por la declinación progresiva e irreversible de la memoria y por lo menos uno de los siguientes síntomas: afasia (trastorno del lenguaje), apraxia (incapacidad para llevar a cabo actividades motoras, a pesar de que la comprensión y la función motora están intactas), agnosia (fallo en el reconocimiento o identificación de objetos, aunque la función sensorial se halla intacta) y trastornos en la función ejecutiva (planeación, razonamiento). La secuencia general en las deficiencias: es memoria, lenguaje y funciones visuo-espaciales. La consecuencia inevitable es la pérdida paulatina de autonomía en las actividades diarias, al principio en las instrumentales y posteriormente en las básicas. Esta incapacidad funcional implica la necesidad de supervisión por otra persona, inicialmente, y la dependencia total de los demás en fases posteriores.

Esta enfermedad fue descrita por primera vez en 1907 por Alois Alzheimer en un reporte anátomo-clínico de una mujer de 56 años que murió de una enfermedad “singular y grave de la corteza cerebral”. La paciente presentó en vida un cuadro grave y progresivo de deterioro mental que incluyó pérdida de memoria, desorientación temporal y espacial, paranoia, alucinaciones, delirios y lenguaje incoherente. La autopsia de la paciente reveló atrofia cerebral con pérdida masiva de poblaciones neuronales, principalmente a nivel de la corteza cerebral y del hipocampo. Las secciones histopatológicas de su cerebro mostraron la presencia de estructuras intracelulares de neurofibrillas entrecruzadas en forma desordenada (“marañas neurofibrilares”) y depósitos extracelulares llamados ahora “placas neuríticas”, que son las principales lesiones encontradas a la fecha. A este

síndrome, Kraepelin, en su *Manual de Psiquiatría* publicado en 1910, denominó como enfermedad de Alzheimer.

Posterior a la descripción de estos hallazgos se creía que era innecesario determinar la composición proteica de las marañas neurofibrilares y placas neuríticas, pues proporcionaría poca información acerca de la etiología y patogénesis de la enfermedad. Investigaciones subsecuentes demostraron que este supuesto era falso.

Los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) muestran crecimiento ventricular, atrofia cerebral generalizada y amplias circunvoluciones. En ambos lóbulos temporales hay atrofia simétrica de la corteza entorinal, la amígdala y el hipocampo, siendo este último el más severamente atrofiado. Histológicamente, se han observado numerosas placas de amiloide rodeadas de neuritas distróficas, con pérdida de sinapsis, formación de marañas neurofibrilares y gliosis, en particular el área del hipocampo, la corteza prefrontal y entorinal. Los depósitos extracelulares e intracelulares de proteínas filamentosas se correlacionan con la eventual disfunción neuronal y pérdida de sinapsis que conducen a demencia. Los depósitos extracelulares están formados principalmente por un fragmento proteico de 40 a 42 aminoácidos denominado β -amiloide, el cual, se ha comprobado, promueve el crecimiento de neuritas, genera intermediarios reactivos de oxígeno (ROI), induce estrés oxidativo citotóxico observado en concentraciones plasmáticas disminuidas de alfa-tocoferol y retinol y niveles elevados de malondialdehído y promueve la activación microglial.

A su vez, se han encontrado diversas alteraciones neuroendócrinas en los procesos demenciales, como el aumento en la concentración de varios neuroquímicos en el SNC (receptor-1 de dopamina, monoaminoxidasa A, hormona folículoestimulante, hormona luteinizante, hormona antidiurética y prolactina), disminución (dopamina, receptor-2 de dopamina, noradrenalina, serotonina, ácido alfa-aminobutírico, endorfinas, hormona del crecimiento y melatonina, entre otros) y otros que permanecen sin alteración (tiroxina y triyodotironina, entre otros). El cambio neuroendocrino más importante en la enfermedad de Alzheimer parece ser una reducción de la función colinérgica hipotalámica.

Los estudios de la incidencia y los patrones de transmisión en las familias de los pacientes con EA muestran que los parientes de individuos afectados tienen un riesgo aumentado de desarrollar la EA cuando son comparados con miembros de la población en general. Las tasas de concordancia entre los gemelos de pro-

bandos monocigóticos con EA son de 40 a 60%, lo que sugiere una fuerte pero no absoluta influencia genética de la enfermedad.

Se han asociado cuatro genes con la EA: el cromosoma 21 tiene el gen que codifica para el precursor de la proteína beta amiloide (APP). El gen de la presenilina 1 (PS1), en el cromosoma 14, fue localizado al estudiar familias con EA de inicio temprano. Otro gen, el de la presenilina 2 (PS2), se ha localizado en el cromosoma 1. El cromosoma 12 puede tener una mutación causal relevante para la EA de inicio tardío, el cual se ha visto relacionado con la proteína α 2-microglobulina.

Se ha visto que el gen de otra proteína, la Apolipoproteína E (ApoE), se encuentra en el cromosoma 19 y a su vez se encuentra en varias enfermedades neurodegenerativas. El alelo de la ApoE tipo 4 (E4) se ha visto como un factor de riesgo para la EA, con un riesgo atribuible estimado de 45 a 60%.

Marcadores bioquímico-moleculares

El enfoque racional de las enfermedades neurodegenerativas que cursan con demencia, en particular la enfermedad de Alzheimer, ha llevado a los investigadores alrededor del mundo a pensar esta entidad como un proceso sistémico que involucre alteraciones no sólo en cerebro sino también periféricamente, por lo que se ha comenzado a buscar los llamados “marcadores biológicos periféricos”. Los hallazgos que pueden encontrarse en plaquetas, linfocitos, cultivos de fibroblastos y muestras de líquido cefalorraquídeo de los pacientes afectados tienen su fundamento en los siguientes hechos.

Uno de tales marcadores, el β -amiloide, es un derivado degradativo y no obligatorio del catabolismo de la llamada proteína precursora del β -amiloide (β -app) (24), y contiene secuencias de agregación y neurotoxicidad. En su forma soluble, es liberado durante el curso del metabolismo normal en neuronas, astrocitos, células endoteliales y microglía, pero en la enfermedad de Alzheimer se generan grandes cantidades de este péptido y se acumula a manera de fibrillas insolubles, las que afectan, de forma primaria, a las neuronas y células microgliales. La presencia de β -amiloide₁₋₄₂ en fluidos corporales como líquido cefalorraquídeo y plasma, es susceptible de cuantificarse y se ha utilizado como una ayuda en el diagnóstico de la EA. Se ha encontrado, además, su presencia en plaquetas, y se

creo que tenga un papel en la inhibición de los factores de la coagulación IXa y XIa. Además, se han detectado residuos específicos de la APP (residuos 1-39/40 y 17-39/43) en plaquetas. Estos residuos, conocidos como residuos insolubles y solubles están asociados con la EA.

En cambio, se ha visto que la actividad citosólica de la proteína cinasa C (PKC) se encuentra disminuida en plaquetas en pacientes con EA y con demencia vascular, mientras que solamente en la EA hay menor actividad citoesquelética de la PKC. A su vez, se ha demostrado una menor actividad de la PKC tanto en fibroblastos cultivados como en las células NK de pacientes con EA.

Por otra parte, el otro elemento importante en la neuropatología del Alzheimer, es la proteína tau. Esta es una proteína en forma de bastón, que se asocia a los microtúbulos mediante proyecciones parecidas a brazos y forma parte del citoesqueleto de las células eucarióticas, particularmente de las células nerviosas. La proteína tau se compone de 4 a 5 polipéptidos de un peso molecular de 55000 a 62000 daltons. Mediante estudios inmunocitoquímicos se ha demostrado que la proteína tau se localiza principalmente en axones. Se ha demostrado también que la proteína tau altamente fosforilada da lugar a los filamentos helicoidales apareados, elementos principales de la EA. En la práctica clínica se ha utilizado la proteína tau como un marcador de dicho padecimiento, particularmente determinando sus niveles en líquido cefalorraquídeo.

El enfoque para el diagnóstico de la EA también comprende el estudio de la apolipoproteína E (ApoE). Esta proteína de 34 kDa desempeña un papel importante en el transporte, captación y redistribución del colesterol. La primera sugerencia de que la ApoE pudiera estar involucrada en la EA provino de su localización inmunoquímica en los depósitos de amiloide extracelular, e incluye depósitos vasculares y neuronas con marañas neurofibrilares. En los humanos, todas las isoformas de ApoE se codifican en el cromosoma 19: ApoE2, cuya expresión tiene aparente función protectora, ApoE3 y ApoE4. La observación clave que relacionó a la EA con la ApoE fue la sobreexpresión del alelo ApoE4 en los pacientes con esta enfermedad. La frecuencia del alelo ApoE4 ha sido significativamente mayor en los pacientes con la EA que en pacientes controles, tanto en la enfermedad de inicio tardío esporádica como en la de inicio tardío familiar. Dicha asociación se ha demostrado en pacientes documentados por toma de biopsias y en casos de autopsias. Este hecho ha sido demostrado en países como los E.E.U.U., Japón, Finlandia, Italia y Holanda.

Debido a la dificultad de trabajar con tejido cerebral se han buscado alternativas en el estudio de la EA. Uno de los modelos de estudio lo constituyen las células sanguíneas (plaquetas, linfocitos), el cultivo de fibroblastos y el tejido cefalorraquídeo. A la fecha, el estudio de las plaquetas en esta enfermedad ha provocado gran interés debido a que se ha encontrado evidencia de las similitudes que hay entre las neuronas y las plaquetas con respecto al metabolismo de los neurotransmisores y a que ambas contienen y secretan a la proteína precursora del amiloide. De manera interesante se ha encontrado una disminución en la actividad de la citocromo oxidasa mitocondrial en plaquetas obtenidas de pacientes con la enfermedad de Alzheimer, lo que se correlaciona de manera positiva con la actividad de la citocromo oxidasa cuantificada en tejido cerebral.

A pesar de que se conoce la presencia de defectos genéticos en una gran variedad de proteínas implicadas en la EA y de la presencia de factores adicionales que contribuyen a esta enfermedad, la evidencia actual sugiere que el funcionamiento deficiente de las mitocondrias es una característica unificadora en la degeneración neuronal.

Alteraciones mitocondriales

Además de las mutaciones en las proteínas implicadas en la EA (particularmente de la PPA y en las proteínas asociadas a su fragmentación tales como las presenilinas) y de factores de riesgo que contribuyen a su manifestación, se cree que el funcionamiento deficiente de las mitocondrias es una característica unificadora en la degeneración neuronal. Las primeras evidencias de esta hipótesis provinieron de las siguientes observaciones: 1) en pacientes con la EA hay una disminución significativa en el consumo de oxígeno y de glucosa de las neuronas y del fosfato inorgánico conforme progresa la enfermedad; 2) el consumo de oxígeno es mayor que el de la glucosa; 3) hay una disminución en la actividad de la NADH deshidrogenasa, citocromo oxidasa, piruvato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa; 4) hay reducciones importantes en los niveles de los mRNA, provenientes del DNA mitocondrial, que codifican para las subunidades: ND1 y ND4 del complejo I; COX1 y COXIII del complejo IV; 5) hay reducciones significativas en el mRNA que provienen del DNA nuclear que codifica a las subunidades COX IV y subunidad β de la FoF₁-ATP sintasa; y 6) los mRNA de la subunidad

β -actina, subunidad B de la lactato deshidrogenasa, y las subunidades 12S (mitocondrial) y 28S (nuclear) del rRNA, permanecen sin cambios.

La actividad de la F_1F_0 -ATP sintasa en la EA es controversial. Algunos grupos reportan un aumento ligero en la actividad hidrolítica de la enzima y otros muestran que no hay cambios en la actividad de hidrólisis y de síntesis de ATP. Estos datos no se correlacionan con la disminución en el mRNA de la subunidad b, ni con la disminución en la cantidad de la enzima en hipocampo de pacientes. Por otra parte, se ha encontrado un aumento del DNA mitocondrial y proteína en el citoplasma y en los supuestos lisosomas donde se degradan las mitocondrias por un proceso degradativo por autofagia. Además se encontró una disminución en la cantidad de mitocondrias en las zonas del cerebro susceptibles en la EA.

Aunque se desconoce, si las alteraciones mitocondriales son una causa o un efecto de la EA, se ha especulado que esto es una respuesta fisiológica normal a una reducción en la demanda energética en los cerebros de los pacientes. Por otro lado, la deficiencia en enzimas clave del metabolismo mitocondrial puede conducir a una disminución en los almacenes de energía y contribuir al proceso neurodegenerativo. Una reducción en la concentración de ATP y glucosa, además de interferir con la adquisición y consolidación de la memoria, puede activar proteínas cinasas específicas, que fosforilan a la proteína tau y esto conduce a la formación de marañas neurofibrilares; lo puede ocasionar una mayor susceptibilidad de las neuronas a los aminoácidos excitatorios, y conducir a la degeneración neuronal por un proceso excitotóxico lento.

Estrés oxidativo y cambios en las membranas

La evidencia que muestra el estrés oxidativo en cerebros de pacientes con la EA en comparación de cerebros de personas sanas, proviene de incrementos significativos en:

1. Los marcadores de peroxidación lipídica, tales como tiobarbituratos, 4-hidroxi-2-nonenal, acroleína, malondialdehído, F2-isoprostanos.
2. La cantidad de 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG) proveniente del DNA mitocondrial.
3. La oxidación selectiva de poly(A)⁺ mRNAs.

4. Aumento en la oxidación de proteínas cuantificado por los productos terminales en estado de glicosilación avanzada y por nitrotirosinas.

Además existen los siguientes cambios:

1. Una mayor actividad de las enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa), lo cual sugiere que hay una adaptación del tejido a una mayor producción de radicales libres.
2. Un contenido de hierro mayor que el normal, que participa en la generación de radicales libres, particularmente en aquellas áreas del cerebro que presentan severos cambios degenerativos.
3. El cerebro es rico en ácidos grasos muy susceptibles a la oxidación y posee niveles bajos de defensas antioxidantes respecto de las halladas en otros órganos.

Es claro que la oxidación de los lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos afecta su estructura y función normal, lo que compromete la función celular. Se cree que el estado prooxidativo en la EA puede provenir inicialmente de la generación de radicales libres por el β A fibrilar al interactuar con Fe^{+2} o Cu^{+2} y de una disminución en la eficiencia de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.

A la fecha se desconoce si el daño oxidativo observado es una de las causas primarias de la degeneración neuronal o sólo la consecuencia metabólica de la muerte neuronal iniciada por otros factores. Aun cuando la producción elevada de radicales libres sea un evento secundario, su acción es nociva y contribuye a la disfunción metabólica. Por ejemplo, las mitocondrias de cerebro de pacientes con la EA muestran una disminución en la fluidez de membrana, que no se modifica al someter las mitocondrias a una peroxidación adicional. En tanto que en los controles, la fluidez de membrana mitocondrial se reduce a un valor semejante a la de los pacientes cuando se someten a la peroxidación.

Adicionalmente al estado oxidativo en la EA, hay los siguientes cambios en los lípidos de la membrana neuronal:

1. Una disminución en los niveles de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol.
2. Un aumento de los productos de degradación, tales como glicerofosforilcolina y glicerofosforiletanolamin.

3. Una disminución en el cociente de los glicerofosfolípidos de etanolamina de plasmalógeno a no-plasmalógeno en la corteza temporal de individuos con la EA.

Estos cambios pueden conducir a una inestabilidad de la membrana, esto es, al desarrollo del “desajuste hidrofóbico” en las membranas, que puede afectar fuertemente a las proteínas y a la organización misma de los lípidos.

Por otro lado, investigaciones recientes sugieren una relación importante entre el contenido de colesterol en las membranas y la producción del β A. El colesterol no se distribuye de manera homogénea en las membranas, sino que tiende a colocarse en microdominios con baja fluidez y abundantes en esfingolípidos conocidos como balsas lipídicas. Estas balsas lipídicas son los sitios donde la PPA es fragmentada por la por las β y γ -secretasas para producir el β A, en tanto que los sitios donde se produce la PPA son en las regiones de membrana con fluidez elevada y bajo contenido de colesterol.

Conclusiones

La hipótesis sistémica de la EA se ha reforzado con resultados que muestran que el procesamiento de la PPA ocurre de manera similar en neuronas o plaquetas. Además de la formación del β A y sus agregados, existen reducciones en el metabolismo energético de las células que lo producen, como lo es un mayor estrés oxidativo, así como daños en las proteínas, DNAm, y membranas mitocondriales.

Es importante enfatizar que podemos analizar otros tejidos (fibroblastos sangre), fluidos (LCR, saliva) y células periféricas (leucocitos) como las plaquetas de los pacientes de EA ya que pueden funcionar como marcadores útiles en el estudio la relación causa efecto en los cambios metabólicos que contribuyen a la progresión de la EA.

Referencias

- Barger SW and Harmon AD. Microglial activation by Alzheimer amyloid precursor protein and modulation by apolipoprotein E. *Nature*, 1997;388:878-81.
- Beal MF. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta*, 1998;1366:211-23.
- Bianca VD, Dusi S, Bianchini E, Dal Pra I and Rossi F. beta-amyloid activates the O-2 forming NADPH oxidase in microglia, monocytes, and neutrophils. A possible inflammatory mechanism of neuronal damage in Alzheimer's disease. *J Biol Chem*, 1999;274:15493-9.
- Binder LI, Frankfurter A and Rebhun LI. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J Cell Biol*, 1985;101:1371-8.
- Borgaonkar DS, Schmidt LC, Martin SE, Kanzer MD, Edelsohn L, Growdon J and Farrer LA. Linkage of late-onset Alzheimer's disease with apolipoprotein E type 4 on chromosome 19. *Lancet*, 1993;342:625.
- Bourdel-Marchasson I, Delmas-Beauvieux MC, Peuchant E, Richard-Harston S, Decamps A, Reignier B, Emeriau JP and Rainfray M. Antioxidant defences and oxidative stress markers in erythrocytes and plasma from normally nourished elderly Alzheimer patients. *Age Ageing*, 2001;30:235-41.
- Cecil RL, Goldman L, Bennett JC and Drazen JM. *Cecil textbook of medicine*. 21st. Philadelphia: 2000: 2042-2045.
- Chan D, Fox NC, Scahill RI, Crum WR, Whitwell JL, Leschziner G, Rossor AM, Stevens JM, Cipelotti L and Rossor MN. Patterns of temporal lobe atrophy in semantic dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2001;49:433-42.
- Chandrasekaran K, Hatanpaa K, Brady DR and Rapoport SI. Evidence for physiological down-regulation of brain oxidative phosphorylation in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 1996;142:80-8.
- Citron M, Vigo-Pelfrey C, Teplow DB, Miller C, Schenk D, Johnston J, Winblad B, Venizelos N, Lannfelt L and Selkoe DJ. Excessive production of amyloid beta-protein by peripheral cells of symptomatic and presymptomatic patients carrying the Swedish familial Alzheimer disease mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994;91:11993-7.
- Gattaz WF, Levy R, Cairns NJ, Forstl H, Braus DF and Maras A. [Relevance of metabolism of membrane phospholipids for Alzheimer dementia]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 1996;64:8-12.
- Iqbal K, Liu F, Gong CX and Grundke-Iqbal I. Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Curr Alzheimer Res*, 2010;7:656-64.

- Jung C, Higgins CM and Xu Z. Measuring the quantity and activity of mitochondrial electron transport chain complexes in tissues of central nervous system using blue native polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal Biochem*, 2000;286:214-23.
- Li QX, Whyte S, Tanner JE, Evin G, Beyreuther K and Masters CL. Secretion of Alzheimer's disease A β amyloid peptide by activated human platelets. *Lab Invest*, 1998;78:461-9.
- Mecocci P, Cherubini A, Beal MF, Cecchetti R, Chionne F, Polidori MC, Romano G and Senin U. Altered mitochondrial membrane fluidity in AD brain. *Neurosci Lett*, 1996;207:129-32.
- Poirier J, Davignon J, Bouthillier D, Kogan S, Bertrand P and Gauthier S. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet*, 1993;342:697-9.
- Raffai RL and Weisgraber KH. Cholesterol: from heart attacks to Alzheimer's disease. *J Lipid Res*, 2003;44:1423-30.
- Rehman HU and Masson EA. Neuroendocrinology of ageing. *Age Ageing*, 2001;30:279-87.
- Ricagno S, Colombo M, de Rosa M, Sangiovanni E, Giorgetti S, Raimondi S, Bellotti V and Bolognesi M. DE loop mutations affect beta2-microglobulin stability and amyloid aggregation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008;377:146-50.
- Ropper AH, Adams RD, Victor M and Samuels MA. *Adams and Victor's principles of neurology*. 9th. New York: 2009.
- Selkoe DJ and Christen Y. *Synaptic plasticity and the mechanism of Alzheimer's disease*. New York ; London: 2008.
- Shi C, Guo K, Yew DT, Yao Z, Forster EL, Wang H and Xu J. Effects of ageing and Alzheimer's disease on mitochondrial function of human platelets. *Exp Gerontol*, 2008;43:589-94.
- Swerdlow RH. An Alzheimer disease presenilin mutation, syndrome diversity, and a shrinking world. *Neurology*, 2010;74:790-1.
- Weisgraber KH and Mahley RW. Human apolipoprotein E: the Alzheimer's disease connection. *FASEB J*, 1996;10:1485-94.

10 Procesamiento de la proteína precursora del amiloide en la enfermedad de Alzheimer

Ricardo David Quiroz Baez^{1,2}

Resumen

La etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer (EA) es compleja y se han involucrado múltiples factores en su origen, sin embargo parece claro que un evento central ocurre a partir del procesamiento alterado de la proteína precursora del amiloide (APP), lo que resulta en la sobreproducción y agregación de formas neurotóxicas de la proteína β -amiloide ($A\beta$). Más allá de los casos de origen familiar de la EA, en donde las mutaciones encontradas se relacionan con una sobreproducción de la $A\beta$, poco se conoce acerca de los mecanismos involucrados en los casos de tipo esporádico, los cuales representan casi la totalidad (95%) de los enfermos con EA. El entendimiento de las vías metabólicas involucradas en el procesamiento de la APP, así como de las moléculas que regulan este proceso, sin olvidar cómo éste puede verse afectado por algunas condiciones fisiológicas asociadas al envejecimiento, es fundamental para tratar de desarrollar estrategias terapéuticas efectivas en la EA.

¹ Departamento de Investigación Básica, Instituto de Geriatria (INGER), Secretaria de Salud, México DF.

² Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una demencia neurodegenerativa progresiva, la cual se asocia al envejecimiento. La prevalencia de esta enfermedad es de 3% en individuos entre 60 y 70 años, alcanzando 40% en personas mayores de 85 años (Hebert *et al.*, 2003). La primera descripción clínica y neuropatológica de este tipo de demencia la realizó en 1906 el médico alemán Alois Alzheimer. La enfermedad se presentó en una mujer de 51 años, quien murió después de cuatro años de padecimiento. Entre los síntomas que presentan los pacientes con la EA, se encuentran la pérdida de la memoria a corto plazo, el deterioro cognoscitivo progresivo, cambios en la personalidad, alteraciones en los patrones lingüísticos, dificultad para realizar tareas rutinarias y en etapas finales de la enfermedad, una pérdida total de independencia. Desde el inicio de la enfermedad hasta la muerte del individuo pueden transcurrir de 12 a 20 años.

Histopatológicamente, la EA se caracteriza por una pérdida sináptica y neuronal, así como por la presencia de placas seniles y marañas neurofibrilares. Las primeras son depósitos extraneuronales de proteína β -amiloide ($A\beta$), las segundas son depósitos intraneuronales de proteína tau, la cual estabiliza los microtúbulos axonales (Selkoe, 1991). La disminución en la densidad sináptica parece ser un evento temprano previo a la muerte neuronal, la cual se refleja en la pérdida de la mayoría de los componentes de las vesículas sinápticas y de la mayoría de los péptidos almacenados en las mismas (Arendt, 2001). Esta pérdida sináptica puede alcanzar hasta 75% en el hipocampo (Terry & Katzman, 2001). Por lo que la reducción en el contenido de la proteína sinaptofisina (asociada a las terminales sinápticas) se ha usado como un marcador temprano en la EA.

Aunque este padecimiento tiene una patogénesis compleja y puede involucrar múltiples factores etiológicos, la sobreproducción de $A\beta$ parece jugar un papel central, como ha quedado demostrado por diversos estudios genéticos, histopatológicos y bioquímicos (Selkoe, 1991; Hsiao *et al.*, 1996; Walsh & Selkoe, 2004).

El $A\beta$ y las placas seniles

El $A\beta$ es un péptido de 40-42 aminoácidos, que se origina a partir del procesamiento de la proteína precursora del amiloide (APP, por sus siglas en inglés) por

la acción de la β y γ -secretasas (Seubert *et al.*, 1993; Lichtenthaler *et al.*, 1999). Aunque la mayor parte del A β se genera en vesículas endocíticas para ser secretado posteriormente, una fracción pequeña tiene su origen en el aparato de Golgi y en menor proporción en el retículo endoplásmico. La principal forma de A β generado es la de 40 aminoácidos (A β_{40}), hallada en concentraciones nanomolares en el líquido cefalorraquídeo (Vigo-Pelfrey *et al.*, 1993). Sin embargo, la forma de 42 aminoácidos (A β_{42}) es la más fibrogénica y se encuentra altamente enriquecida en los núcleos de las placas seniles en paciente y modelos transgénicos de la enfermedad (Kuo *et al.*, 1996). De hecho, el A β alcanza una proporción cercana a 70% en el núcleo proteico que compone el peso seco de las placas seniles (Miller *et al.*, 1993).

Las placas seniles están conformadas por un núcleo compuesto principalmente por A β_{42} rodeadas de neuritas distróficas y procesos de células gliales reactivas, éstas se observan más frecuentemente en la amígdala, el hipocampo y la neocorteza. Otras proteínas que también han sido identificadas son la α 1-antiquimotripsina, la apolipoproteína E, proteasas lisosomales y enzimas antioxidantes, aunque se desconoce si tienen participación en la formación de la placa o simplemente son absorbidas por ésta. Adicionalmente, se han detectado proteoglicanos de heparan sulfato, los cuales podrían participar en la formación de fibrillas amiloides (Snow *et al.*, 1990). Aunque hasta el momento no se conocen con precisión los mecanismos por los cuales se generan las placas seniles, y su papel exacto en la etiología de la enfermedad, la presencia de A β parece ser un factor determinante.

Hipótesis del amiloide en la EA

Diversos estudios han llevado a la identificación de las vías bioquímicas implicadas en la generación de A β . Del total de casos de EA, sólo entre 1% y 5% tienen una explicación genética (EAF). Los pacientes con la EAF presentan mutaciones en el gen de la APP a partir de la cual se genera el A β , así como en otras proteínas involucradas en su procesamiento, lo cual favorece la formación y secreción de A β . Así mismo, modelos transgénicos, los cuales expresan la APP humana con dichas mutaciones, exhiben parte de la patología de la enfermedad y han provisto de evidencia experimental que sustenta la correlación entre la generación de A β

y la neurodegeneración característica de la enfermedad. Sin embargo, aún no se conoce el mecanismo por el cual $A\beta$ causa el deterioro cognitivo, y si el grado de la demencia correlaciona con el grado de pérdida neuronal.

A los casos de la EA que no pueden ser explicados por causas genéticas se les conoce como de tipo esporádico (EAE). Estos pacientes, al igual que los EAF, presentan las mismas características patológicas, aunque las desarrollan en etapas más avanzadas de la vida. El hecho de que ambos tipos de la EA presenten una sobreproducción de $A\beta$, ha llevado a postular una hipótesis amiloidea del origen de la enfermedad. Ésta propone que la EA es desencadenada por un desequilibrio en la generación o acumulación de $A\beta$, lo cual conduce al desarrollo de la misma. Aunque esta hipótesis no es capaz de explicar todos los eventos que ocurren en el transcurso de la enfermedad, está claro que el conocimiento de los procesos que llevan a la sobreproducción del $A\beta$ es fundamental en el entendimiento y el desarrollo de estrategias terapéuticas en la EA.

Existen múltiples evidencias en este sentido. Estudios recientes señalan que no sólo las formas agregadas del $A\beta$ pueden tener un efecto tóxico, sino que formas dimericas y oligoméricas solubles también pueden tener un efecto deletéreo sobre las neuronas (Freir *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2002). Entre estos efectos destacan: la desregulación de la homeostasis del calcio (Hartmann H., 1993; Mattson *et al.*, 1992); la generación de radicales libres y la subsecuente oxidación de lípidos de membrana y proteínas (Behl *et al.*, 1994; Buttterfield *et al.*, 1994). Así mismo, el $A\beta$ es capaz de potenciar el efecto de distintos agentes tóxicos neuronales, incluyendo el producido por los aminoácidos excitadores (Mattson *et al.*, 1992; Arias *et al.*, 1995), la privación de glucosa e inhibidores metabólicos (Copani *et al.*, 1991) y el estrés oxidante (Lockhart *et al.*, 1994; Behl & Moosmann, 2002). También se ha reportado la capacidad del $A\beta$ para promover la fosforilación de la proteína tau, en cultivos neuronales de corteza e hipocampo (Busciglio *et al.*, 1995); así como la inhibición de la LTP en el hipocampo de rata, tanto *in vivo* como *in vitro* (Freir *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004).

Proteína precursora del amiloide

La APP es una glicoproteína transmembranal del tipo 1 de entre 120-200 kD, integrada por tres regiones (Kang *et al.*, 1987): un gran dominio extracelular en

la región N-terminal que forma una estructura globular (Rossonjohn *et al.*, 1999); una región transmembranal, que contiene parte de la secuencia del A β ; y un pequeño dominio citoplasmático en la región C-terminal. Esta proteína es ubicua al organismo y muy conservada evolutivamente (Goldgaber *et al.*, 1987; Tanzi *et al.*, 1987). El gen de la APP se localiza en el cromosoma 21, y existen 10 isoformas con un tamaño que puede variar de 563 hasta 770 aminoácidos. Las neuronas principalmente expresan la isoforma APP₆₉₅ (Coulson *et al.*, 2000).

En el SNC, la APP puede funcionar como un factor neurotrófico, involucrado durante el desarrollo y la vida adulta. Entre las características celulares de la APP se ha reportado su interacción con los microtúbulos, implicándola en el proceso de tráfico vesicular, además se ha demostrado que está sujeta a un transporte rápido hacia las terminales sinápticas y se encuentra presente en las uniones neuromusculares. Otros estudios han señalado su capacidad de interactuar con componentes de la matriz extracelular, lo que sugiere su participación en la fisiología neuronal como un receptor membranal involucrado en la adhesión celular (Ghisso *et al.*, 1992). De esta manera, la APP podría intervenir en el mantenimiento, estabilidad y función sinápticas. En este sentido, Ninomiya (1993) demostró la participación de la APP como un factor involucrado en el crecimiento y guía axonal durante el desarrollo. Por otra lado, dentro de la región citoplasmática de la APP se han identificado ciertos dominios consenso que sugieren su acción en vías de señalización (Nishimoto *et al.*, 1993; Nordstedt *et al.*, 1993), así como en la regulación de factores de transcripción (Minopoli *et al.*, 2001). En los últimos años estudios *in vitro* ha demostrado que la APP es capaz de unir iones metálicos (Cu²⁺, Fe²⁺ y Zn²⁺), y se ha postulado su intervención en la homeostasis de dichos iones en el cerebro (White *et al.*, 1999).

A nivel electrofisiológico, algunos reportes han señalado que la actividad transcripcional de la APP se encuentra regulada positivamente durante la inducción de la LTP, y que este efecto se ve disminuido durante la vejez (Stéphan *et al.*, 2002). Otros trabajos realizados en rebanadas de hipocampo muestran que la elevación en los niveles de APP, posterior a la estimulación eléctrica, viene acompañada de un aumento en la generación de A β y una subsecuente inhibición de la actividad neuronal (Wang *et al.*, 2004).

Metabolismo de la APP

La APP es sustrato de distintas enzimas y, dependiendo cuál de ellas actúe, puede ser procesada a través de dos vías proteolíticas: la amiloidogénica y la no amiloidogénica (figura 1). En la vía amiloidogénica, el A β es generado por el procesamiento secuencial de la β - y la γ -secretasa, las cuales producen las regiones N- y C-terminal respectivamente. Alternativamente, en la vía no amiloidogénica la APP puede ser procesada en la membrana plasmática por la α -secretasa, lo cual previene la formación del A β y permite la generación de un fragmento con propiedades neurotróficas (α APPs).

A pesar de que el procesamiento de la APP mediado por la α -secretasa es la principal vía proteolítica, la identidad exacta de la α -secretasa no ha sido confirmada; sin embargo, su actividad se ha asociado a regiones con bajo contenido de colesterol (Kojro *et al.*, 2001). Estudios farmacológicos indican que la α -secretasa es una metaloproteasa dependiente de zinc (Parvathy *et al.*, 1998). Su actividad enzimática puede ser constitutiva o inducible a través de la activación de la proteína cinasa C (PKC) (Lammich *et al.*, 1999). Datos recientes sugieren que la proteína TACE (TNF- α cleaving enzyme), una metaloproteasa perteneciente a la familia de proteínas ADAM (a disintegrin and metalloprotease), también nombrada ADAM17, presenta la actividad inducible de la α -secretasa (Peschon *et al.*, 1998; Buxbaum *et al.*, 1998). En este contexto, ha sido reportado recientemente que células de neuroblastoma que presentan un ligero incremento en los niveles de TACE muestran un efecto robusto al disminuir los niveles de A β (Tachida *et al.*, 2008). Por otro lado, también se ha demostrado que la proteína ADAM10 muestra actividad de α -secretasa en el procesamiento de la APP. Así, la expresión de una forma dominante negativa de la ADAM10 es capaz de inhibir la actividad endógena de la α -secretasa, mientras que la sobreexpresión de la forma silvestre de la ADAM10 incrementa tanto la actividad constitutiva como la inducible de la α -secretasa (Wen *et al.*, 1997). Algunos estudios sugieren que la proteína ADAM9 podría ser otra candidata con actividad de α -secretasa (Asai *et al.*, 2003).

Bajo condiciones metabólicas normales, alrededor de 10% de la APP no es procesada por la α -secretasa, entonces la APP es internalizada por los compartimientos endocíticos y subsecuentemente procesada a través de la vía amiloidogénica (en la que participan β - y la γ -secretasa). La proteína BACE (β -site APP-cleaving enzyme) ha sido identificada como la proteína que posee la actividad de

β -secretasa. BACE es una proteína que presenta homología con la familia de las pepsinas, proteasas de aspartato (Vassar *et al.*, 1999). La proteína BACE-1 tiene altos niveles de expresión en neuronas y parece ser la principal enzima de la vía amiloidogénica (Fluhrer *et al.*, 2002). El uso de oligos antisentido dirigidos contra la proteína BACE-1 reduce la generación del A β en cultivos celulares (Vassar *et al.*, 1999; Yan *et al.*, 1999). Mientras que el corte proteolítico mediado por BACE-1 ocurre en el Asp-1 del dominio del A β , interesantemente, la proteína homóloga BACE-2 posee un especificidad distinta en el procesamiento de la APP. Fluhrer (2002) demostró que el corte proteolítico mediado por BACE-2 ocurre en medio del dominio del A β , entre las Phe 19 y 20. Hasta este momento, no se han detectado mutaciones en la proteína BACE en los casos de tipo familiar de la EA (Cruts *et al.*, 2001; Nicolaou *et al.*, 2001), sin embargo, han sido reportados aumentos en los niveles de expresión de BACE1 en la corteza de paciente con EAE (Fukumoto *et al.*, 2002; Holsinger *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2003). Los mecanismos implicados en esta elevación de los niveles de BACE en algunos casos de EA de tipo esporádico no son del todo conocidos.

La actividad proteolítica de la otra secretasa involucrada en la vía amiloidogénica ocurre en la región transmembranal de la APP. La γ -secretasa es un complejo proteico integrado por: presenilina (PS), la cual posee la actividad proteolítica del complejo; nicastrina; Aph-1; y Pen-2 (Yu *et al.*, 2000; Francis *et al.*, 2002). La participación de estas proteínas en el complejo es crítica para su función, ya que cada una puede modificar su actividad y respuestas a estímulos fisiológicos (Parvathy *et al.*, 1998). La participación de la PS en la patogénesis de la EA se ha demostrado en la mayoría de los casos de EA familiar, con un claro componente genético (Price & Sisodia, 1998).

Fosforilación de la APP

Existe evidencia de que la APP es una proteína que posee residuos fosforilables tanto en la región citoplasmática (Gandy *et al.*, 1988) como en la extracelular/luminal (Knops *et al.*, 1993). Aunque se han descrito al menos cinco sitios citoplasmáticos de fosforilación de la APP, la Thr668 (basándose la numeración en la isoforma APP₆₉₅), es un blanco exclusivo de células neuronales. A nivel fisiológico, la fosforilación de la APP se ha reportado en neuronas post-mitóticas diferenciadas, observándose en la forma madura de la APP (APPm); mientras que en

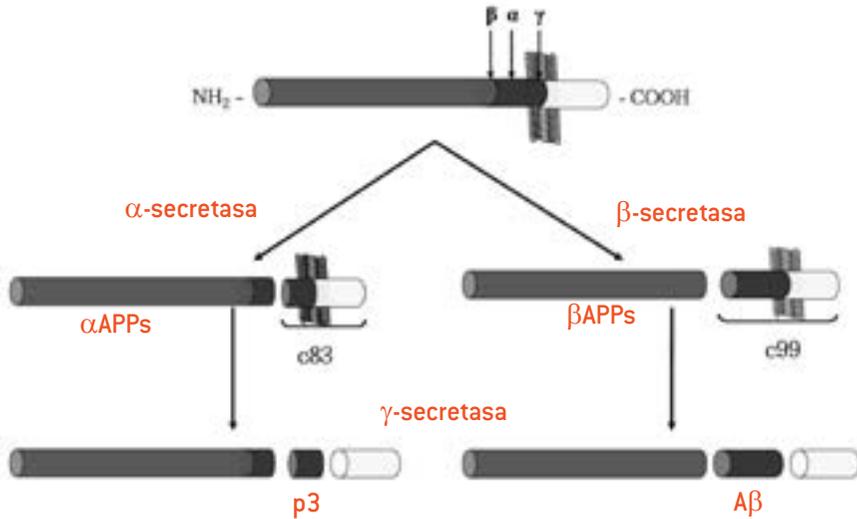


FIGURA 1. Participación de las distintas enzimas involucradas en el metabolismo de la PPA. La APP es una glucoproteína transmembranal que puede ser procesada a través de dos vías: la amiloidogénica y la no amiloidogénica. Bajo condiciones metabólicas normales aproximadamente 90% de la PPA es procesada por la vía no amiloidogénica, generándose el fragmento sPPA α debido a la acción de la α -secretasa en la membrana celular previniendo así la formación de A β . Alternativamente, en la vía amiloidogénica, el A β es generado por el procesamiento secuencial de la β - y la γ -secretasa, las cuales producen las regiones N- y C-terminal respectivamente.

células en división, la fosforilación se presenta en las formas inmaduras de la APP (APP_{im}) (Iijima *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 1994). La fosforilación de la Thr668 de la APP es sustrato de diversas cinasas entre las que se encuentran la CDK5 (cinasa dependiente de ciclina 5) y la GSK-3 β (cinasa de la glucógeno sintasa-3 β) para la APP_m, mientras que la cinasa CDK1 actúa sobre la APP_{im} en células en división (Iijima *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 1994). Ante estímulos estresantes, la Thr668 de la APP puede ser fosforilada por la cinasa JNK (cinasa N-terminal de c-jun). La Thr668 se encuentra dentro del motivo ⁶⁶⁷VTPEER⁶⁷², cuya función es estabilizar una estructura de α -hélice en la región C-terminal (Ramelot *et al.*, 2000), su fosforilación induce cambios conformacionales en la región citoplasmática de la APP modificando su interacción con la proteína Fe65, permitiendo la translocación nuclear del dominio citoplásmico intracelular de la APP, por lo

que se postula la participación de esta vía en la activación genética en respuesta a estrés (Nakaya *et al.*, 2006).

El papel de la fosforilación en la Thr668 de la APP es controversial, aunque la mayoría de los reportes la han ligado con la generación de A β (Akiyama *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005; Ando *et al.*, 2008; Quiroz-Baez *et al.*, 2009), otros trabajos no encuentran una relación entre esta fosforilación y la producción de A β (Sano *et al.*, 2006). En este sentido, Shin *et al.* (2007) propusieron la probable existencia de dos alternativas en el procesamiento de la APP, una dependiente de la fosforilación de la Thr668 y otra independiente de esta para la generación de A β .

Condiciones que propician la generación de fragmentos amiloidogénicos

Existe evidencia de que diferentes factores pueden alterar el metabolismo de la APP e influir en la producción de A β , y cuya presencia se ha documentado en la EA (figura 2). Entre éstos destacan: modelos experimentales de daño isquémico (Saido *et al.*, 1994), excitotoxicidad (Stephenson & Clemens, 1998) y daño sináptico (Hernández-Ortega *et al.*, 2007); así como la presencia de las especies reactivas de oxígeno (ERO) (Yankner, 1996); algunos metales, como el Cu²⁺, Fe²⁺ y Zn²⁺, los cuales pueden interactuar de forma directa con el mRNA y/o la proteína APP, además de ejercer un efecto sobre algunas de las enzimas involucradas en el procesamiento de la misma (Strausak *et al.*, 2001); y los niveles del AMPc (Lee *et al.*, 1999). En este sentido, existen algunos estudios epidemiológicos en donde se ha demostrado que situaciones que aumenten de manera crónica la concentración de adrenalina o noradrenalina favorecen el desarrollo de la EA. Sin embargo, hasta el momento se desconocen de qué manera estos factores pueden inducir una sobreproducción de A β *in vivo*. Por lo tanto resulta fundamental para el conocimiento de la etiopatogenia de la EA encontrar situaciones metabólicas que generen un exceso tanto en la producción de APP como en la generación de A β .

Estrés oxidante y producción de A β

Un evento clave en la patología de la EA es el estrés oxidante, el cual se presenta de manera temprana (Nunomura *et al.*, 2001, 2006). Éste es capaz de inducir

Eventos que alteran el metabolismo de la APP

Inhibición del metabolismo energético
[Velliquette et al., 2005]

Estrés oxidante
[Tong et al., 2005; Shen et al., 2008]

Isquemia
[Saïdo et al., 1994]

Daño simpático
[Hernández-Ortega et al., 2007]

Éxitotoxicidad
[Stephenson and Clemens, 1998]



FIGURA 2. Factores capaces de alterar el metabolismo de la APP e incrementar la producción de A β .

daño nuclear, proteico y membranar, además de contribuir en la muerte celular (Perry *et al.*, 2000). Las neuronas parecen ser particularmente vulnerables al daño mediado por radicales libres. Entre las razones que podrían explicar esta susceptibilidad están: 1) su bajo contenido de glutatión, un antioxidante celular (Cooper, 1997); 2) la alta proporción de ácidos grasos polinsaturados de la membrana neuronal (Hazel & Williams, 1990); y 3) que el metabolismo cerebral consume alrededor de 20% del oxígeno corporal, con lo que se generan una enorme cantidad de ERO (Smith *et al.*, 1995).

La relación existente entre la toxicidad del A β y el estrés oxidante parece ser crucial en la enfermedad al ser ambos eventos dependientes de la edad (Floyd & Hensley, 2002) cuyos efectos están interrelacionados, como lo muestran algunos modelos *in vivo* e *in vitro* (Harkany *et al.*, 2000; Misonou *et al.*, 2000; Paola *et al.*, 2000). En este sentido, animales transgénicos que sobre-expresan la APP con mutaciones, presentan una sobreproducción de ERO, la cual precede a la formación de placas amiloides (Praticò *et al.*, 2001). Así mismo, Frederikse (1996) encontró que el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) incrementa la producción y acumulación de A β en el cristalino.

Existen muchas evidencias más en este sentido, y es claro que el estrés oxidante juega un papel patológico importante. En estudios realizados en pacientes con la EA y en modelos animales se ha encontrado que la inhibición del metabolismo energético induce un incremento en la producción de ERO (Smith *et al.*, 2000), lo cual exacerba tanto la toxicidad como un aumento en la generación A β . Esto es apoyado por un trabajo de Kaido (1996), quien reportó que personas con padecimientos asociados con mutaciones del DNA mitocondrial exhibían daño oxidante y presentaban placas de A β .

Estudios en cerebro de pacientes con la EA muestran un aumento en la producción de aldehídos reactivos como la acroleína, presente en las marañas neurofibrilares, y el 4-hidroxinonenal (4-HNE) (Markesbery & Carney, 1999), lo que confirma un estado de estrés oxidante generalizado. En un estudio reciente se encontró que el 4-HNE es capaz de elevar la expresión de la proteína BACE1 y así aumentar la generación de A β (Tamagno *et al.*, 2005).

Actualmente se ha establecido que condiciones pro-oxidantes pueden regular el procesamiento de la APP, a través de la modulación de la expresión y la actividad tanto de la enzima BACE1 (Tong *et al.*, 2005; Tamagno *et al.*, 2005, 2008; Shen *et al.*, 2008; Quiroz-Baez *et al.*, 2009) como de la γ -secretasa (Tamagno *et al.*, 2008; Quiroz-Baez *et al.*, 2009). Por otro lado, se ha reportado que la actividad de α -secretasa aumenta en células neuronales expuestas al compuesto antioxidante miricetina (Shimmyo *et al.*, 2008). En este sentido, células de neuroblastoma humano, las cuales expresaban la forma silvestre de la APP, al ser sometidas a condiciones pro-oxidantes mostraron un incremento en la generación de A β como producto de la modulación dual en el metabolismo de la APP. Bajo estas condiciones, reportaron una regulación negativa de proteínas con actividad de α -secretasa, determinado por el decremento en la expresión de TACE, así como una regulación positiva de componentes de la γ - y β -secretasa (Quiroz-Baez *et al.*, 2009).

Consideraciones finales

En conjunto, los datos presentados aportan una visión general de la compleja regulación y los múltiples componentes que participan en el metabolismo de la APP, así como en la generación del A β . El entendimiento cabal de estos procesos

permitirá el desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas capaces de prevenir la sobreproducción y acumulación del A β , evento clave en el desarrollo de la patología de la EA.

Referencias

- Akiyama H, Shin RW, Uchida C, Kitamoto T, Uchida T. Pin1 promotes production of Alzheimer's amyloid β from β -cleaved amyloid precursor protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; 336:521-529.
- Ando K, Iijima KI, Elliott JI, Kirino Y, Suzuki T. Phosphorylation-dependent regulation of the interaction of amyloid precursor protein with Fe65 affects the production of β -amyloid. *J Biol Chem*, 2008; 276: 40353-40361.
- Arendt T. Alzheimer's disease as a disorder of mechanisms underlying structural brain self-organization. *Neuroscience*, 2001; 102:723-765.
- Arias C, Arrieta I, Tapia R. β -amyloid peptide fragment 25-35 potentiates the calcium-dependent release of excitatory amino acids from depolarized hippocampal slices. *J Neurosci Res*, 1995; 41:561-566.
- Asai M, Hattori C, Szabo B, Sasagawa N, Maruyama K, Tanuma S, Ishiura S. Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as PPA α -secretase. *Biochem Biophys Res*, 2003; 301:231-235.
- Behl C, Davis JB, Lesley R, Schubert D. Hydrogen peroxide mediates amyloid β protein toxicity. *Cell*, 1994; 77: 817-827.
- Busciglio J, Lorenzo A, Yeh J, Yankner BA. β -amyloid fibrils induce tau phosphorylation and loss of microtubule binding. *Neuron*, 1995; 4:879-888.
- Butterfield DA, Hensley K, Harris M, Mattson M, Carney J. β -amyloid peptide free radical fragments initiate synaptosomal lipoperoxidation in a sequence specific fashion: implications to Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994; 200:710-715.
- Buxbaum JD, Liu KN, Luo Y, Slack JL, Stocking KL, Peschon JJ, Johnson RS, Castner BJ, Cerretti DP, Black RA. Evidence that tumor necrosis factor α converting enzyme is involved in regulated α -secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *J Biol Chem*, 1998; 273:27765-27767.
- Cooper AJL. Glutathione in the brain: disorders of glutathione metabolism. En: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL, Klunk LM, eds. *The molecular and genetic basis of neurological disease*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1997; pp:1242-5.

- Copani A, Koh JY, Cotman CW. β -Amyloid increases neuronal susceptibility to injury by glucose deprivation. *Neuroreport*, 1991; 2:763–765.
- Coulson EJ, Paliga K, beyreuther K, Masters CL. What the evolution of the amyloid protein precursor supergen family tells us about its function. *Neurochem Int*, 2000; 36:175-184.
- Cruts M, Dermaut B, Rademakers R, Roks G, Van den Broeck M, Munteanu G, van Duijn CM, Van Broeckhoven C. Amyloid β secretase gene (BACE) is neither mutated in nor associated with early-onset Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2001; 313:105-107.
- Floyd RA, Hensley K. Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging*, 2002; 23:795-807.
- Fluhrer R, Capell A, Westmeyer G, Willem M, Hartung B, Condron MM, Teplow DB, Haass C, Walter J. A nonamyloidogenic function of BACE-2 in secretory pathway. *J Neurochem*, 2002; 81:1011-1020.
- Francis R, McGrath G, Zhang J, Ruddy DA, Sym M, Apfeld J, Nicoll M, Maxwell M, Hai B, Ellis MC, Parks AL, Xu W, Li J, Gurney M, Myers RL, Himes CS, Hiesch R, Ruble C, Nye JS, Curtis D. *aph-1* and *pen-2* are required for Notch pathway signaling, γ -secretase cleavage of bAPP, and presenilin protein accumulation. *Dev Cell*, 2002; 3:85-97.
- Frederikse PH, Garland D, Zigler JS Jr, Piatigorsky J. Oxidative stress increases production of β -amyloid precursor protein and β -amyloid ($A\beta$) in mammalian lenses, and $A\beta$ has toxic effects on lens epithelial cells. *J Biol Chem*, 1996; 271:10169-10174.
- Freir DB, Holscher C, Herron CE. Blockade of long-term potentiation by β -amyloid peptides in the CA1 region of the rat hippocampus in vivo. *J Neurophysiol*, 2001; 85:708-713.
- Fukumoto H, Cheung BS, Hyman BT, Irizarry MC. β -secretase protein and activity are increased in the neocortex in Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2002; 59:1381-1389.
- Gandy S, Czernik AJ, Greengard P. Phosphorylation of Alzheimer disease amyloid precursor peptide by protein kinase C and Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988;85:6218–6221.
- Ghisso J, Rostagno A, Gardella JE, Liem L, Gorevic PD, Frangione B. A 109-amino acid C-terminal fragment of Alzheimer's disease amyloid precursor protein contains a sequence, -RDSH-, that promotes cell adhesion. *Biochem J*, 1992; 288:1053-1059.
- Goldgaber D, Lerman MI, McBridge OW, Saffiotti V, Gadusek DC. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science*, 1987; 235:877–880.

- Harkany T, Abrahám I, Kónya C, Nyakas C, Zarándi M, Penke B, Luiten PG. Mechanisms of β -amyloid neurotoxicity: perspectives of pharmacotherapy. *Rev Neurosci*, 2000; 11:329-382.
- Hartmann H, Eckert A, Muller WE. β -amyloid protein amplifies calcium signaling in central neurons from the adult mouse. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993; 194:216-220.
- Hazel JR, Williams EE. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog Lipid Res*, 1990; 29:167-227.
- Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL. Alzheimer disease in the US population: Prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurology*, 2003; 60:1119-1122.
- Hernández-Ortega K, Ferrera P, Arias C. Sequential expression of cell-cycle regulators and Alzheimer's disease-related proteins in entorhinal cortex after hippocampal excitotoxic damage. *J Neurosci Res*, 2007; 85:1744-1751.
- Holsinger RM, McLean CA, Beyreuther K, Masters CL, Evin G. Increased expression of the amyloid precursor β -secretase in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2002; 51:783-786.
- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G. Correlative memory deficits, A β elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science*, 1996; 274:99-102.
- Iijima K, Ando K, Takeda S, Satoh Y, Seki T, Itohara S, Greengard P, Kirino Y, Nairn AC, Suzuki T. Neuron-specific phosphorylation of Alzheimer's β -amyloid precursor protein by cyclin-dependent kinase 5. *J Neurochem*, 2000; 75:1085-1091.
- Kaido M, Fujimura H, Soga F, Toyooka K, Yoshikawa H, Nishimura T, Higashi T, Inui K, Imanishi H, Yorifuji S, Yanagihara T. Alzheimer-type pathology in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Acta Neuropathol*, 1996; 92: 312-318.
- Kang DE, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell surface receptor. *Nature*, 1987; 325:733-736.
- Knops J, Gandy S, Greengard P, Lieberburg I, Sinha S. Serine phosphorylation of the secreted extracellular domain of APP. *Biochem. Biophys Res Commun*, 1993; 197:380-385.
- Kojro E, Gimpl G, Lammich S, Marz W, Fahrenholz F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the α -secretase ADAM 10. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001; 98:5815-5820.

- Kuo YM, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, Ball MJ, Roher AE. Water-soluble A β (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. *J Biol Chem*, 1996; 271:4077-4081.
- Lammich S, Kojro E, Postina R, Gilbert S, Pfeiffer R, Jasionowski M, Haass C, Fahrenholz F. Constitutive and regulated α -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96:3922-3927.
- Lee HG, Castellani RJ, Zhu X, Perry G, Smith MA. Amyloid- β in Alzheimer's disease: the horse or the cart? Pathogenic or protective? *Int J Exp Pathol*, 2005; 86:133-138.
- Lee RK, Knapp S, Wurtman RJ. Prostaglandin E2 stimulates amyloid precursor protein gene expression: inhibition by immunosuppressants. *J Neurosci*, 1999; 19:940-947.
- Lichtenthaler SF, Wang R, Grimm H, Uljon SN, Masters CL, Beyreuther K. Mechanism of the cleavage specificity of Alzheimer's disease γ -secretase identified by phenylalanine-scanning mutagenesis of the transmembrane domain of the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96: 3053-3058.
- Lockhart BP, Benicourt C, Junien, JL, Privat A. Inhibitors of free radical formation fail to attenuate direct β -Amyloid 25-35 peptide-mediated neurotoxicity in rat hippocampal cultures. *J Neurosci Res*, 1994; 39:494-505.
- Markesbery WR, Carney JM. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*, 1999; 9:133-146.
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE. β -amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *J. Neurosci*, 1992; 12:376-389.
- Miller DL, Papayannopoulos IA, Styles J, Bobin SA, Lin YY, Bieman K, Iqbal K. Peptide composition of the cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Arch Biochem Biophys*, 1993; 30:40-52.
- Minopoli G, de Candia P, Bonetti A, Faraonio R, Zambrano N, Russo T. The β -amyloid precursor protein functions as a cytosolic anchoring site that prevents Fe65 nuclear translocation. *J Biol Chem*, 2001; 276:6545-6550.
- Misonou H, Morishima-Kawashima M, Ihara Y. Oxidative stress induces intracellular accumulation of amyloid β -protein (A β) in human neuroblastoma cells. *Biochemistry*, 2000; 39:6951-6959.
- Moosmann B, Behl C. Antioxidants as treatment for neurodegenerative disorders. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002; 11:140714-35.
- Nakaya T, Suzuki T. Role of APP phosphorylation in FE65-dependent gene transactivation mediated by AICD. *Genes Cells*, 2006; 11:633-645.
- Nicolaou M, Song YQ, Sato CA, Orlacchio A, Kawarai T, Medeiros H, Liang Y, Sorbi S, Richard E, Rogaev EI, Moliaka Y, Bruni AC, Jorge R, Percy M, Duara R, Farrer LA,

- St Georg-Hyslop P, Rogaeva EA. Mutations in the open reading frame of the β -site PPA cleaving enzyme (BACE) locus are not a common cause of Alzheimer's disease. *Neurogenetics*, 2001; 3:203-206.
- Ninomiya H, Roch JM, Sundsmo MP, Otero DA, Saitoh T. Amino acid sequence RERMS represents the active domain of amyloid β /A4 protein precursor that promotes fibroblast growth. *J Cell Biol*, 1993; 121:1213-1221.
- Nishimoto I, Okamoto T, Matsuura Y, Takahashi S, Okamoto T, Murayama Y. Alzheimer amyloid protein precursor complexes with brain GTP-binding protein G0. *Nature*, 1993; 362:75-79.
- Nordstedt C, Caporaso GL, Thyberg J, Gandy SE, Greengard P. Identification of the Alzheimer β /A4-amyloid precursor protein in clathrin-coated vesicles purified from PC12 cells. *J Biol Chem*, 1993; 268:608-612.
- Nunomura A, Castellani RJ, Zhu X, Moreira PI, Perry G, Smith MA. Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006; 65: 631-641.
- Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, Jones PK, Ghanbari H, Wataya T, Shimohama S, Chiba S, Atwood CS, Petersen RB, Smith MA. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2001; 60:759-767.
- Parvathy S, Hussain I, Karran EH, Turner AJ, Hooper NM. Alzheimer's amyloid precursor protein α -secretase is inhibited by hydroxamic acid-based zinc metalloprotease inhibitors: similarities to the angiotensin converting enzyme secretase. *Biochemistry*, 1998; 37:1680-1685.
- Perry G, Nunomura A, Hirai K, Takeda A, Aliev G, Smith MA. Oxidative damage in Alzheimer's disease: the metabolic dimension. *Int J Dev Neurosci*, 2000; 18:417-421.
- Peschon JJ, Slack JL, Reddy P, Stocking KL, Sunnarborg SW, Lee DC, Russell WE, Castner BJ, Johnson RS, Fitzner JN, Boyce RW, Nelson N, Kozlosky CJ, Wolfson MF, Rauch CT, Cerretti DP, Paxton RJ, March CJ, Black RA. An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. *Science*, 1998; 282:1281-1284.
- Praticò D, Uryu K, Leight S, Trojanowski JQ, Lee VM. Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis. *J Neurosci*, 2001; 21:4183-4187.
- Price DL, Sisodia SS. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annu Rev Neurosci*, 1998; 21:479-505.
- Quiroz-Baez R, Rojas E, Arias C. Oxidative stress promotes JNK-dependent amyloidogenic processing of normally expressed human APP by differential modification of α -, β - and γ -secretase expression. *Neurochem Int*, 2009; 55:662-670.

- Ramelot, TA, Gentile LN, Nicholson LK. Transient structure of the amyloid precursor protein cytoplasmic tail indicates preordering of structure for binding to cytosolic factors. *Biochemistry*, 2000; 39:2714–2725.
- Rossonjohn J, Cappai R, Feli SC, Henry A, McKinstry WJ, Galatis D. Crystal structure of the N-terminal growth factor-like domain of Alzheimer amyloid precursor protein. *Nat Struct Biol*, 1999; 6:327-331.
- Saido TC, Yokota M, Maruyama K, Yamao-Harigaya W, Tani E, Ihara Y, Kawashima S. Spatial resolution of the primary β -amyloidogenic process induced in postischemic hippocampus. *J Biol Chem*, 1994; 269:15253-15257.
- Sano Y, Nakaya T, Pedrini S, Takeda S, Iijima-Ando K, Iijima K, Mathews PM, Itohara S, Gandy S, Suzuki T. Physiological mouse brain A β levels are not related to the phosphorylation state of threonine-668 of Alzheimer's PPA. *PLoS ONE*, 2006; 1:e51.
- Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 1991; 6:487-498.
- Seubert P, Oltersdorf T, Lee MG, Barbour R, Blomquist C, Davis DL. Secretion of β -amyloid precursor protein cleaved at the amino-terminus of the β -amyloid peptide. *Nature*, 1993; 361:260–263.
- Shen C, Chen Y, Liu H, Zhang K, Zhang T, Lin A, Jing N. Hydrogen peroxide promotes A β production through JNK-dependent activation of γ -secretase. *J Biol Chem*, 2008; 283:17721-17730.
- Shimmyo Y, Kihara T, Akaike A, Niidome T, Sugimoto H. Multifunction of myricetin on A β : neuroprotection via a conformational change of A β and reduction of A β via the interference of secretases. *J Neurosci Res*, 2008; 86:368-377.
- Shin RW, Ogino K, Shimabuku A, Taki T, Nakashima H, Ishihara T, Kitamoto T. Amyloid precursor protein cytoplasmic domain with phospho-Thr668 accumulates in Alzheimer's disease and its transgenic models: a role to mediate interaction of A β and tau. *Acta Neuropathol*, 2007; 113:627-636.
- Smith MA, Nunomura A, Zhu X, Takeda A, Perry G. Metabolic, metallic, and mitotic sources of oxidative stress in Alzheimer disease. *Antioxid Redox Signal*, 2000; 2:413-420.
- Snow AD, Henderson M, Nochlin D, Sekiguchi RT, Kimata K, Koike Y, Wight TN. Early accumulation of heparin sulfate in neurons and in the beta-amyloid protein containing lesions of Alzheimer disease and Down's syndrome. *Am J Pathol*, 1990; 137:1253-1267.
- Stéphan A, Davis S, Salin HS, Mallet J, Laroche S. Age-Dependent Differential Regulation of Genes Encoding APP and α -Synuclein in Hippocampal Synaptic Plasticity. *Hippocampus*, 2002; 12:55-62.

- Stephenson DT, Clemens JA. Metabotropic glutamate receptor activation in vivo induces intraneuronal amyloid immunoreactivity in guinea pig hippocampus. *Neurochem Int*, 1998; 33: 83-93.
- Strausak D, Mercer JF, Dieter HH, Stremmel W, Multhaup G. Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases. *Brain Res Bull*, 2001; 55:175-185.
- Suzuki T, Oishi M, Marshak DR, Czernik AJ, Nairn AC, Greengard P. Cell cycle-dependent regulation of the phosphorylation and metabolism of the Alzheimer amyloid precursor protein. *EMBO J*, 1994; 13:1114-1122.
- Tachida Y, Nakagawa K, Saito T, Saido TC, Honda T, Saito Y, Murayama S, Endo T, Sakaguchi G, Kato A, Kitazume S, Hashimoto Y. Interleukin-1 β up-regulates TACE to enhance α -cleavage of PPA in neurons: resulting decrease in A β production. *J Neurochem*, 2008; 104:1387-1393.
- Tamagno E, Parola M, Bardini P, Piccini A, Borghi R, Guglielmotto M, Santoro G, Davit A, Danni O, Smith MA, Perry G, Tabaton M. β -site PPA cleaving enzyme up-regulation induced by 4-hydroxynonenal is mediated by stress-activated protein kinases pathways. *J Neurochem*, 2005; 92:628-636.
- Tamagno E, Guglielmotto M, Aragno M, Borghi R, Autelli R, Giliberto L, Muraca G, Danni O, Zhu X, Smith MA, Perry G, Jo DG, Mattson MP, Tabaton M. Oxidative stress activates a positive feedback between the γ - and β -secretase cleavages of the β -amyloid precursor protein. *J Neurochem*, 2008; 104:683-695.
- Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, Bruns GAB, St George-Hyslop PH, Van Keuren ML, Patterson D, Pagan S, Kurnit DM, Neve RL. Amyloid β -protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science*, 1987; 235:880-884.
- Terry RD, Katzman R. Life span and synapses: will there be a primary senile dementia?. *Neurobiol Aging*, 2001; 22:347-348.
- Tong XK, Nicolakakis N, Kocharyan A, Hamel E. Vascular remodeling versus amyloid β -induced oxidative stress in the cerebrovascular dysfunctions associated with Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2005; 25:11165-11174.
- Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Khan S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Joroszinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M. β -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, 1999; 286: 735-741.
- Vigo-Pelfrey C, Lee D, Keim P, Leiberburg I, Schenk DB. Characterization of β -amyloid peptide from human cerebrospinal fluid. *J Neurochem*, 1993; 61:1965-1968.

- Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron*, 2004; 44:181-193.
- Wang HW, Pasternak JF, Kuo H, Ristic H, Lambert MP, Chromy B, Viola KL, Klein WL, Stine WB, Krafft GA, Trommer BL. Soluble oligomers of β amyloid (1-42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. *Brain Res*, 2002; 924:133-140.
- Wang Q, Walsh DM, Rowan MJ, Selkoe DJ, Anwyl R. Block of long-term potentiation by naturally secreted and synthetic amyloid β -peptide in hippocampal slices is mediated via activation of the kinases c-Jun N-terminal kinase, cyclin-dependent kinase 5, and p38 mitogen-activated protein kinase as well as metabotropic glutamate receptor type 5. *J Neurosci*, 2004; 24:3370-3378.
- Wen C, Metzstein MM, Greenwald I. SUP-17, a *Caenorhabditis elegans* ADAM protein related to *Drosophila* KUZBANIAN, and its role in LIN-12/NOTCH signalling. *Development*, 1997; 124:4759-4767.
- White AR, Multhaup G, Maher F, Bellingham S, Camakaris J, Zheng H, Bush AI, Beyreuther K, Masters CL, Cappai R. The Alzheimer's disease amyloid precursor protein modulates copper-induced toxicity and oxidative stress in primary neuronal cultures. *J Neurosci*, 1999; 19:9170-9179.
- Yan R, Bienkowski MJ, Shuck ME, Miao H, Tory MC, Pauley AM, Brashier JR, Stratman NC, Mathews WR, Buhl AE, Carter DB, Tomasselli AG, Parodi LA, Heinrichson RL, Gurney ME. Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease beta-secretase activity. *Nature*, 1999; 402:533-537.
- Yang LB, Lindholm K, Yan R, Citron M, Xia W, Yang XL, Beach T, Sue L, Wong P, Price D, Li R, Shen Y. Elevated β -secretase expression and enzymatic activity detected in sporadic Alzheimer disease. *Nat Med*, 2003; 9:3-4.
- Yankner BA. Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron*, 1996; 16:921-932
- Yu G, Nishimura M, Arawaka S, Levitan D, Zhang L, Tandon A, Song YQ, Rogaeva E, Chen F, Kawarai T, Supala A, Levesque L, Yu H, Yang DS, Holmes E, Milman P, Liang Y, Zhang DM, Xu DH, Sato C, Rogaev E, Smith M, Janus C, Zhang Y, Aebersold R, Farrer LS, Sorbi S, Bruni A, Fraser P, St George-Hyslop P. Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and bAPP processing. *Nature*, 2000; 407:48-54.

11 La enfermedad de Alzheimer: implicación del calcio

*Ester Verdaguer,¹ Fèlix Junyent,^{2,3} Aurelio Vázquez de la Torre,² Sergi Bayod,²
Jaume Folch³ y Carmé Auladell¹*

Resumen

La enfermedad de Alzheimer es un trastorno relacionado con la edad, caracterizado por una disfunción progresiva y alteraciones emocionales debido a la disfunción y degeneración de neuronas en la región cortical y límbica del cerebro. En estas regiones afectadas del cerebro aparece la formación de depósitos extracelulares de β -amiloide insoluble (placas) y agregados intracelulares de la proteína Tau del citoesqueleto en forma de ovillos neurofibrilares. En la enfermedad de Alzheimer se ha descrito que el aumento en los niveles de estrés oxidativo y la disrupción de la homeostasis del calcio juegan un papel importante en la disfunción sináptica y la muerte neuronal. Relacionado con mantener unas concentraciones de calcio adecuadas, encontramos las proteínas de unión al calcio, calbindina, calretinina y paralbúmina, las cuales actúan como tamponadoras de la concentración de calcio intracelular y su expresión está alterada en la EA. Una reducción en los niveles de expresión de estas proteínas podría conducir a la muerte neuronal debido a un fallo en el tamponamiento de las altas concentraciones de calcio intracelular que tienen lugar en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Así pues, es de interés el estudio de proteínas unidas a calcio por su posible efecto neuroprotector.

¹ Departamento de Biología Celular, Facultad de biología, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

² Unidad de Farmacología y Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona, CIBERNED, Barcelona, España.

³ Unitat de Bioquímica, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona, España.

Enfermedad de Alzheimer

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una demencia senil de tipo severo. Actualmente afecta a una gran proporción mundial de personas de edad avanzada. Se caracteriza por un progresivo empeoramiento de la función cognitiva y alteraciones emocionales, causando una pérdida de memoria e incapacidad para formar nuevas memorias. El proceso de la enfermedad implica la degeneración de las neuronas y de las sinapsis en regiones del cerebro que tienen un papel fundamental en el aprendizaje y la memoria, como son la corteza cerebral y el sistema límbico, en ellas cabe destacar la corteza entorrinal y el hipocampo (figura 1).

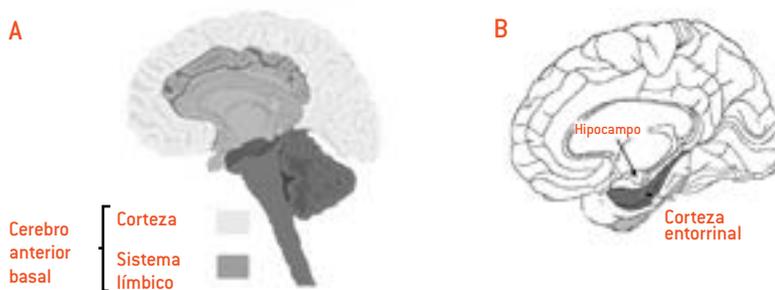


FIGURA 1. Áreas implicadas en aprendizaje y memoria. A) Cerebro anterior basal y el sistema límbico. B) Detalle del hipocampo y la corteza entorrinal.

El mayor factor de riesgo de la EA es la edad avanzada. En la más común forma esporádica de EA, los primeros síntomas que se manifiestan aparecen entre los 70 y 80 años de edad. Pero, aunque algunos tengan heredada la mutación que causa la enfermedad en el precursor de la proteína de β -amiloide (APP) o en una de las presenilinas (PS1 y PS2), también se mantienen asintomáticos hasta alcanzar los 40 o 50 años de edad (Hardy J., 2006).

Los marcadores patológicos de la EA son la presencia de numerosos depósitos extracelulares, conocidos como placas seniles (agregados de β -amiloide), y los ovillos neurofibrilares (filamentos intracelulares agregados de microtúbulos

asociados a la proteína Tau). Aunque la causa precisa de la EA aún no se conoce, una de las causas mayoritarias de muerte neuronal en pacientes de la EA es la oligomerización de la proteína β -amiloide y la consecuente neurodegeneración (Hardy J. *et al.*, 2002; Wirths O. *et al.*, 2004).

Actualmente se conoce que la proteína de β -amiloide provoca la formación de especies reactivas de oxígeno, la inducción de citocinas, estrés del retículo endoplasmático y un incremento en los niveles intracelulares de calcio (Small DH. *et al.*, 2001). En un principio se correlacionaron las placas de β -amiloide con la pérdida cognitiva (Roth M. *et al.*, 1996), aunque en estudios posteriores se sugirió que era el número de ovillos neurofibrilares, y la pérdida de las sinapsis de los pacientes de EA, los responsables de la disminución cognitiva, ya que los índices del test de cognición eran más cercanos a los obtenidos en individuos con demencia (Terry RD. *et al.*, 1991).

Formación de la proteína de β -amiloide

La proteína β -amiloide es un péptido de 39-42 aminoácidos. Éste es secretado mediante las β -secretasas (β -site APP cleaving enzyme; BACE) por la rotura de la parte N-terminal del precursor de la proteína de amiloide (APP), proteína integrada en la membrana e implicada en transducción de señales. La escisión de APP a través de α o β -secretasas forma la parte C-terminal de la proteína amiloide, el resto permanecerá anclado en la membrana donde por acción de la γ -secretasa se escindirán su dominio transmembrana, donde la presenilina es un componente crucial (Thinakaran G. *et al.*, 2008). Así pues, una de las mayores alteraciones en los enfermos de Alzheimer, y también en algunos modelos experimentales de EA, es la alteración en el proceso proteolítico de la APP, la cual implica la formación en exceso de las formas 40 y 42 de β -amiloide, particularmente ésta última tiende a formar más agregaciones y es más tóxica para las neuronas que el fragmento de 40 aminoácidos (Mattson MP. *et al.*, 1997). Además, se ha observado que la ruptura de APP en la mitad de la secuencia de β -amiloide por α -secretasas está disminuida llevando a una disminución en la producción de la forma secretada de APP (sAPP), la cual juega un papel importante en la regulación de la plasticidad sináptica y supervivencia neuronal. La causa o causas por las cuales se produce una alteración en el procesamiento de APP en los casos esporádicos de EA no están claras, pero se cree que puede tener un papel importante el aumento de

los niveles de calcio intracelular. En cultivos de células expuestas a estímulos que provocan una entrada masiva de calcio intracelular, se observó una mayor producción de β -amiloide (Querfurth HW. *et al.*, 1994), así como mutaciones en la presenilina 1 (PS1) también provocaba alteraciones en la homeostasis del calcio e incrementaba la producción de β -amiloide (Guo Q. *et al.*, 1996; Guo Q. *et al.*, 1999). El aumento en la producción y agregación de las formas neurotóxicas de β -amiloide causa degeneración y muerte neuronal a través de procesos de excitotoxicidad y apoptosis (Mattson MP. *et al.*, 2000).

El proceso de agregación de la proteína de β -amiloide tiene lugar a través de la agregación de los diferentes estados de péptidos amiloides que pueden ir desde pequeñas especies oligoméricas solubles, entre 2 y 50 péptidos, hasta agregados filamentosos insolubles, a partir de los cuales se formarán las placas de β -amiloide (Demuro A. *et al.*, 2010; Roychoudhuri R. *et al.*, 2009).

La forma monomérica de β -amiloide (1-40 o 1-42) se considera no tóxica o incluso protectora y no provoca una masiva entrada de calcio intracelular en experimentos realizados *in vitro* (Demuro A. *et al.*, 2005.; Kaye R. *et al.*, 2004.; Giuffrida ML. *et al.*, 2009). Los agregados intermediarios que darán lugar a los pequeños oligómeros se forman a partir de unas 50 subunidades de β -amiloide. Estos agregados de bajo peso molecular se han encontrado tanto *in vitro*, en el medio celular donde las células secretan β -amiloide (Xia W. *et al.* 1997), así como en extractos de cerebro humano (Shankar GM. *et al.*, 2008.; Kuo YM. *et al.*, 1996). Los pequeños agregados se han descrito como las formas de β -amiloide que provocan más toxicidad y las que más alteran la homeostasis del calcio (Kaye R. *et al.*, 2003.; Demuro A. *et al.*, 2005.; Deshpande A. *et al.*, 2006). En los pacientes con EA, en el estadio final de la agregación de los péptidos de β -amiloide aparecen las placas de amiloide. Aunque las placas son un marcador de la EA, su densidad no está bien correlacionada con el grado de pérdida neuronal o cognitiva (Goldman WP. *et al.*, 2001). Por otra parte, se ha sugerido que las placas pueden contribuir a la eliminación e inactivación de las pequeñas especies solubles tóxicas (Shankar GM. *et al.*, 2008.; Lansbury PT Jr. 1999), promoviendo un efecto potencialmente neuroprotector a las placas de β -amiloide insolubles, particularmente en estadios tempranos de la enfermedad.

Homeostasis del calcio en la enfermedad de Alzheimer

Excitotoxicidad y formación de EROS

En los procesos de agregación de β -amiloide se genera peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo mediante reacciones químicas que precisan iones Cu^+ o Fe^{2+} . La producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) induce peroxidación lipídica de la membrana y puede afectar a la funcionalidad de las ATPasas de $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{Ca}^{2+}$, así como a transportadores del glutamato y la glucosa provocando una despolarización de la membrana y una disminución de los niveles celulares de ATP (Mark RJ. *et al.*, 1995,1997). Este efecto provoca una entrada masiva de calcio debido a la continua activación de los receptores del glutamato, dando lugar así a un proceso excitotóxico (Mattson MP. *et al.*, 1992, 2003).

Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica provocada por β -amiloide altera la homeostasis del calcio por la formación del aldehído 4-hidroxi-2,3-noneal (HNE) generado por la peroxidación de los ácidos grasos de la membrana. Análisis realizados con pacientes de Alzheimer demostraron que los niveles de peroxidación lipídica y HNE eran elevados en neuronas asociadas a depósitos de β -amiloide y también en el líquido cerebroespinal (Lovell WD *et al.*, 1997.; Sayre LM *et al.*, 1997).

Una de las proteínas modificadas por HNE en la EA es la proteína Tau, además, el HNE podría intervenir en el efecto que ejercen niveles subtóxicos de proteína β -amiloide sobre la función sináptica, como el que provoca sobre los receptores muscarínicos de acetilcolina en neuronas corticales, provocando una respuesta atenuada de calcio a los agonistas colinérgicos. El β -amiloide también podría contribuir al empeoramiento cognitivo en la EA ya que una infusión de HNE o Fe^{2+} en el cerebro anterior de ratas adultas, altera la señal colinérgica y afecta el aprendizaje (Bruce-Keller AJ. *et al.*, 1998).

Permeabilidad de la membrana al calcio

Uno de los principales mecanismos por el cual el β -amiloide altera la homeostasis del calcio celular es la alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática

al calcio. El tratamiento de células en cultivo con β -amiloide, desencadena una entrada de calcio a través de la membrana plasmática. Aunque no se conoce aún el mecanismo exacto por el cual el β -amiloide interacciona con la membrana celular, se han propuesto tres posibles vías:

- La interacción con canales endógenos permeables al calcio.
- Alteración de la integridad de la membrana lipídica.
- Formación de canales permeables al calcio a través del β -amiloide.

Interacción con canales permeables al calcio

El β -amiloide puede interactuar con distintos canales endógenos permeables al calcio como: canales de calcio voltaje dependientes, canales nicotínicos, receptores del glutamato (AMPA y NMDA), receptores de dopamina, receptores de serotonina y receptores del inositol trifosfato intracelular (IP3Rs). Todos estos receptores son permeables al calcio y se expresan en áreas del cerebro con elevada función cognitiva como en el neocórtex y el hipocampo (Terry AV Jr. *et al.*, 2003). Cabe destacar que se ha demostrado que el β -amiloide se une con alta afinidad a los receptores de acetilcolina (α_7 y $\alpha_4\beta_2$ nAChRs) en las membranas sinápticas de hipocampo y la corteza, hecho que sugiere que la acumulación de β -amiloide en las sinapsis colinérgicas podría promover la formación de complejos A β -(α_7 nAChRs) que darían lugar a la formación de las placas de β -amiloide (Wang HY *et al.*, 2000). Resultados semejantes se han descrito para el sistema glutamatérgico. Los receptores de NMDA son muy permeables al calcio y —como ya hemos comentado— se localizan en regiones del cerebro donde la función neuronal se encuentra afectada por el β -amiloide, además de ser los principales receptores implicados en excitotoxicidad. El β -amiloide desencadena una entrada de calcio a través de los receptores NMDA, los cuales alteran la transmisión neuronal. En áreas como el hipocampo una alteración en la neurotransmisión puede afectar gravemente a los mecanismos de aprendizaje y memoria (Li S. *et al.*, 2009). Otra fuente de entrada de calcio citosólico es a través de canales de calcio voltaje dependientes. El β -amiloide puede provocar un aumento en la conductancia de los canales N, T y L causando un incremento de la respuesta postsináptica del calcio. Por el contrario, en canales presinápticos de tipo P/Q, oligómeros de β -amiloide los suprimirían, los cuales sirven para reducir la liberación de las vesículas sinápticas, la plasticidad y neurotransmisión (Nimmrich V. *et al.*, 2008).

Alteración de la integridad de la membrana lipídica

El β -amiloide puede interactuar con lípidos de membrana como fosfoinosítidos, fosfatidilglicerol, fosfatidilcolina y gangliósidos. Estudios experimentales mediante técnicas fluorescentes de espectroscopia indicaron que la interacción de β -amiloide con la sinapsis de la membrana plasmática producía un cambio de fluidez debido al efecto de los péptidos de β -amiloide al incrementar la permeabilidad de la membrana para los iones Ca^{2+} , Na^+ y K^+ (Müller WE *et al.*, 1995.; McLaurin J. *et al.*, 1996). Aunque hay estudios con resultados contrarios en los cuales se ha descrito tanto un incremento, una disminución o incluso no efecto del β -amiloide sobre la fluidez de la membrana lipídica (Avdulov NA *et al.*, 1997.; Kremer JJ *et al.*, 2000.; Mingeot-Leclercq MP *et al.*, 2002).

Formación de canales permeables al calcio a través del β -amiloide

El mecanismo fundamental por el cual el β -amiloide provoca neurotoxicidad está aún por descubrirse, pero Arispe y colaboradores demostraron una incorporación directa de β -amiloide (1-40) en la membrana artificial bilipídica para formar canales iónicos selectivos de cationes, incluyendo el Ca^{2+} . Así pues, se describió un mecanismo distinto en el cual el β -amiloide se incorporaba en el interior de la membrana celular y la reorganizaba para la formación de poros catiónicos no selectivos de alta conductancia (Arispe N. *et al.*, 1993., Quist A. *et al.*, 2005).

Presenilina y la homeostasis del calcio

La presenilina 1 y 2 (PS1 y PS2) son proteínas integradas en la membrana y se expresan en diferentes tipos celulares entre ellos en el cerebro, donde las neuronas contienen niveles elevados de éstas. Su implicación en la EA es debido a que se encontraron mutaciones de estas proteínas en casos al inicio del Alzheimer familiar dominante autosomal (FAD). Se han descrito muchos más casos de mutaciones de PS1 que no de PS2. Algunos estudios han relacionado la mutación de PS1 con la disregulación de la homeostasis del calcio. PS1 se encuentra en altos niveles en el retículo endoplasmático, éste constituye un gran reservorio de calcio que será liberado a través de los receptores de IP3. Mutaciones de la proteína PS1 se han relacionado con los estadios tempranos de la progresión de EA,

antes de la formación de las placas de β -amiloide, los ovillos neurofibrilares o el daño cognitivo (Berridge MJ. *et al.*, 2009). Estudios en neuronas de hipocampo de ratones *knock in* para PS1 confirmaron que la mutación de PS1 provocaba una alteración en la regulación del calcio del RE, además demostraron que provocaba un aumento en la vulnerabilidad de las neuronas frente a procesos excitotóxicos y apoptóticos (Guo Q. *et al.*, 1999).

Proteínas de unión al calcio en la enfermedad de Alzheimer

La EA es una patología compleja e implica una gran cantidad de alteraciones moleculares, celulares y fisiológicas. Ya hemos comentado que la alteración de la homeostasis del calcio desempeña un papel muy importante en la EA y uno de los componentes implicados en la regulación de ésta homeostasis son las proteínas de unión al calcio. Estas proteínas actúan tamponando la concentración de calcio intracelular (Blaustein MP, 1998). Una disminución de sus niveles de expresión provocaría la muerte neuronal en la EA debido a no poder mantener las concentraciones adecuadas de calcio intracelulares. Por lo anterior, estas proteínas podrían tener un papel neuroprotector en la EA (Hof PR. *et al.*, 1999).

Las proteínas calbindina, calretinina y parvalbúmina, se han utilizado no sólo como marcadores en estudios anatómicos y de desarrollo, sino también como marcadores de regiones del cerebro con una resistencia neuronal específica a la degeneración en la EA. Existen discrepancias entre los diferentes estudios sobre la localización y la expresión de estas proteínas, que dependen básicamente de la región del cerebro de la cual se ha obtenido la muestra, la variabilidad entre los métodos utilizados para la cuantificación y la variabilidad en la severidad de la enfermedad.

Las proteínas de unión al calcio son una familia de 240 proteínas en las cuales se incluyen la calbindina, calretinina y parvalbúmina. La proteína calbindina recibió este nombre por su capacidad de unión al calcio y su expresión dependiente de vitamina D. La calretinina fue la última de las tres proteínas de unión al calcio que se caracterizó y recibió este nombre porque su primera caracterización fue en la retina. La parvalbúmina fue la primera que se caracterizó y recibió este nombre por su parecido en tamaño y solubilidad con la albúmina. Hay evidencias que indican que cada una de estas proteínas de unión al calcio ejerce efectos específicos durante los diferentes estadios de la señalización del calcio y son expresadas diferencialmente entre subpoblaciones de células (Mojumder DK *et al.*, 2008).

Hay numerosos estudios que relacionan estas proteínas con la EA. Anteriormente ya hemos comentado que la acumulación de β -amiloide provocaba una desregulación del calcio y éste se relacionaba con las mutaciones en el gen de PS1. Estudios experimentales *in vitro* de LTP (*Long Term Potentiation*) en un modelo de EA, en cortes de hipocampo de ratones transgénicos para PS1-M146V, se observó que la mutación de PS1 intensificaba el LTP y provocaba un empeoramiento de la función cognitiva en estos animales. Estos resultados se relacionaron con un incremento en los niveles de expresión de calbindina en la región CA1 del hipocampo de los ratones transgénicos PS1-M146V (Oldero GL *et al.*, 2010). En estudios donde se utilizaron ratones *knock out* para calbindina demostraron un empeoramiento en LTP causado por un incremento intracelular de calcio debido a la falta de calbindina (Jouveneau A *et al.*, 2002). La sobreexpresión de calbindina en ratones transgénicos APP/PS1 estabilizó los niveles intracelulares de calcio y fue capaz de prevenir la apoptosis inducida por PS1 (Guo Q. *et al.*, 1998). Por otra parte, en estudios donde se evaluó el efecto de la sobreexpresión de calbindina se observó que también se producían alteraciones en LTP y un daño en la memoria espacial, hecho que sugería que existen rangos de concentraciones homeostáticas para el calcio donde la función de la calbindina se mantiene óptima (Dumas TC. *et al.*, 2004). Así pues, un tamponamiento del calcio inadecuado podría conducir a un incremento intracelular de calcio llevando a la activación de vías apoptóticas y excitotoxicidad, como se demostró en estudios *in vitro* de células con la PS1 mutada. El hecho de que en algunos estudios en modelos de EA se haya descrito un aumento de los niveles de expresión de calbindina y en otros una disminución, podría explicarse porque la expresión de calbindina varía con la edad y/o como una consecuencia de la progresión de la enfermedad.

También se ha demostrado que la proteína calretinina está implicada en la EA. En un modelo de EA con ratones transgénicos para APP/PS1 se observó una pérdida neuronal, a los 6 meses de edad, en el córtex entorrinal debido a un incremento de los niveles extracelulares, no intracelulares, de β -amiloide. Esta avanzada neurodegeneración fue previa a la observada en hipocampo a los 18 meses, como se describió también en pacientes de EA. Además ambas áreas en estos animales transgénicos mostraron una temprana reducción de las interneuronas SOM/NPY (somatostatina/neuropéptido Y) del sistema gabaérgico igual como ocurre en cerebros de pacientes con la EA. En pacientes de EA con la enfermedad avanzada se observó una disminución en la expresión de calretinina en

la corteza entorrinal. En cambio, se ha observado la presencia de neuritas distróficas positivas para calretinina en el hipocampo de pacientes con EA, aunque el número de células con calretinina parece mantenerse (Brion JP *et al.*, 1994.; Milloneen M *et al.*, 1999). Baglietto-Vargas y colaboradores fueron los primeros en demostrar que las interneuronas positivas para calretinina del hipocampo son preferencialmente dianas tempranas en un modelo transgénico de EA. La pérdida de neuronas puede ser inducida por el inicio de la formación de los depósitos de β -amiloide y la inducción de la patología axonal, aunque el mecanismo molecular exacto responsable de esta neurodegeneración selectiva aún está por descubrirse (Baglietto-Vargas D. *et al.*, 2010)

En un estudio realizado en la corteza entorrinal de pacientes de EA, se demostró una pérdida de neuronas inmunorreactivas para parvalbúmina en pacientes de la EA con una patología moderada. En cambio, se demostró que quedaron protegidas la neuronas calretinina positivas en los mismos casos de pacientes que sí mostraron una destrucción de las neuronas positivas para parvalbúmina, sólo se observó una reducción de calretinina en casos ya avanzados de EA. También, preparaciones inmunohistoquímicas para calbindina revelaron cambios morfológicos que indicaban que se estaban llevando a cabo procesos degenerativos incluso en estadios tempranos de la enfermedad, como se observó también para la parvalbúmina. Así pues, calbindina y parvalbúmina parecen ser más vulnerables en la patología entorrinal de la EA que no calretinina. Las proteínas de unión al calcio en las neuronas raramente se ha encontrado que contengan ovillos neurofibrilares. Mikkonen y colaboradores demostraron que en áreas del cerebro con alta vulnerabilidad en la corteza entorrinal las neuronas eran diferencialmente vulnerables en la EA dependiendo de cuál era la proteína de unión al calcio que expresaban. También se observaron diferencias en la expresión de las proteínas de unión al calcio en la región del giro dentado en ratones transgénicos para APP/PS1. En este caso se observó que la expresión de β -amiloide afecta diferencialmente a las distintas proteínas de unión al calcio dependiendo de la capa del giro dentado estudiada. Popovic y colaboradores demostraron que la inmunorreactividad para calbindina está más afectada en comparación con parvalbúmina o calretinina. Parece ser que calretinina y parvalbúmina son más resistentes a la toxicidad del β -amiloide. Estudios *in vitro* demostraron que las células positivas para parvalbúmina y calretinina eran resistentes a la toxicidad del β -amiloide y sólo las neuronas que sobreexpresaban calbindina podían contrarrestar el efecto

neurotóxico del β -amiloide. Los resultados sugieren que los niveles elevados de β -amiloide en estos animales anulan la capacidad de las neuronas que contienen proteínas de unión al calcio para compensar el daño provocado por el β -amiloide.

Discusión

Un incremento de los niveles de calcio está funcionalmente relacionado con los mayores factores de riesgo de la EA, como pueden ser mutaciones de las proteínas presenilina y APP, expresión de la ApoE4, mutaciones en CALHM1 (canal de calcio localizado en el RE), formación de placas de β -amiloide, hiperfosforilación de Tau, apoptosis y disfunción sináptica. El calcio puede facilitar la formación de placas de β -amiloide y en paralelo, el β -amiloide puede formar canales permeables al calcio, interfiere también con los canales de calcio ya existentes e incrementa la función de los receptores de calcio del RE (Shemer I *et al.*, 2006., Supnet C *et al.*, 2006). Además, las proteínas de unión al calcio pueden tener un papel importante en la enfermedad de EA, su expresión varía dependiendo del área del cerebro así como su vulnerabilidad en los diferentes estadios de la EA. Parece ser que las neuronas positivas para calbindina son más susceptibles que las positivas para parvalbúmina o calretinina, además es la que se ha relacionado más directamente con la mutación de PS1 en modelos de EA. Aunque aún hay resultados contradictorios sobre el papel neuroprotector de estas proteínas, algunos autores defienden un efecto protector frente a la toxicidad, mientras que otros describen no efecto o incluso un efecto perjudicial (D'Orlando C *et al.*, 2002). El calcio, a través de la activación de caspasas y calpaínas puede desencadenar la apoptosis, o viceversa. Así pues, la desregulación del calcio puede conllevar a la activación de diferentes procesos donde se producirá un acumulo de éste favoreciendo la formación de placas y ovillos neurofibrilares desencadenando la apoptosis vía RE, alteración mitocondrial, y provocando un daño en la funcionalidad de las sinapsis y de la membrana plasmática. Finalmente todos estos procesos culminarán en la pérdida de la memoria y un deterioro de las funciones cognitivas.

Referencias

- Arispe N, Pollard HB, Rojas E. Giant multilevel cation channels formed by Alzheimer disease amyloid beta-protein [A beta P-(1-40)] in bilayer membranes. 1993. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(22):10573-7.
- Avdulov NA, Chochina SV, Igbavboa U, Warden CS, Vassiliev AV, Wood WG. Lipid binding to amyloid beta-peptide aggregates: preferential binding of cholesterol as compared with phosphatidylcholine and fatty acids. 1997. *J Neurochem.* 69(4):1746-52.
- Baglietto-Vargas D, Moreno-Gonzalez I, Sanchez-Varo R, Jimenez S, Trujillo-Estrada L, Sánchez-Mejías E, Torres M, Romero-Acebal M, Ruano D, Vizuete M, Vitorica J, Gutiérrez A. Calretinin interneurons are early targets of extracellular amyloid-beta pathology in PS1/AbetaPP Alzheimer mice hippocampus. 2010. *J Alzheimers Dis.* 21(1):119-32.
- Berridge MJ. Calcium hypothesis of Alzheimer's disease. 2010. *Pflugers Arch.* 459(3):441-9. Review.
- Blaustein MP. Calcium transport and buffering in neurons. *Trends Neurosci.* 1988 (10):438-43. Review.
- Brion JP, Résibois A. A subset of calretinin-positive neurons are abnormal in Alzheimer's disease. 1994. *Acta Neuropathol.* 88(1):33-43.
- Bruce-Keller AJ, Li YJ, Lovell MA, Kraemer PJ, Gary DS, Brown RR, Markesbery WR, Mattson MP. 4-Hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, damages cholinergic neurons and impairs visuospatial memory in rats. 1998. *J Neuropathol Exp Neurol.* 57(3):257-67.
- Demuro A, Mina E, Kaye R, Milton SC, Parker I, Glabe CG. Calcium dysregulation and membrane disruption as a ubiquitous neurotoxic mechanism of soluble amyloid oligomers. 2005. *J Biol Chem.* 280(17):17294-300.
- Demuro A, Parker I, Stutzmann GE. Calcium signaling and amyloid toxicity in Alzheimer disease. 2010. *J Biol Chem.* ;285(17):12463-8. Review.
- Deshpande A, Mina E, Glabe C, Busciglio J. Different conformations of amyloid beta induce neurotoxicity by distinct mechanisms in human cortical neurons. 2006. *J Neurosci.* 26(22):6011-8.
- D'Orlando C, Celio MR, Schwaller B. Calretinin and calbindin D-28k, but not parvalbumin protect against glutamate-induced delayed excitotoxicity in transfected N18-RE 105 neuroblastoma-retina hybrid cells. 2002. *Brain Res.* 945(2):181-90.
- Dumas TC, Powers EC, Tarapore PE, Sapolsky RM. Overexpression of calbindin D(28k) in dentate gyrus granule cells alters mossy fiber presynaptic function and impairs hippocampal-dependent memory. 2004. *Hippocampus.* 14(6):701-9.

- Giuffrida ML, Caraci F, Pignataro B, Cataldo S, De Bona P, Bruno V, Molinaro G, Pappalardo G, Messina A, Palmigiano A, Garozzo D, Nicoletti F, Rizzarelli E, Copani A. Beta-amyloid monomers are neuroprotective. 2009. *J Neurosci*. 29(34):10582-7.
- Goldman WP, Price JL, Storandt M, Grant EA, McKeel DW Jr, Rubin EH, Morris JC. Absence of cognitive impairment or decline in preclinical Alzheimer's disease. 2001. *Neurology*. 56(3):361-7.
- Guo Q, Furukawa K, Sopher BL, Pham DG, Xie J, Robinson N, Martin GM, Mattson MP. Alzheimer's PS-1 mutation perturbs calcium homeostasis and sensitizes PC12 cells to death induced by amyloid beta-peptide. 1996. *Neuroreport*. 8(1):379-83.
- Guo Q, Christakos S, Robinson N, Mattson MP. Calbindin D28k blocks the proapoptotic actions of mutant presenilin 1: reduced oxidative stress and preserved mitochondrial function. 1998. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95(6):3227-32.
- Guo Q, Fu W, Sopher BL, Miller MW, Ware CB, Martin GM, Mattson MP. Increased vulnerability of hippocampal neurons to excitotoxic necrosis in presenilin-1 mutant knock-in mice. 1999. *Nat Med*. 5(1):101-6.
- Guo Q, Sebastian L, Sopher BL, Miller MW, Glazner GW, Ware CB, Martin GM, Mattson MP. Neurotrophic factors [activity-dependent neurotrophic factor (ADNF) and basic fibroblast growth factor (bFGF)] interrupt excitotoxic neurodegenerative cascades promoted by a PS1 mutation. 1999. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(7):4125-30.
- Hardy J. A hundred years of Alzheimer's disease research. 2006. *Neuron* 52: 3-13.
- Hardy J.; Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. 2002. *Science*. 297(5580): 353-356.
- Hof PR, Glezer II, Condé F, Flagg RA, Rubin MB, Nimchinsky EA, Vogt Weisenhorn DM. Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: phylogenetic and developmental patterns. 1999. *J Chem Neuroanat*. (2):77-116. Review.
- Jouvenceau A, Potier B, Poindessous-Jazat F, Dutar P, Slama A, Epelbaum J, Billard JM. Decrease in calbindin content significantly alters LTP but not NMDA receptor and calcium channel properties. 2002. *Neuropharmacology*. 42(4):444-58.
- Kayed R, Head E, Thompson JL, McIntire TM, Milton SC, Cotman CW, Glabe CG. Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. 2003. *Science*. 300(5618):486-9.
- Kayed R, Sokolov Y, Edmonds B, McIntire TM, Milton SC, Hall JE, Glabe CG. Permeabilization of lipid bilayers is a common conformation-dependent activity of soluble amyloid oligomers in protein misfolding diseases. 2004. *J Biol Chem*. 279(45):46363-6.

- Kremer JJ, Pallitto MM, Sklansky DJ, Murphy RM. Correlation of beta-amyloid aggregate size and hydrophobicity with decreased bilayer fluidity of model membranes. 2000. *Biochemistry*. 39(33):10309-18.
- Kuo YM, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, Ball MJ, Roher AE. Water-soluble A β (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. 1996. *J Biol Chem*. 271(8):4077-81.
- Lansbury PT Jr. Evolution of amyloid: what normal protein folding may tell us about fibrillogenesis and disease. 1999. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(7):3342-4. Review.
- Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D. Soluble oligomers of amyloid β protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. 2009. *Neuron*. 62(6):788-801.
- Lovell MA, Ehmann WD, Mattson MP, Markesbery WR. Elevated 4-hydroxynonenal in ventricular fluid in Alzheimer's disease. 1997. *Neurobiol Aging*. 18(5):457-61.
- Mark RJ, Hensley K, Butterfield DA, Mattson MP. Amyloid β -peptide impairs ion-motive ATPase activities: evidence for a role in loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis and cell death. 1995. *J Neurosci*. 15(9):6239-49.
- Mark RJ, Pang Z, Geddes JW, Uchida K, Mattson MP. Amyloid β -peptide impairs glucose transport in hippocampal and cortical neurons: involvement of membrane lipid peroxidation. 1997. *J Neurosci*. 17(3):1046-54.
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE. β -Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. 1992. *J Neurosci*. 12(2):376-89.
- Mattson MP. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. 1997. *Physiol Rev*. 77(4):1081-132. Review.
- Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders. 2000. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 1(2):120-9. Review.
- Mattson MP, Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. 2003. *Cell Calcium*. 34(4-5):385-97. Review.
- McLaurin J, Chakrabartty A. Membrane disruption by Alzheimer β -amyloid peptides mediated through specific binding to either phospholipids or gangliosides. Implications for neurotoxicity. 1996. *J Biol Chem*. 271(43):26482-9.
- Mikkonen M, Soininen H, Pitkänen A. Distribution of parvalbumin-, calretinin-, and calbindin-D28k-immunoreactive neurons and fibers in the human entorhinal cortex. 1997. *J Comp Neurol*. 388(1):64-88.
- Mikkonen M, Alafuzoff I, Tapiola T, Soininen H, Miettinen R. Subfield- and layer-specific changes in parvalbumin, calretinin and calbindin-D28K immunoreactivity in the entorhinal cortex in Alzheimer's disease. 1999. *Neuroscience*. 92(2):515-32.

- Mingeot-Leclercq MP, Lins L, Bensliman M, Van Bambeke F, Van Der Smissen P, Peuvot J, Schanck A, Bresseur R. Membrane destabilization induced by beta-amyloid peptide 29-42: importance of the amino-terminus. 2002. *Chem Phys Lipids*. 120(1-2):57-74.
- Mojumder DK, Wensel TG, Frishman LJ. Subcellular compartmentalization of two calcium binding proteins, calretinin and calbindin-28 kDa, in ganglion and amacrine cells of the rat retina. 2008 *Mol Vis*. 14:1600-13.
- Müller WE, Koch S, Eckert A, Hartmann H, Scheuer K. beta-Amyloid peptide decreases membrane fluidity. 1995. *Brain Res*. 674(1):133-6.
- Nimmrich V, Grimm C, Draguhn A, Barghorn S, Lehmann A, Schoemaker H, Hillen H, Gross G, Ebert U, Bruehl C. Amyloid beta oligomers (A beta(1-42) globulomer) suppress spontaneous synaptic activity by inhibition of P/Q-type calcium currents. 2008. *J Neurosci*. 28(4):788-97.
- Odero GL, Oikawa K, Glazner KA, Schapansky J, Grossman D, Thiessen JD, Motnenko A, Ge N, Martin M, Glazner GW, Albensi BC. Evidence for the involvement of calbindin D28k in the presenilin 1 model of Alzheimer's disease. 2010 *Neuroscience*. 169(1):532-43.
- Querfurth HW, Selkoe DJ. Calcium ionophore increases amyloid beta peptide production by cultured cells. 1994. *Biochemistry*. 33(15):4550-61.
- Quist A, Doudevski I, Lin H, Azimova R, Ng D, Frangione B, Kagan B, Ghiso J, Lal R. Amyloid ion channels: a common structural link for protein-misfolding disease. 2005. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102(30):10427-32.
- Roth M, Tomlinson BE, Blessed G. 1966. Correlation between scores for dementia and counts of 'senile plaques' in cerebral gray matter of elderly subjects. *Nature* 209:109-10.
- Roychaudhuri R, Yang M, Hoshi MM, Teplow DB. Amyloid beta-protein assembly and Alzheimer disease. 2009. *J Biol Chem*. 284(8):4749-53.
- Sayre LM, Zelasko DA, Harris PL, Perry G, Salomon RG, Smith MA. 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease. 1997. *J Neurochem*. 68(5):2092-7.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM, Walsh DM, Sabatini BL, Selkoe DJ. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. 2008. *Nat Med*. 14(8):837-42.
- Shemer I, Holmgren C, Min R, Fülöp L, Zilberter M, Sousa KM, Farkas T, Härtig W, Penke B, Burnashev N, Tanila H, Zilberter Y, Harkany T. Non-fibrillar beta-amyloid abates spike-timing-dependent synaptic potentiation at excitatory synapses in layer 2/3 of the neocortex by targeting postsynaptic AMPA receptors. 2006. *Eur J Neurosci* (8):2035-47.

- Small DH.; Mok SS.; Bornstein JC. Alzheimer's disease and Ab toxicity: from top to bottom. 2001. *Nature Rev. Neurosc.* 2(8):595-98.
- Supnet C, Grant J, Kong H, Westaway D, Mayne M. Amyloid-beta-(1-42) increases ryanodine receptor-3 expression and function in neurons of TgCRND8 mice. 2006 *J Biol Chem.* 281(50):38440-7.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, *et al.* 1991. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 30:572-80.
- Terry AV Jr, Buccafusco JJ. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. 2003. *J Pharmacol Exp Ther.* 306(3):821-7.
- Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. 2008. *J Biol Chem.* 283(44):29615-9. Review.
- Xia W, Zhang J, Kholodenko D, Citron M, Podlisny MB, Teplow DB, Haass C, Seubert P, Koo EH, Selkoe DJ. Enhanced production and oligomerization of the 42-residue amyloid beta-protein by Chinese hamster ovary cells stably expressing mutant presenilins. 1997. *J Biol Chem.* 272(12):7977-82.
- Wang HY, Lee DH, D'Andrea MR, Peterson PA, Shank RP, Reitz AB. beta-Amyloid(1-42) binds to alpha7 nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology. 2000. *J Biol Chem.* 275(8):5626-32.
- Wirhth O.; Multhaup G.; Bayer TA. A modified beta-amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide- the first step of a fatal cascade. 2004. *J. Neurochem.* 91(3):513-20.

12 Enfermedad de Alzheimer: implicación de la vía JNK

*Fèlix Junyent,^{1,2} Luisa de Lemos,¹ Andrea Vilar,³ Isidre Ferrer,⁴ Ester Verdaguer,³
Rafael Romero,⁵ Carlos Beas Zárate^{6,7} y Carme Auladell³*

Resumen

La enfermedad de Alzheimer es una de las patologías neurodegenerativas relacionada con el envejecimiento más frecuentes en la población. Su incidencia es más elevada en los países desarrollados, donde la esperanza de vida es mayor. En los últimos años la comunidad científica ha aportado mucha información sobre esta enfermedad. No obstante, aún no se conocen los mecanismos concretos que llevan a su iniciación y progresión. Cabe destacar que actualmente no existe ningún tratamiento eficaz, hecho que indica que es necesario continuar con la investigación de los mecanismos responsables de la muerte neuronal en esta patología para poder desarrollar estrategias terapéuticas eficaces. En este capítulo se presentan los posibles mecanismos de muerte neuronal que se han descrito hasta la actualidad en la enfermedad de Alzheimer. Además, se propone como posible mecanismo la vía de JNK, cuya importancia se ha obser-

¹ Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia, Facultat de Farmàcia, Institut de Biomedicina (IBUB), Centros de Investigació Biomèdica en Red de Enfermedades Neurodegeneratives (CIBERNED), Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

² Unitat de Bioquímica, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona, España; CIBERNED.

³ Departament de Biologia Celular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

⁴ Servei Anatomia Patològica, Institut de Neuropatologia, CIBERNED, IDIBELL-Hospital Universitari de Bellvitge, Universitat de Barcelona, Hospitalet de Llobregat, España.

⁵ Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

⁶ Laboratorio de Desarrollo y Regeneración Neural, Instituto de Neurobiología, Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

⁷ Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, División de Neurociencias, CIBO, IMSS, México.

vado en otras patologías neurodegenerativas. Así, se plantea esta vía como posible diana terapéutica, aunque aún es necesario investigar cuál es su papel en la iniciación y progresión de la enfermedad de Alzheimer.

Enfermedad de Alzheimer y posibles mecanismos implicados

La enfermedad de Alzheimer (EA) es uno de los trastornos neurodegenerativos más frecuente. En las personas mayores de 65 años es la quinta causa de muerte. La EA es una enfermedad que conlleva el deterioro cognitivo del paciente y su muerte entre los cuatro y diez años después de su diagnóstico (Maccioni 2001; Middleton *et al.*, 2009). Se estima que 26.6 millones de personas están afectadas por esta enfermedad, y que en los próximos 40 años el número de afectados se incrementará cuatro veces (Herrup 2010; Bertram *et al.*, 2010). Por ese motivo es necesario investigar los mecanismos moleculares de la enfermedad de Alzheimer con el fin de desarrollar estrategias terapéuticas eficientes.

Una de las hipótesis principales sobre la patogénesis en la EA se basa en los efectos tóxicos de las placas de β -amiloide que se forman en el cerebro de los pacientes (Medina 2011). El péptido β -amiloide se produce a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora del péptido β -amiloide (APP), y en concreto el incremento de fragmentos β -(1-42) podría ser clave en las fases iniciales de la EA (Badiola *et al.*, 2010; Castellani *et al.*, 2010). Así, la enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la presencia de niveles elevados de péptido β -amiloide en el cerebro, los cuales se asocian con toxicidad vascular y neuronal. Además, también ocurre una hiperfosforilación de tau, proteína asociada a los microtúbulos y los neurofilamentos H/M, generándose una alteración y acumulación anómala de estas proteínas denominada ovillos neurofibrilares (Dolan and Johnson, 2010; Maccioni *et al.*, 2010).

Por otro lado, también es conocido que los procesos de neuroinflamación y de estrés oxidativo están involucrados en el daño neuronal y la progresión de la enfermedad (Bonda *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2010; Cole and Frautschy, 2010).

En la última década se ha tenido un gran avance en el conocimiento de la patofisiología de la enfermedad de Alzheimer familiar, causada por mutaciones en tres genes: APP, presenilina-1 y presenilina-2 (Howe 2010; Sperling *et al.*, 2010). Mutaciones en estos genes inducen la acumulación de péptidos β -amiloide en

regiones cerebrales importantes en los procesos de memoria y aprendizaje. Los péptidos β -amiloide son un grupo heterogéneo de fragmentos proteicos generados por la fragmentación proteolítica de la proteína APP (Li *et al.*, 2010; Takeda, 2010).

Diferentes investigaciones indican que los péptidos β -amiloide libres tienen un papel pro-oxidante, contribuyendo así al estrés oxidativo que se observa en la enfermedad de Alzheimer (Sims-Robinson *et al.*, 2010). En la actualidad hay un gran número de investigaciones acerca de la EA; no obstante, los mecanismos responsables de su iniciación y progresión aún no se han identificado (Agostinho *et al.*, 2010). No existe cura para esta enfermedad, solamente se dispone de algunos tratamientos que mejoran la sintomatología pero no afectan a la progresión del Alzheimer (Massoud and Gauthier, 2010). Es esencial encontrar nuevos fármacos que reduzcan la muerte neuronal en esta enfermedad (Camins *et al.*, 2008; Camins *et al.*, 2010). Para ello hay que conocer con exactitud cuáles son los mecanismos que la producen en dicha patología.

Diferentes estudios han demostrado que la deposición de péptido β -amiloide junto con el estrés oxidativo que éste induce pueden desencadenar la iniciación y progresión de la enfermedad mediante la activación de vías moleculares como la re-entrada en ciclo celular, asociada a las ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas, la inducción del factor de transcripción E2F-1, la activación de calpaínas, CDK5, GSK3 β y las cinasas c-Jun N-terminal (Chang *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2010). Todas las proteínas mencionadas se han relacionado con procesos de neurodegeneración. Las tres últimas están relacionadas con la fosforilación de la proteína tau. Aunque CDK5, cinasa serina-treonina, es una proteína relacionada con el ciclo celular, también está implicada en la guía axonal, formación de las capas corticales, formación de sinapsis y plasticidad de las mismas; siendo expresada de forma mayoritaria en neuronas postmitóticas (Mateo *et al.*, 2009). Una desregulación de la proteína CDK5 y su co-activador p35 mediante la acción de las calpaínas se ha relacionado con la neurodegeneración que ocurre en la EA. La inhibición de CDK5 previene la hiperfosforilación de la proteína tau y el daño del citoesqueleto (Camins *et al.*, 2006). GSK3 β es otra cinasa que fosforila a la proteína tau, y su relación con la EA también se ha demostrado. A su vez, JNK es otra cinasa involucrada en la fosforilación de tau e igualmente se ha relacionado con la neurodegeneración que ocurre en la EA. Así, las tres vías comentadas están implicadas en la progresión de la EA.

Además, otras vías también se han relacionado con la neurodegeneración. Así, la activación de vías de supervivencia celular PTEN/AKT podrían resultar una estrategia para prevenir la muerte neuronal. De este modo, un buen fármaco para la prevención de la muerte neuronal debería inhibir vías apoptóticas y/o activar vías de supervivencia.

Genes involucrados en la enfermedad de Alzheimer

En diferentes estudios realizados recientemente en cerebros de pacientes que padecieron la EA, se ha demostrado la implicación de diversos genes en esta enfermedad. No obstante, estos estudios se realizan en fases muy avanzadas de la enfermedad y dificultan la identificación de los genes implicados en la iniciación y progresión inicial. Por este motivo, nuestro grupo está realizando análisis de expresión génica en modelos experimentales de Alzheimer en las fases iniciales de esta enfermedad. Identificar los mecanismos iniciales de la enfermedad es clave para poder desarrollar estrategias terapéuticas más eficientes. A su vez, nuestro interés también se centra en el efecto de la deficiencia de JNK3 en Alzheimer. Nuestro grupo analizó los cambios de expresión génica en ratones deficientes de JNK3 en los que se observó neuroprotección frente al efecto neurotóxico del ácido kaínico (de Lemos *et al.*, 2010). Otro estudio nos mostró que diversos genes estaban diferencialmente expresados en ratones deficientes para JNK3, algunos de ellos relacionados con procesos de supervivencia neuronal, neuroprotección y apoptosis (Junyent *et al.*, 2011; tabla 1). Entre los genes que incrementaban su expresión destacan: *pik3cb*, relacionado con supervivencia celular; *banp*, que protege de la apoptosis inducida por radicales libres; *skp1a* y *rsg9*, relacionados con la enfermedad de Parkinson; *ptpra*, que se ha relacionado con la apoptosis; *|srebp2*, que se ha visto alterado en modelos de neurotoxicidad por ácido kaínico. De los genes que disminuían su expresión destacan: *dysf*, que codifica para la proteína disferlina, que se ha encontrado acumulada en cerebros de enfermos de Alzheimer; *ip6k2*, relacionado con muerte celular y *En1*, relacionado con la enfermedad de Parkinson.

Estos cambios de expresión inducidos por la falta de JNK3 podrían tener una relevancia en la enfermedad de Alzheimer. Así, parte de la investigación que se está realizando en el grupo se centra en el efecto de la deficiencia de JNK en la iniciación y progresión en la enfermedad de Alzheimer.

TABLA 1. Genes diferencialmente expresados en el hipocampo de ratones deficientes para JNK3

Número de registro en el GenBank number	Símbolo del gen	Nombre del gen*	z-score	DS
AK012938	Tmem107	transmembrane protein 107	2.79	0.08
AK013609	Zdhhc4	zinc finger, DHHC domain containing 4	2.61	0.06
AK003230	Pik3cb	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, beta polypeptide	2.55	0.61
NM_016812	Banp	BTG3 associated nuclear protein	2.40	0.36
NM_011543	Skp1a	S-phase kinase-associated protein 1A	2.31	0.38
NM_008980	Ptptra	protein tyrosine phosphatase, receptor type, A	2.29	0.20
NM_019473	Olf155	olfactory receptor 155	2.22	0.15
AF374267	Srebf2	sterol regulatory element binding factor 2	2.10	0.10
NM_007674	Cdx4	caudal type homeobox 4	2.09	0.12
AK007679	1810033B17Rik	RIKEN cDNA 1810033B17	2.09	0.05
NM_011268	Rgs9	regulator of G-protein signaling 9	2.04	0.02
AK019660	4930488B04Rik	RIKEN cDNA 4930488B04	-2.05	0.06
AF282278	Olf1893	olfactory receptor 893	-2.10	0.04
AF188290	Dysf	dysferlin	-2.12	0.08
AK005708	Cox8c	cytochrome c oxidase, subunit VIIIc	-2.12	0.06
AK005166	Ip6k2	inositol hexaphosphate kinase 2	-2.16	0.08
AK013367	2810459M11Rik	RIKEN cDNA 2810459M11	-2.17	0.03
NM_010133	En1	engrailed 1	-2.23	0.14
AK006550	1700030I03Rik	RIKEN cDNA 1700030I03	-2.31	0.33
AK020104	Rnf170	ring finger protein 170	-2.44	0.53
AK018452	Rbm22	RNA binding motif protein 22	-2.51	0.19
AK015928	4930528J11Rik	RIKEN cDNA 4930528J11	-2.68	0.67

* Por razones de precisión, los nombres de los genes se citan en inglés (*N. del E.*)

JNK y neuroprotección

La vía de JNK se ha relacionado con modelos experimentales *in vivo* e *in vitro* de neurodegeneración inducida por glutamato, ácido kaínico y privación neuro-

trófica (Behrens *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1997). Además, la activación de la vía JNK se ha descrito en patologías neurodegenerativas como en las enfermedades de Alzheimer, Parkinson y Huntington (Bozyczko-Coyne *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2002; Liu, 1998; Resnick and Fennell, 2004).

Existen tres isoformas de JNK (JNK1, 2 y 3). La JNK3 se expresa de forma más específica en cerebro y se ha relacionado con procesos apoptóticos neuronales (Brecht *et al.*, 2005; Kuan *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 1997).

La implicación de JNK en la excitotoxicidad se observó en ratones deficientes para JNK3 en los que se reducían las convulsiones y la muerte apoptótica inducida por ácido kaínico (Brecht *et al.*, 2005; de Lemos *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 1997). Esta resistencia a la muerte neuronal inducida por excitotoxicidad también se ha observado en ratones con una forma inactiva de c-Jun (Jun AA, con alaninas en vez de serinas en las posiciones 63 y 73 de la proteína) (Behrens *et al.*, 1999). Dichos resultados sugieren que JNK tiene un papel relevante en la muerte neuronal, y es por este motivo que se ha generado un interés en desarrollar fármacos que inhiban esta vía como CEP-1347, un inhibidor de las proteínas MLK y SP600125, un inhibidor de la actividad de JNK.

La activación de JNK conlleva la fosforilación de múltiples sustratos (Bogoyevitch and Kobe, 2006), muchos de ellos factores de transcripción como c-Jun, Elk-1; p53, ATF-2; JDP2, c-Myc entre otros (figura 1). El sustrato más estudiado de JNK es c-Jun, y éste se ha relacionado con procesos apoptóticos en el desarrollo embrionario (Sun *et al.*, 2005), la isquemia (Wessel *et al.*, 1991) y en epilepsia (Morgan and Curran, 1988). La inducción de este factor también se ha descrito en enfermedades como el Alzheimer (Pearson *et al.*, 2006; Thakur *et al.*, 2007), la esclerosis lateral amiotrófica (Migheli *et al.*, 1997) y en la exposición a MPTP, tóxico que induce la degeneración de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra, un modelo experimental de Parkinson (Oo *et al.*, 1999; Saporito *et al.*, 2002).

Nuestro grupo ha determinado que la deficiencia de JNK3 previene de la muerte neuronal inducida por ácido kaínico. Este fenómeno también se ha observado en ratones deficientes para JNK1. Sin embargo, la falta de JNK3 no previene la muerte neuronal en todos los modelos experimentales. Así, hemos observado que la neurotoxicidad en el estriado inducida por ácido 3-nitropropiónico no se reduce en ratones deficientes para JNK3.

Actualmente tenemos dos cuestiones a las que dar respuesta: ¿JNK es relevante en la iniciación y progresión de la enfermedad de Alzheimer? Y ¿existen

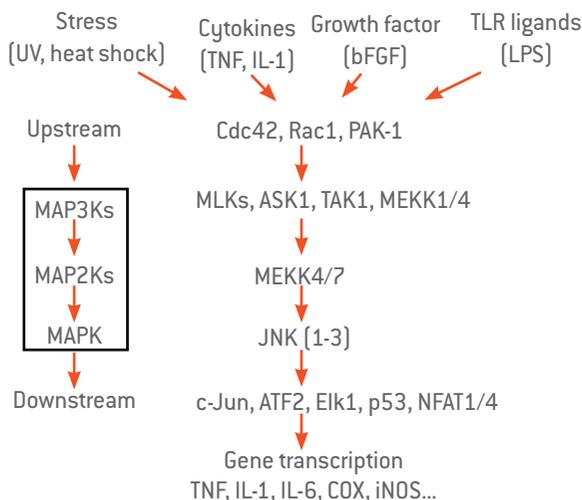


FIGURA 1. La activación de JNK en las células puede darse por diversos estímulos como el estrés, las citocinas inflamatorias y factores de crecimiento, entre otros. La activación de los receptores respectivos para los estímulos anteriormente mencionados conlleva su interacción con diversas moléculas [Cdc42, Rac1, PAK-1, p21Rho-GTPase]. Estas moléculas activarán a las MAP3K [MLKs, ASK1, TAK1, MEKK1 y MEKK4], y consecutivamente se activarán las MAP2K [MKK4 y MKK7]. Por último, estas cinasas serán las responsables de activar la cinasa JNK que fosforilará diversos sustratos como c-Jun, Elk-1, p53, ATF-2, c-myc, NFAT.

diferencia entre las isoformas de JNK? Para dar respuesta a estas cuestiones, el grupo ha generado un ratón con mutaciones en los genes APP y presenilina 1 junto con la deficiencia de JNK3 o JNK1. De este modo, se podrá determinar si la falta de JNK tiene una influencia en la iniciación y progresión de la enfermedad de Alzheimer, y si existen diferencias entre las isoformas JNK3 y JNK1.

Referencias

- Agostinho P, Cunha RA, Oliveira C. Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Pharm* 2010; 16 (25):2766-78.
- Badiola N, Suárez-Calvet M, Lleó A. Tau phosphorylation and aggregation as a therapeutic target in tauopathies. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010; 9(6):727-40.

- Behrens A, Sibia M, Wagner EF. Amino-terminal phosphorylation of c-Jun regulates stress-induced apoptosis and cellular proliferation. *Nat Genet*, 1999; 21(3):326-329.
- Bertram L, Lill CM, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron*, 2010; 68(2):270-81.
- Bogoyevitch MA, Kobe B. Uses for JNK: the many and varied substrates of the c-Jun N-terminal kinases. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006; 70(4):1061-1095.
- Bonda DJ, Wang X, Perry G, Nunomura A, Tabaton M, Zhu X, Smith MA. Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. *Neuropharmacology*, 2010; 59(4-5):290-4.
- Bozyczko-Coyne D, Saporito MS, Hudkins RL. Targeting the JNK pathway for therapeutic benefit in CNS disease. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2002; 1(1):31-49.
- Brecht S, Kirchoff R, Chromik A, Willesen M, Nicolaus T, Raivich G, Wessig J, Waetzig V, Goetz M, Claussen M, Pearse D, Kuan CY, Vaudano E, Behrens A, Wagner E, Flavell RA, Davis RJ, Herdegen T. Specific pathophysiological functions of JNK isoforms in the brain. *Eur J Neurosci*, 2005; 21(2):363-377.
- Camins A, Pallas M, Silvestre JS. Apoptotic mechanisms involved in neurodegenerative diseases: experimental and therapeutic approaches. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2008; 30(1):43-65.
- Camins A, Sureda FX, Junyent F, Verdaguer E, Folch J, Beas-Zarate C, Pallas M. An overview of investigational antiapoptotic drugs with potential application for the treatment of neurodegenerative disorders. *Expert Opin Investig Drugs*; 2010; 19:587-604.
- Camins A, Verdaguer E, Folch J, Canudas AM, Pallàs M. The role of CDK5/P25 formation/inhibition in neurodegeneration. *Drug News Perspect*, 2006; 19(8):453-60.
- Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease. *Dis Mon*. 2010; 56(9):484-546.
- Chang KH, de Pablo Y, Lee HP, Lee HG, Smith MA, Shah K. Cdk5 is a major regulator of p38 cascade: relevance to neurotoxicity in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2010; 113(5):1221-9.
- Cole GM, Frautschy SA. Mechanisms of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010; 9(2):140-8.
- De Lemos L, Junyent F, Verdaguer E, Folch J, Romero R, Pallàs M, Ferrer I, Auladell C, Camins A. Differences in activation of ERK1/2 and p38 kinase in Jnk3 null mice following KA treatment. *J Neurochem*, 2010; 114(5): 1315-22.
- Dolan PJ, Johnson GV. The role of tau kinases in Alzheimer's disease. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2010; 13(5):595-603.

- Garcia M, Vanhoutte P, Pages C, Besson MJ, Brouillet E, Caboche J. The mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid induces striatal neurodegeneration via a c-Jun N-terminal kinase/c-Jun module. *J Neurosci*, 2002; 22(6):2174-2184.
- Hernández F, Gómez de Barreda E, Fuster-Matanzo A, Lucas JJ, Avila J. GSK3: a possible link between beta amyloid peptide and tau protein. *Exp Neurol*, 2010; 223(2):322-5.
- Herrup K. Reimagining Alzheimer's disease--an age-based hypothesis. *J Neurosci*, 2010; 30(50):16755-62.
- Howe E. What Psychiatrists Should Know about Genes and Alzheimer's Disease. *Psychiatry (Edgmont)*, 2010; 7(10):45-51.
- Junyent F, de Lemos L, Verdaguer E, Folch J, Ferrer I, Ortuño-Sahagún D, Beas-Zárate C, Romero R, Pallàs M, Auladell C, Canims A. Gene expression profile in JNK3 null mice: a novel specific activation of the PI3K/AKT pathway. *J Neurochem*, 2011; 117(2):244-252.
- Kuan CY, Whitmarsh AJ, Yang DD, Liao G, Schloemer AJ, Dong C, Bao J, Banasiak KJ, Haddad GG, Flavell RA, Davis RJ, Rakic P. A critical role of neural-specific JNK3 for ischemic apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100(25):15184-15189.
- Lee HP, Zhu X, Casadesus G, Castellani RJ, Nunomura A, Smith MA, Lee HG, Perry G. Antioxidant approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*, 2010; 10(7):1201-8.
- Li S, Shankar GM, Selkoe DJ. How do Soluble Oligomers of Amyloid beta-protein Impair Hippocampal Synaptic Plasticity? *Front Cell Neurosci*, 2010; 19;4:5.
- Liang B, Duan BY, Zhou XP, Gong JX, Luo ZG. Calpain activation promotes BACE1 expression, amyloid precursor protein processing, and amyloid plaque formation in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2010; 285(36):27737-44.
- Liu YF. Expression of polyglutamine-expanded Huntingtin activates the SEK1-JNK pathway and induces apoptosis in a hippocampal neuronal cell line. *J Biol Chem*, 1998; 273(44):28873-28877.
- Maccioni R.B., Muñoz J.P., Barbeito L. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Arch Med Res*, 2001; 32: 367-81.
- Maccioni RB, Fariás G, Morales I, Navarrete L. The revitalized tau hypothesis on Alzheimer's disease. *Arch Med Res*, 2010; 41:226-31.
- Mateo I, Vázquez-Higuera JL, Sánchez-Juan P, Rodríguez-Rodríguez E, Infante J, García-Gorostiaga I, Berciano J, Combarros O. Epistasis between tau phosphorylation regulating genes (CDK5R1 and GSK-3beta) and Alzheimer's disease risk. *Acta Neurol Scand*, 2009; 120:130-3.
- Massoud F, Gauthier S. Update on the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol*, 2010; 8(1):69-80.

- Medina M. Recent developments in tau-based therapeutics for neurodegenerative diseases. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2011; 6:20-30.
- Middleton LE, Yaffe K. Promising strategies for the prevention of dementia. *Arch Neurol*, 2009; 66:1210-5.
- Migheli A, Piva R, Atzori C, Troost D, Schiffer D. c-Jun, JNK/SAPK kinases and transcription factor NF-kappa B are selectively activated in astrocytes, but not motor neurons, in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997; 56(12):1314-1322.
- Morgan JI, Curran T. Calcium as a modulator of the immediate-early gene cascade in neurons. *Cell Calcium*, 1988; 9(5-6):303-311.
- Oo TF, Henchcliffe C, James D, Burke RE. Expression of c-fos, c-jun, and c-jun N-terminal kinase (JNK) in a developmental model of induced apoptotic death in neurons of the substantia nigra. *J Neurochem*, 1999; 72(2):557-564.
- Resnick L, Fennell M. Targeting JNK3 for the treatment of neurodegenerative disorders. *Drug Discov Today*, 2004; 9(21):932-939.
- Saporito MS, Hudkins RL, Maroney AC. Discovery of CEP-1347/KT-7515, an inhibitor of the JNK/SAPK pathway for the treatment of neurodegenerative diseases. *Prog Med Chem*, 2002; 40:23-62.
- Sims-Robinson C, Kim B, Rosko A, Feldman EL. How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? *Nat Rev Neurol*, 2010; 6(10):551-9.
- Sperling RA, Dickerson BC, Pihlajamaki M, Vannini P, LaViolette PS, Vitolo OV, Hedden T, Becker JA, Rentz DM, Selkoe DJ, Johnson KA. Functional alterations in memory networks in early Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med*, 2010; 12(1):27-43.
- Sun W, Gould TW, Newbern J, Milligan C, Choi SY, Kim H, Oppenheim RW. Phosphorylation of c-Jun in avian and mammalian motoneurons in vivo during programmed cell death: an early reversible event in the apoptotic cascade. *J Neurosci*, 2005; 25(23):5595-5603.
- Takeda M, Martínez R, Kudo T, Tanaka T, Okochi M, Tagami S, Morihara T, Hashimoto R, Cacabelos R. Apolipoprotein E and central nervous system disorders: reviews of clinical findings. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2010; 64(6):592-607
- Thakur A, Wang X, Siedlak SL, Perry G, Smith MA, Zhu X. c-Jun phosphorylation in Alzheimer disease. *J Neurosci Res*, 2007; 85(8):1668-1673.
- Wessel TC, Joh TH, Volpe BT. In situ hybridization analysis of c-fos and c-jun expression in the rat brain following transient forebrain ischemia. *Brain Res*, 1991; 567(2):231-240.
- Yang DD, Kuan CY, Whitmarsh AJ, Rincon M, Zheng TS, Davis RJ, Rakic P, Flavell RA. Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the Jnk3 gene. *Nature*, 1997; 389(6653):865-870.

13 Enfermedad de Parkinson: núcleo, mitocondria y envejecimiento

Agustín Lugo Radillo¹

Resumen

La enfermedad de Parkinson es el segundo padecimiento neurodegenerativo más común en la población general. Su etiología no es conocida aún y se considera hasta el momento de carácter multifactorial. Las mutaciones relacionadas con parkinsonismo sólo responden a una pequeña proporción de pacientes, en donde el padecimiento tiene un patrón hereditario, pero no explican el inicio de la enfermedad en el resto de los pacientes. Los factores ambientales también se encuentran directamente relacionados en una minoría de los afectados. Los daños producidos por alteraciones metabólicas deberían afectar al total de la población pues los procesos son comunes. Nuevas mutaciones en genes relacionados han sido encontradas recientemente, sin embargo esto no explica aún el grueso de los casos idiopáticos. Pacientes en los que se ha estudiado el estado de integridad de los ácidos nucleicos muestran un incremento significativo en el daño al DNA, comparado con individuos sanos del mismo rango de edad; estos cambios se extienden a mitocondria y se incrementan con el avance de la edad. Este capítulo aborda de manera general dichos hallazgos y plantea la necesidad de investigar a fondo este aspecto aún ignorado de la enfermedad.

¹ Departamento de Investigación Básica, Instituto de Geriátria (INGER), SSA, México DF.

Generalidades de la enfermedad de Parkinson (EP)

La EP es un padecimiento neurodegenerativo que afecta al 1% de la población general. Se caracteriza clínicamente por la triada de bradicinesia, tremor y rigidez postural. Su inicio es más frecuente durante la sexta y la séptima décadas de la vida. El deceso se presenta comúnmente 10 años después del inicio de la enfermedad, con una edad promedio a la muerte de 75 años. Su etiología es desconocida y varios factores se encuentran asociados con ésta. Evidencia reciente muestra que también un daño a los materiales nucleicos se presenta durante el desarrollo de la enfermedad, tanto en el núcleo como en la mitocondria. Aún se desconoce si tal daño es una consecuencia del daño global a la célula afectada o si quizá es uno de los fenómenos iniciales de la enfermedad, debido a que la cantidad de datos relacionados es aún insuficiente y no concluyente. En este capítulo se revisa brevemente la enfermedad desde el enfoque de eventos de daño y reparación detectados en células de pacientes con EP.

Presentación clínica de la EP

La EP puede iniciar en cuatro formas distintas:

- Desorden de la marcha: se caracteriza por movimiento asimétrico de los brazos, lentitud asimétrica, desbalance mínimo o ausente y con arrastre de pies.
- Una pierna débil o torpe: comienza asimétricamente en 75% de los pacientes, sin embargo las pruebas de fuerza aplicadas reflejan resultados normales. La destreza de golpeteo de dedos o pulgares de pies presenta una cadencia irregular que se incrementa conforme el ejercicio continua. La amplitud de movimiento y la velocidad se encuentran progresivamente reducidas. Los movimientos finos son los primeros en ser afectados al igual que los movimientos repetitivos.
- Pierna con disconfort o rígida: un malestar o dolor en una pierna, de carácter vago, puede presentarse.
- Tremor: al descanso su frecuencia es de 4-6Hz. Generalmente desaparece con el movimiento voluntario. Se presenta más comúnmente en la mano y es normalmente asimétrico. Se considera el signo patognomónico de EP en la ausencia de otros signos, pero está ausente en 25% de los casos. Se puede

presentar solamente en mandíbula, mentón o lengua por afectamiento de los músculos craneales. La reducción de la amplitud y velocidad en la mano producida por temblores en pacientes con EP ocasiona que éstos tengan una escritura pequeña e irregular.

A pesar de que estos síntomas son generalmente los indicadores clínicos inequívocos de la EP, otros síntomas aparentemente no relacionados con las alteraciones motoras pueden aparecer años antes. Puede presentarse una triada consistente en una postura de flexión rígida del codo con balanceo reducido de brazo, dedos aducidos y flexionados levemente y un rostro de póquer. Por otra parte, diez años después de la enfermedad generalmente, suelen desarrollarse alucinaciones e inestabilidad postural (1).

Epidemiología de la EP

La EP afecta a 1-2% de la población mayor de 65 años y a 3-5% de la mayor de 85 años. Su incidencia oscila del 8.6 a 19.0 casos por 100 mil habitantes por año. Antes de los 50 años de edad, aproximadamente 4% de los pacientes inician con la enfermedad. El incremento del riesgo de padecer EP es de 3 a 4 veces para los familiares de estos pacientes comparados con el resto de la población (2).

Patología

La principal característica de la EP desde el punto de vista histológico es la pérdida de neuronas dopaminérgicas (ND), en especial las del cuerpo estriado. El área tegmental ventral se encuentra también dañada, aunque en una menor proporción. La pérdida de sustancia negra en la pars compacta y la disminución de los niveles de dopamina en el putamen son directamente proporcionales a la severidad de la rigidez postural y la bradicinesia. La pérdida de ND es 8 a 10 veces mayor en EP que durante el envejecimiento. Esta pérdida comienza cinco a diez años antes de que los síntomas aparezcan. Una vez que la pérdida de células en la pars compacta es mayor de 30% y de 70% en el área ventrolateral, los síntomas se presentan. El 50% de estas células desaparece durante los primeros cinco años de

la enfermedad y posteriormente la pérdida es de 7% por año, alcanzando el límite diez años después de que se presenta clínicamente la enfermedad. Otro signo histológico común es la presencia en el soma de las neuronas de diversas regiones cerebrales de agregados de fibras con un núcleo compacto compuesto principalmente de ubiquitina y con un halo abundante en alfa-sinucleína llamados cuerpos de Lewy. Éstos se presentan también en la panencefalitis subaguda esclerosante, parkinsonismo heredado autosómicamente dominante y en la enfermedad de Alzheimer. Un 20% de la población mayor de 80 años presenta estos cuerpos sin estar asociados a ninguna enfermedad (3).

Etiología

La etiología se considera de carácter multifactorial, con posibles interacciones metabólicas, genéticas y ambientales.

Factores metabólicos

La dopamina es catabolizada por la enzima monoamino-oxidasa (MAO) produciendo como subproductos agua y dihidroxifenilacetaldehído (DOPAL). Estos subproductos reaccionan produciendo radicales hidroxilo, los cuales interactúan con los ácidos nucleicos entre otras moléculas, formando bases oxidadas, principalmente 8-oxo-dG. Los radicales hidroxilo también son formados a través de la reacción de Fenton después de la acción de la catalasa con el peróxido de hidrógeno. Por otra parte, el DOPAL provoca el incremento de agregados de AS. Esta última proteína regula la producción y acumulación de DOPA en las vesículas sinápticas mediante la interacción con la DAT y la tiroxina hidroxilasa (TH). Los agregados protofibrilares de AS incrementan la permeabilidad de las vesículas sinápticas, lo cual produce una fuga de dopamina al citoplasma en niveles anormales y produce radicales oxidativos y DOPAL después de su metabolización por la MAO. Además DOPAL incrementa la permeabilidad mitocondrial, generando la liberación al citoplasma de citocromo C (4).

Factores genéticos

Un porcentaje del 5 al 10% de los pacientes con EP tienen una mutación relacionada. Las mutaciones que se han encontrado relacionadas pertenecen a genes presentes en el núcleo, sin embargo, la mayoría de estos genes actúan directamente en la mitocondria y sus mutaciones ejercen algunos de sus efectos adversos en este mismo organelo.

Pink-1 (Probable cinasa 1 PTEN-inducida):

Este gen forma el locus PARK6 y se encuentra en el cromosoma 1, p35-p36. Algunas mutaciones en este gen predisponen a EP autosómico recesivo de inicio temprano. Su principal función conocida es la regulación de la localización y actividad de Parkin, TRAP y HtrA2/Omi. A través de esta interacción se regulan finalmente la división, funcionamiento y muerte mitocondrial. PINK es una probable serina-treonina cinasa de la familia calmodulina de Ca²⁺ y contiene un dominio de cinasa serina-treonina y un motivo de diana mitocondrial N-terminal. Los niveles mitocondriales de Parkin son regulados por su fosforilación por PINK-1. Esta fosforilación permite la traslocación de Parkin a la mitocondria. TRAP es normalmente fosforilado por PINK-1 para evitar su activación, lo cual desencadenaría en su caso la liberación de citocromo C de la mitocondria y la activación subsecuente de apoptosis. La actividad de HtrA2/Omi es incrementada por la fosforilación por PINK-1 y regula a su vez en retroalimentación a PINK-1. Las mutaciones que producen disfunciones en la actividad de cinasa de PINK-1 producen mitocondrias dismórficas con ausencia de crestas o con un número reducido de ellas, una actividad de aconitasa reducida, un incremento en la producción de radicales oxígeno, un decremento en la función de los complejos I y II y una alta susceptibilidad a apoptosis. Los ratones con defectos en Pink-1 desarrollan defectos en la potenciación de largo plazo del estrato cortical y evocación de liberación de dopamina disminuida. La sobreexpresión de Pink-1 protege a la célula ante la exposición a MPTP por un mecanismo desconocido (5-7).

Alfa-sinucleína (SNCA):

Se encuentra en q21-q23 del cromosoma 4, en el locus PARK1 y PARK4. Mutaciones en este gen suman el 2% de casos familiares de EP, los cuales tienen un patrón hereditario autosómico dominante. Las principales mutaciones son dupli-

caciones y triplicaciones del locus SNCA. Las funciones de esta proteína son su implicación en el reciclaje de vesículas sinápticas y posible acumulación de dopamina y modulación de los complejos I y III de la cadena respiratoria. Normalmente la dopamina estabiliza a esta proteína; cuando dicha estabilización falla, las protofibras se agrupan formando agregados (cuerpos de Lewy). Esta agregación también puede producirse por su sobreexpresión. Las protofibras provocan poros en la membrana celular, mitocondrial y de organelos. Cuando su acumulación sucede en la mitocondria ésta incrementa su susceptibilidad a los inhibidores del complejo I y provoca la falla de los complejos I y IV e incrementa la formación de radicales oxígeno. La sustancia negra de pacientes con EP muestra altas concentraciones de esta proteína. Su *knockout* disminuye la función del complejo I y su sobreexpresión reduce la función de los complejos I y IV (5, 8, 9).

Cinasa 2 rica en repeticiones de leucina (LRRK2):

El 3% de los casos idiopáticos de EP son debidos a mutaciones en este gen, al igual que el 10% de casos autosómicos dominantes. Se localiza en el cromosoma 12, p11.2-q13.1. Su función es aún desconocida, aunque al parecer consiste en la formación y transporte de vesículas y en la degradación proteosómica. Esta cinasa se encuentra en las membranas de organelos y libre en el citoplasma. Se expresa en todas las neuronas cerebrales, a excepción de las ND de la sustancia negra pars compacta. Las mutaciones que incrementan la actividad de su dominio cinasa producen muerte neuronal por un mecanismo desconocido, muy probablemente autofagia (5, 7-9).

DJ-1:

Algunas mutaciones en este gen están asociadas a EP de inicio temprano. Este gen expresa una proteína con actividad antioxidante, de modulación transcripcional y de estabilización proteica. Se encuentra en el cromosoma 1, p36. Se expresa en todos los tejidos. La localización de esta proteína en la célula es generalizada, con la particularidad de que en el citoplasma se encuentra asociada con CHIP y Hsp70. Como chaperón, estabiliza proteínas e impide su agregación en el citosol. Reprime la traducción de los miembros de la cascada de cinasa PTEN/P13, proteínas implicadas en el metabolismo de glutatión y varias proteínas mitocondriales. Bajo estrés oxidativo se desliga de los mRNAs reprimidos y permite de nuevo su traducción, además de promover la transcripción de Mn-SOD y bloquear la

transcripción de p53, disminuyendo de esta manera la expresión de Bax además de que los niveles de DJ-1 en mitocondria aumentan. Cuando DJ-1 es disfuncional la célula es más susceptible a los inhibidores del complejo I y el daño oxidativo aumenta. Su *knockdown* hace susceptible a la célula a MPTP, bloquea la señalización de receptores de dopamina D2, incrementa los niveles de recaptura de dopamina y clínicamente produce hipokinesia. La ausencia completa de su expresión genera estrés del retículo endoplásmico, inhibición del proteasoma e incrementa la susceptibilidad celular al estrés oxidativo. Su sobreexpresión confiere protección contra MPTP (5, 8, 9).

Parkin (PARK2):

El 50% de pacientes con EP familiar tienen mutaciones en este gen. Se encuentra en el cromosoma 6, q25. Se hereda con un patrón autosómico recesivo. Por lo general, los pacientes afectados inician mostrando síntomas en la tercera década de la vida y posteriormente muestran una progresión lenta. Dichos pacientes no presentan cuerpos de Lewy. Su principal función es en el proceso de ubiquitinación como una ligasa de ubiquitina E3. Protege también a la mitocondria de apoptosis inducida por ceramidas, disminuyendo la expansión mitocondrial y la liberación de citocromo C. Cuando hay una reducción en el potencial de membrana mitocondrial y también después de ser fosforilada por PINK-1, es internalizada a mitocondria y participa en su degradación por mitofagia. La expresión de Parkin aparentemente regula también la expresión de enzimas antioxidantes, sin embargo no existe evidencia suficiente aún para asegurarlo. Su reducción también produce una reducción en la función de complejo I y IV, mientras que su sobreexpresión incrementa la función de complejo I y reduce la acumulación de radicales oxígeno (5, 8, 10).

Factores ambientales

Varios factores ambientales han sido relacionados con la etiología de EP, en especial neurotoxinas. Es importante mencionar que las tres neurotoxinas más comúnmente relacionadas con la EP —rotenón, paraquat y 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MTPT)— ejercen su principal acción tóxica en mitocondria, produciendo potencialmente un daño secundario a los ácidos nucleicos que ésta y el núcleo contienen por la elevación en la producción de radicales oxí-

geno. Estas tres neurotoxinas producen síntomas y características histopatológicas parecidas a la presentes en EP. El rotenón y el paraquat inhiben el complejo I de la cadena respiratoria de todas las neuronas. MPTP produce sólo el bloqueo del complejo I de ND, causando la muerte específica de esta estirpe neuronal. Su selectividad es debida a que después de ser metabolizado en astrocitos por la monoaminoxidasa B a 1-metil-1-4-fenil-1,2,3-dihidropiridiniumion, éste requiere el transportador DAT para ser internalizado, el cual sólo está presente en ND. La disrupción del complejo I disminuye la producción de ATP e incrementa la fuga de electrones con la subsecuente elevación de radicales oxígeno, en especial superóxido (11).

Daño al DNA en las neuronas

Las neuronas generan más radicales oxidativos que el resto de las células por el incremento en el metabolismo que se lleva a cabo dentro de ellas y, por consiguiente, el elevado consumo de oxígeno en comparación con otros tipos de células.

El porcentaje de oxígeno que se transforma en radicales libres se encuentra en el rango del 1 al 5 % del total del oxígeno consumido. El tipo de daño que los radicales libres una vez formados pueden causar al interactuar con los ácidos nucleicos son: cambios químicos directos en las bases, creación de sitios apurínicos/apirimidínicos (12) y rupturas de cadena sencilla y doble. De los cambios bioquímicos de bases, el más frecuente es la modificación de la guanina. Ésta es particularmente susceptible al daño por radicales libres debido a que posee un potencial de oxidación mucho menor a cualquiera de las otras bases nucleicas y por lo tanto es afectada más fácilmente. La oxidación también puede ser producida por otras fuentes como radiación ionizante, en la que la adenina es la más susceptible a dicho cambio; sin embargo, la cantidad de bases afectadas es mucho menor en comparación con la guanina, en especial en neuronas, las cuales no están directamente expuestas a este tipo de radiación por su topología tisular (13). El cerebro es un órgano particularmente susceptible a daño oxidativo debido a la concentración de neuronas y su inherente consumo elevado de oxígeno, pero además debido a su alto contenido de ácidos grasos poli-insaturados, los cuales son fácilmente oxidados por los radicales libres. Las bajas concentraciones de glu-

tación peroxidasa y reductadas presentes en el cerebro en comparación con otros órganos incrementa la susceptibilidad de oxidación de estos ácidos(13-16).

Daño a DNA en EP

Daño a DNA nuclear

Al igual que el resto de las células, las neuronas también se encuentran expuestas al daño de sus materiales nucleicos. Esto se debe principalmente a su alta formación de radicales oxidativos debido a su alto consumo de oxígeno, particularmente en el cerebro. Las neuronas, al igual que otras células, cuentan con mecanismos para limitar el daño al DNA y también para repararlo. Al igual que otras células post-mitóticas, éstas son especialmente susceptibles a su acumulación debido a la situación de su carácter estacionario en el ciclo celular y los riesgos que esto implica cuando de reparación se trata. Además, existe una acumulación incrementada de daño al DNA con el avance de la edad. Pacientes con EP tienen un mayor grado de daño oxidativo que individuos sanos de la misma edad. De la misma manera, sus cerebros muestran un elevado número de rompimientos de cadena sencilla (SSB) y doble (DSB) de DNA, comparados con el resto de la población. El mayor daño tanto de rupturas de cadena como de oxidación de DNA, lipídica, de catecol y proteica se encuentra en el mesencéfalo. En estudios previos, los segmentos del cerebro con mayor número de rupturas sencillas de cadena en orden decreciente son: corteza frontal > tálamo > núcleo caudato y putamen > hipocampo > cerebelo > mesencéfalo > corteza occipital > corteza temporal. Y de rupturas de doble cadena (en orden decreciente): corteza frontal > tálamo > cerebelo > mesencéfalo > hipocampo > núcleo caudato y putamen > corteza temporal > corteza occipital. Especialmente importantes son las rupturas de doble cadena, pues si no se reparan conducen a la célula a su muerte. Los cerebros de pacientes con EP también muestran un mayor cantidad de 8-oxo-dG, hemo-oxigenasa-1, proteínas glicosiladas, carbonilos proteicos, hidroperóxido de colesterol lipídico y malondialdehído, mientras sus niveles de glutatión reducido están disminuidos. Los niveles de 8-oxo-dG y de oxidación lipídica también están aumentados en plasma y líquido cefalorraquídeo en estos pacientes. El daño oxidativo del cerebro se incrementa conforme avanza la edad del individuo. Ejemplos de este incremento son

los altos niveles de 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y malondialdehído (MDA) en neuronas y astrocitos de ancianos comparados con controles jóvenes; en otras palabras, la peroxidación lipídica citoplasmática aumenta con el tiempo de vida del organismo. Los patrones de acumulación de daño al DNA en el cerebro no se explican por la evidencia actual, aunque existen múltiples teorías acerca de estos patrones de distribución. La acumulación de daño al DNA con el tiempo puede deberse a que el daño no reparado sucede en regiones no transcritas, a mecanismos de reparación deficientes o a ambos. Es obvio que el umbral de daño en las neuronas es amplio y es necesario que se rebase o que éste se presente en regiones transcritas para entonces conducir a la célula a apoptosis (14, 16-22).

Daño a DNA mitocondrial

Las neuronas de pacientes con EP muestran mayores niveles de deleciones mitocondriales y deficiencia de citocromo C oxidasa que individuos sanos, las deleciones son mayores en ND. Además de estas deleciones, las mutaciones también aumentan con la edad. Dichas mutaciones siguen un patrón topográfico, con el mesencéfalo y el putamen como las regiones con el mayor número de lesiones de este tipo. El DNA mitocondrial se encuentra más expuesto a sufrir daño oxidativo debido a su cercanía con el sitio de formación de radicales oxígeno, en donde el 90% de ellos es formado. De esta manera se explica que exista un mayor daño en este DNA que en el DNA nuclear, además que el DNA nuclear se encuentra más protegido por las estructuras con las que se encuentra asociado y por su plegamiento (12, 15, 17, 20, 21).

Reparación del daño al DNA en neuronas

Al contrario de las células que llevan a cabo mitosis, las neuronas, al ser células post-mitóticas solamente llevan a cabo algunos procesos de reparación de ácidos nucleicos. Si a este dato sumamos que la capacidad de reparación de estos mecanismos disminuye con el avance de la edad, nos damos cuenta que estas células enfrentan un reto enorme para mantenerse viables ante el embate de los insultos internos y externos. Las neuronas llevan a cabo la reparación de DNA por reversión directa, reparación por escisión de base (BER), reparación por escisión de nucleótidos y reparación de impares (MMR). La reparación por recombinación

homóloga y de unión de extremos no homólogos se lleva a cabo sólo después de apoptosis o de isquemia con apoptosis subsecuente. BER es el principal mecanismo de reparación en neuronas, al igual que en las células mitóticas. La mayor parte del daño al DNA producido por alquilación, deaminación y daño oxidativo se repara de esta manera. La actividad de la actividad de reparación global del genoma (GG-BER) y la expresión del componente OGG1 se encuentran reducidos, el resto de componentes de BER mantienen niveles normales. Siendo la reparación del daño oxidativo mucho más eficiente en la mitocondria que en el núcleo, lo cual es observado indirectamente a través de los niveles fluctuantes de 8-oxo-dG; sin embargo, el daño neto es mucho mayor en el DNA mitocondrial y dicho daño aumenta con la edad del individuo. La actividad de BER en el núcleo también disminuye con la edad, pero no así en la mitocondria en donde sus niveles de reparación se mantienen constantes. La actividad y eficiencia de BER en el cerebro varía dependiendo de la región y el tipo celular. En neuronas, la actividad de NER disminuye posterior a la diferenciación, pero la Reparación Acoplada a la Transcripción (TCR) se lleva a cabo en niveles similares a los de células mitóticas. Otro mecanismo de reparación identificado en neuronas es la reparación de impares. Los impares se forman por la inserción incorrecta de una base debido a un error de la polimerasa beta después de una reparación previa, por deaminación espontánea o por generación de un asa de inserción-delección (IDL) después de un derrapamiento de cadena. La MMR se ejecuta en neuronas con la misma intensidad que en células mitóticas y a través de un mecanismo modificado que integra la TCR y la Reparación de Diferenciación Asociada. La evidencia que indica que MMR se lleva a cabo en neuronas es la reparación de mispares G:U y G:T *in vitro* y el incremento en la expresión de algunos de sus componentes después de la presencia de estrés oxidativo(15, 20, 23-36).

Conclusiones

El elevado daño a los ácidos nucleicos en la EP es un hecho que no cuenta con suficiente evidencia para ser declarado aún una característica más de este padecimiento. Sin embargo, los datos existentes son consistentes y extrapolables. Es necesario realizar más estudios para determinar si éste es un hecho común y verdaderamente generalizado, además de determinar la secuencia de eventos que

Llevar a ello y su lugar en la línea temporal de alteraciones subcelulares que acompañan a la patología. La gravedad de tales lesiones y su reparación crucial para la continuidad de la célula hacen de la investigación de este fenómeno un evento primordial.

Referencias

1. Nutt JG, Wooten GF. Clinical practice. Diagnosis and initial management of Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2005 Sep 8;353(10):1021-7.
2. von Campenhausen S, Bornschein B, Wick R, *et al*. Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2005 Aug;15(4):473-90.
3. Lees AJ. The Parkinson chimera. *Neurology*. 2009 Feb 17;72(7 Suppl):S2-11.
4. Galvin JE. Interaction of alpha-synuclein and dopamine metabolites in the pathogenesis of Parkinson's disease: a case for the selective vulnerability of the substantia nigra. *Acta Neuropathol*. 2006 Aug;112(2):115-26.
5. Bueler H. Impaired mitochondrial dynamics and function in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2009 Aug;218(2):235-46.
6. Jain S, Wood NW, Healy DG. Molecular genetic pathways in Parkinson's disease: a review. *Clin Sci (Lond)*. 2005 Oct;109(4):355-64.
7. Gandhi S, Wood NW. Molecular pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*. 2005 Sep 15;14(18):2749-55.
8. Moore DJ, West AB, Dawson VL, Dawson TM. Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci*. 2005;28:57-87.
9. Lesage S, Brice A. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. *Hum Mol Genet*. 2009 Apr 15;18(R1):R48-59.
10. Darios F, Corti O, Lucking CB, *et al*. Parkin prevents mitochondrial swelling and cytochrome c release in mitochondria-dependent cell death. *Hum Mol Genet*. 2003 Mar 1;12(5):517-26.
11. von Bohlen und Halbach O, Schober A, Kriegelstein K. Genes, proteins, and neurotoxins involved in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2004 Jun;73(3):151-77.
12. Kraytberg Y, Kudryavtseva E, McKee AC, Geula C, Kowall NW, Khrapko K. Mitochondrial DNA deletions are abundant and cause functional impairment in aged human substantia nigra neurons. *Nat Genet*. 2006 May;38(5):518-20.

13. Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, Kow YW, Roy R. Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. *DNA Repair (Amst)*. 2007 Apr 1;6(4):470-80.
14. Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005 Nov 15;827(1):65-75.
15. Perry JJ, Fan L, Tainer JA. Developing master keys to brain pathology, cancer and aging from the structural biology of proteins controlling reactive oxygen species and DNA repair. *Neuroscience*. 2007 Apr 14;145(4):1280-99.
16. Zhang J, Perry G, Smith MA, *et al*. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol*. 1999 May;154(5):1423-9.
17. Hegde ML, Gupta VB, Anitha M, *et al*. Studies on genomic DNA topology and stability in brain regions of Parkinson's disease. *Arch Biochem Biophys*. 2006 May 15;449(1-2):143-56.
18. Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, Beal MF, Wallace DC. Mitochondrial DNA deletions in human brain: regional variability and increase with advanced age. *Nat Genet*. 1992 Dec;2(4):324-9.
19. Soong NW, Hinton DR, Cortopassi G, Arnheim N. Mosaicism for a specific somatic mitochondrial DNA mutation in adult human brain. *Nat Genet*. 1992 Dec;2(4):318-23.
20. Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, *et al*. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet*. 2006 May;38(5):515-7.
21. Rutten BP, Schmitz C, Gerlach OH, *et al*. The aging brain: accumulation of DNA damage or neuron loss? *Neurobiol Aging*. 2007 Jan;28(1):91-8.
22. Abe T, Isobe C, Murata T, Sato C, Tohgi H. Alteration of 8-hydroxyguanosine concentrations in the cerebrospinal fluid and serum from patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2003 Jan 16;336(2):105-8.
23. Druzhyna NM, Wilson GL, LeDoux SP. Mitochondrial DNA repair in aging and disease. *Mech Ageing Dev*. 2008 Jul-Aug;129(7-8):383-90.
24. Stojic L, Brun R, Jiricny J. Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair (Amst)*. 2004 Aug-Sep;3(8-9):1091-101.
25. Nospikel T, Hanawalt PC. DNA repair in terminally differentiated cells. *DNA Repair (Amst)*. 2002 Jan 22;1(1):59-75.
26. Fishel ML, Vasko MR, Kelley MR. DNA repair in neurons: so if they don't divide what's to repair? *Mutat Res*. 2007 Jan 3;614(1-2):24-36.

27. Brooks PJ, Marietta C, Goldman D. DNA mismatch repair and DNA methylation in adult brain neurons. *J Neurosci*. 1996 Feb 1;16(3):939-45.
28. Francisconi S, Codenotti M, Ferrari-Toninelli G, Uberti D, Memo M. Preservation of DNA integrity and neuronal degeneration. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005 Apr;48(2):347-51.
29. Liu PK, Hsu CY, Dizdaroglu M, *et al*. Damage, repair, and mutagenesis in nuclear genes after mouse forebrain ischemia-reperfusion. *J Neurosci*. 1996 Nov 1;16(21):6795-806.
30. Chen J, Jin K, Chen M, *et al*. Early detection of DNA strand breaks in the brain after transient focal ischemia: implications for the role of DNA damage in apoptosis and neuronal cell death. *J Neurochem*. 1997 Jul;69(1):232-45.
31. Nospikel T. Nucleotide excision repair and neurological diseases. *DNA Repair (Amst)*. 2008 Jul 1;7(7):1155-67.
32. Karahalil B, Hogue BA, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations. *FASEB J*. 2002 Dec;16(14):1895-902.
33. LeDoux SP, Druzhyina NM, Hollensworth SB, Harrison JF, Wilson GL. Mitochondrial DNA repair: a critical player in the response of cells of the CNS to genotoxic insults. *Neuroscience*. 2007 Apr 14;145(4):1249-59.
34. Tanhauser SM, Laipis PJ. Multiple deletions are detectable in mitochondrial DNA of aging mice. *J Biol Chem*. 1995 Oct 20;270(42):24769-75.
35. van der Wees C, Jansen J, Vrieling H, van der Laarse A, Van Zeeland A, Mullenders L. Nucleotide excision repair in differentiated cells. *Mutat Res*. 2007 Jan 3;614(1-2):16-23.
36. Berneburg M, Kamenisch Y, Krutmann J, Rocken M. 'To repair or not to repair - no longer a question': repair of mitochondrial DNA shielding against age and cancer. *Exp Dermatol*. 2006 Dec;15(12):1005-15.

Aspectos clínicos del envejecimiento y de las enfermedades neurodegenerativas

14 El deterioro cognoscitivo como un síndrome geriátrico

Mario Ulises Pérez Zepeda¹

Introducción

La pérdida o falta de memoria es una de las quejas más comunes entre los ancianos. También suelen mencionar la falta de orientación espacial (se pierden fácilmente), así como la dificultad para encontrar palabras y/o entenderlas. Más allá de atribuir este tipo de síntomas a la edad o a un trastorno demencial, son un indicador de que se debe llevar a cabo una evaluación extensa para encontrar las causas que provoca la queja.

Definición

El deterioro cognoscitivo es cualquier déficit de las llamadas funciones mentales superiores, que puede o no ser corroborado por pruebas neuropsicológicas y sin alteraciones en las actividades de la vida diaria del sujeto. El más común es la queja de memoria, sin embargo —como se mencionó previamente— no es exclusiva y la mayor parte de las veces se acompaña de pruebas cognoscitivas normales. Se ha definido al síndrome geriátrico como una manifestación que tiene múltiples causas; es decir, lo contrario a lo que se conoce como síndrome, que es un conjunto de signos y síntomas con una sola causa. En el caso del deterioro cognoscitivo, las causas más frecuentes son: trastornos del estado de ánimo (ansiedad y depresión, principalmente), déficits sensoriales (auditivo y visual), efectos secundarios de

¹ Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

medicamentos, comorbilidades (como el hipotiroidismo subclínico), delirium, deterioro cognoscitivo leve y demencia. Una de las características típicas de los síndromes geriátricos es que se encuentren varias de las causas simultáneamente.

La función cognoscitiva de los ancianos va desde los cambios propios del envejecimiento, pasando por el deterioro cognitivo leve (DCL), hasta la demencia [1, 2]. Uno de los cambios más reconocidos que suceden con el envejecimiento es la ralentización de los procesos mentales. La velocidad de estos procesos depende de cuatro factores: órganos de los sentidos, atención, procesamiento central y respuesta motora; sin embargo, se ha determinado que es el procesamiento central el que se encuentra ralentizado en los ancianos. Esto se puede evidenciar mediante pruebas psicológicas: en aquellas que requieren el desempeño en un tiempo determinado, el anciano se desempeña con menor velocidad que los jóvenes; sin embargo, en el resto de las pruebas no sucede esto: las calificaciones suelen ser iguales o muy cercanas a las obtenidas por adultos más jóvenes [3]. Contrario a lo que se piensa, los ancianos pueden aprender información nueva; sin embargo, a partir de la adultez la habilidad para aprender nueva información y recordarla después disminuye aproximadamente 10% por década [4]. Asimismo, en las nuevas guías para el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer se ha definido una fase preclínica, en donde se puede detectar beta amiloide mediante estudios de imagen (PET) pero aún no existen datos de daño neuronal ni clínicos [5].

El DCL se define como queja de pérdida de memoria subjetiva, sin alteración en las actividades de la vida diaria, con una disminución en el desempeño en pruebas neuropsicológicas, 1.5 desviaciones estándar por debajo de la media ajustada para edad y escolaridad [2]. Este trastorno se encuentra relacionado con un incremento en el riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer (EA) y usualmente representa una etapa muy temprana de la misma; no obstante, ya se considera una fase clínica de la enfermedad de Alzheimer, donde además de existir placas amiloideas, se tiene evidencia de daño neuronal. De los pacientes con DCL, 10% a 15% por año evolucionan a EA, mientras que los pacientes de la misma edad sin DCL evolucionan a EA en sólo 1% a 2% [6]. El DCL no sólo representa una etapa temprana o previa de EA, ya que se ha observado que también puede ser el pródromo de otros tipos de demencia [7].

La demencia es una enfermedad adquirida, con evolución crónica, de deterioro en la memoria y al menos otra función cognoscitiva (p. ej. lenguaje, praxias, gnosias, función ejecutiva), que afecta la realización de las actividades de la vida

diaria [8]. Las principales causas de la demencia en el adulto mayor son: EA, demencia vascular (DV), enfermedad por cuerpos de Lewy (ECL), demencia asociada a Parkinson (DAP) y demencia frontotemporal (DFT). Asimismo, se pueden encontrar diferentes tipos de etiologías de la demencia en un mismo sujeto, lo que constituye la demencia mixta (DMX). La combinación más común es entre la EA y la DV. Por sí mismas, la EA y la DV son la etiología de más de la mitad de las demencias en los adultos mayores. Sin embargo, existen muchas otras causas de demencia, mucho menos frecuentes en los ancianos y con una presentación clínica diferente [9, 10].

Epidemiología

En diversos estudios se ha reportado una frecuencia de 6.2% a 78.6%. La diferencia en las frecuencias se encuentra dada por la diversidad de quejas que puede llegar a presentar un anciano [11]. Como se mencionó previamente, las causas que pueden motivar una queja de memoria son múltiples, y no se circunscriben únicamente a la demencia; sin embargo, un importante porcentaje de los sujetos con queja subjetiva de memoria tienen demencia.

En el caso del hipotiroidismo, se ha reportado en una muestra pequeña de ancianos mexicanos, hasta 27.3% de problemas cognoscitivos (no demencia) en sujetos con tirotrópina elevada; sin embargo, algunos otros estudios en diferentes poblaciones no han encontrado asociación [12]. En el caso del delirium, la mayor parte de los pacientes que lo padecen presentan alteraciones en el estado cognoscitivo, pero de manera temporal y con asociación comórbida clara (infecciosa la más común). En un estudio realizado en población española se encontró una frecuencia de hasta 52.8% de problemas cognoscitivos (no demencia) asociado a depresión. No existen reportes hasta la fecha de la asociación de déficits sensoriales y problemas cognoscitivos. No obstante lo anterior, muchos de los problemas causales de deterioro cognoscitivo pueden evolucionar hacia una demencia, pero no necesariamente.

La mayor parte de los estudios coinciden en que la prevalencia de la demencia se incrementa al doble cada cinco años a partir de los 60 años de edad; comenzando desde 10%, con un pico en los mayores de 85 años de hasta 45%, siendo mayor este porcentaje en residencias geriátricas (>50%) [10, 13-16]. Los estu-

dios referidos, así como uno realizado en pacientes italianos, coinciden en que la incidencia aumenta al pasar los años y va desde seis por mil personas/año, en menores de 75 años, hasta 48.9 por mil personas/año en los pacientes mayores de 85 años de edad; esto es, que aumenta ocho veces la incidencia de la demencia en tan sólo una década [13, 14, 17].

Un estudio de la ciudad de México muestra que la prevalencia de demencia se acerca a 5% en los mayores de 65 años, incrementándose hasta 45% en los mayores de 80 años de edad. La encuesta de Salud, Bienestar y Envejecimiento (SABE) encontró que 8% de pacientes entre los 60 a 74 años de edad tuvieron una calificación del Examen Mínimo del Estado Mental (EMEM) menor a 13; en el grupo de mayores de 75 años se encontró 20% con calificación de EMEM menor a 13 [18]. Dichas cifras se deben tomar con cautela debido al alto porcentaje de analfabetismo de nuestra población, que en esta encuesta fue de 18.45%. Esta relación se demostró al dividir los grupos por años de escolaridad; en analfabetas el deterioro cognitivo corresponde a 22%, en aquellos con menos de 7 años de escolaridad a 9% y aquellos con más de 7 años de escolaridad es únicamente 1% [19]. Esto también se corroboró en un estudio realizado en California, en un grupo compuesto predominantemente por mexicanos con baja escolaridad (promedio de 6 años); encontrándose una alta prevalencia (49%), con un promedio de edad relativamente bajo (69 años) [17].

En este mismo estudio realizado en California (estado norteamericano con mayor densidad de población mexicana), se entrevistó a 100 pacientes y sus respectivos cuidadores. Se encontró 49% con diagnóstico compatible con demencia; de los cuales 38.5% fue EA, 38.5% DV, 9.2% DFT, 4.6% DMX 4.6% y 3.1% DAP [17].

Fisiopatología

Las distintas causas que puede llegar a motivar una queja cognoscitiva, en general, se dan por problemas en la atención o falla de algún sistema aferente, lo que da como resultado una falta de registro de la información, más allá de una falla en la memoria o en la recuperación de la información.

La demencia no es consecuencia del proceso de envejecimiento; no obstante, se ha postulado que los mecanismos de envejecimiento pueden estar ligados a la fisiopatología de la demencia [20], principalmente por pérdida de la comple-

jidad del sistema nervioso central. La disminución de diversos neurotransmisores, principalmente la acetilcolina, es uno de los mecanismos principalmente implicados en la fisiopatología de la demencia [21]. La destrucción neuronal que comienza con la acumulación de placas de amiloide, se perpetúa con la deficiencia de este neurotransmisor; no obstante también se ha encontrado deficiencia de serotonina y dopamina, principalmente implicados en los síntomas del comportamiento [22, 23].

En el caso de la demencia vascular, el daño principal se da por problemas en la vasculatura cerebral expuesta crónicamente a presiones elevadas o a cambios súbitos de la misma, que provoca una pérdida de la autorregulación de esta vasculatura y la consecuente isquemia y muerte neuronal, que se suele perpetuar también por la deficiencia de los neurotransmisores [24, 25].

Evaluación

La evaluación permite hacer un diagnóstico específico (más allá de las demencias “reversibles”), facilita la iniciación de intervenciones de manera temprana, así como proveer de información al sujeto y la familia de tal manera que puedan tomar decisiones a futuro. Se reporta que la demencia sigue pasando inadvertida aproximadamente para 25% de los médicos y 21% de los familiares. La farmacoterapia puede mejorar la calidad de vida de un paciente, extender el periodo con una relativa buena función y retrasar el ingreso a un asilo, reduciendo, por lo tanto, los costos de cuidado del paciente [3].

La memoria se puede dividir según la temporalidad de aprendizaje de la información o del tipo de información aprendida. En la primera categoría se encuentran las memorias de corto plazo, la memoria reciente y la memoria remota. La segunda categoría (que tiene correlación topográfica) se divide en semántica, episódica, de trabajo y de procedimientos. La memoria primaria es de las primeras en alterarse, sin embargo, conforme avanza la enfermedad, la afección mnésica suele ser global. El lenguaje se define como la habilidad de descifrar y expresar una serie de códigos contenidos dentro de un determinado idioma. En sus fases más tempranas, la afasia se manifiesta por la dificultad para encontrar los nombres de personas y objetos; siendo imposible articular palabra alguna en las fases más tardías. La expresión oral se vuelve vacía, con presencia de circunloquios y exceso

en el uso de términos indefinidos tales como “cosa” y “eso” [26]. Asimismo, la comunicación con el paciente suele dificultarse ya que deja de entender el sentido de las palabras en etapas intermedias y severas de la enfermedad. La praxia es la habilidad de ejecutar actividades motoras aprendidas, con un aparato musculoesquelético intacto. Cuando existe apraxia, a pesar de que el paciente comprenda lo que tiene hacer y no tenga dificultad física en hacerlo, no lo puede llevar a cabo. Lo anterior suele evidenciarse en la vida cotidiana, cuando a los pacientes se les llega a dificultar peinarse o, en casos extremos, vestirse. Cuando se tiene una percepción intacta y no se puede reconocer un objeto, se le llama agnosia. Esta falta de reconocimiento puede extenderse de los objetos a las personas. Las gnosias pueden ser táctiles: pierden la capacidad de reconocer un objeto únicamente con el tacto (p. ej. diferenciar entre monedas) [27]. La función ejecutiva se refiere a la habilidad de planeación de metas, programación de pasos para alcanzar las metas, motivación para ejecutar dichos pasos y la capacidad de darle seguimiento a esos pasos para determinar si se van a alcanzar las metas previstas [7]. Sus principales componentes son: pensamiento abstracto, planeación, iniciación, secuenciación, monitorización e inhibición. La disfunción ejecutiva se puede manifestar por problemas del paciente para alcanzar nuevos objetivos, así como la evasión de tareas que requieren el procesamiento de datos nuevos y complejos. La disfunción ejecutiva también es aparente en la habilidad mental reducida de cambiar de escenarios mentales, generar nueva información verbal o no verbal y la ejecución de actividades motoras seriales [22]. Aunadas a las principales características generales se encuentran también: alteraciones visuoespaciales, juicio pobre, agnosognosia (falta de percepción de enfermedad), impulsividad y síntomas conductuales o neuropsiquiátricos [28]. En general, en los cuadros de deterioro cognoscitivo que no se deben a demencias sólo se encuentra un problema en la atención, sin tener otro tipo de alteraciones cognoscitivas en las pruebas neuropsicológicas.

Los estudios de imagen auxilian en el diagnóstico diferencial, en el seguimiento de la enfermedad y en la evaluación de la severidad. La tomografía axial computarizada o la imagen por resonancia magnética pueden desvelar atrofia cerebral, lesiones focales cerebrales (infartos corticales, tumores, hematomas subdurales), hidrocefalia o lesiones cerebrales periventriculares [29]. Los estudios como el Positron Emission Tomography (PET) y el Single Proton Emission Computed Tomography (SPECT), auxilian de manera más fina en el diagnóstico diferencial, para tener una localización específica de la alteración [30]. Final-

mente, se ha desarrollado un marcador de amiloide para utilizarlo con PET, que hasta el momento ha revelado utilidad en el diagnóstico diferencial entre DCL y EA; sin embargo, faltan más estudios para que sus resultados puedan ser generalizados y utilizados de manera rutinaria en la clínica [30]. El diagnóstico etiológico es útil para delimitar las diferentes características del tipo específico, ya que existen más de 55 causas que pueden provocar el síndrome demencial [31].

Las pruebas de función tiroidea son indispensables si se sospecha hipotiroidismo. La determinación de folatos y vitamina B12 se han asociado con problemas de memoria, al igual que la homocisteína [32]. La determinación de las lipoproteínas puede auxiliar en el reconocimiento de síndrome metabólico, que se ha asociado tanto a la demencia vascular como a un peor pronóstico de enfermedad de Alzheimer.

Tratamiento

Las causas no demenciales tienen su tratamiento específico: el hipotiroidismo mediante la reposición de hormona tiroidea, los déficits sensoriales mediante una adecuada utilización de dispositivos auxiliares, así como la suspensión de medicamentos cuyos efectos secundarios puedan provocar alteraciones cognoscitivas.

El tratamiento de la demencia es multimodal y se guía principalmente por la etapa de la enfermedad y la presencia de síntomas específicos manifestados por el paciente. Se puede orientar a disminuir la progresión del deterioro cognitivo o al manejo de las manifestaciones secundarias, tales como los síntomas conductuales y el colapso del cuidador. Debe comenzarse con la educación de los miembros de la familia y de los cuidadores acerca del diagnóstico, pronóstico y las opciones de intervención, incluyendo las fuentes para apoyo y cuidado. En la actualidad se encuentran disponibles los inhibidores de colinesterasa (rivastigmina, galantamina, donepezil), que han demostrado su utilidad, en EA leve a moderada. Mientras que los agonistas N-metil-D-aspartato (NMDA), como la memantina, sólo han mostrado eficacia en la demencia leve, de predominio vascular pero con una ligera mejoría en la EA [4, 32, 33].

Las intervenciones psicosociales tienen como objetivo mejorar la calidad de vida y optimizar la función a través de la psicoterapia, ejercicios cognitivos y terapias de estimulación (música, cambios en el ambiente, manejo con mascotas) [34, 35].

Complicaciones

No obstante que los síntomas neuropsiquiátricos no son parte formal de los criterios de demencia, tienen una frecuencia de 80% a 90% en el transcurso de la enfermedad y desempeñan un papel significativo en el diagnóstico, curso, severidad y tratamiento para muchos tipos de demencia. Asimismo, son los principales contribuyentes a la aparición de colapso de cuidador, disminuyen la calidad de vida y son un factor de riesgo de institucionalización [36]. A pesar de que los síntomas cognitivos han abarcado el panorama de las demencias, en los últimos 15 años la importancia de los síntomas no cognitivos se ha reconocido ampliamente [37]. Incluso, comienza a haber reportes que sugieren que se puede diagnosticar más temprano la demencia mediante la detección de esta sintomatología, aun antes de que aparezca cualquier problema cognitivo [38, 39]. En cuanto a la calidad de vida, se ha observado que no sólo disminuye la del paciente sino también la del cuidador; la depresión es uno de los síntomas que tienen mayor repercusión sobre ésta última [36].

No representan una entidad solitaria u homogénea, sino cortejos sintomáticos que pueden estar presentes en otras enfermedades, pero suelen distinguirse por su carácter temporal y de inicio después del problema cognitivo. Los cambios del estado de ánimo y la apatía aparecen temprano en la enfermedad y continúan a lo largo de ella. La agitación y la psicosis son más comunes en las etapas medias y tardías de la enfermedad [35, 40]. En el *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders IV* (DSM-IV) en sus criterios de demencia se asocian a delirium, ideas delirantes o ánimo deprimido. Del mismo modo la International Classification of Diseases (ICD) clasifica al diagnóstico de demencia con síntomas delirantes, alucinatorios, depresivos o mixtos [8, 41].

Pronóstico

No obstante que la causa del deterioro cognoscitivo no sea demencia, una vez que un sujeto comienza con problemas de memoria, se debe dar seguimiento —al menos anual— para la detección temprana de trastornos demenciales. La demencia se sigue considerando como una enfermedad terminal, dado que hasta la fecha no se ha encontrado un tratamiento efectivo para detener su progresión.

Referencias

1. Masoro, E.J. and S.N. Austad, *Handbook of the biology of aging*. 6th ed. The handbooks of aging 2006, Amsterdam ; Boston: Elsevier Academic Press. xx, 660 p.
2. Petersen, R.C., *Mild cognitive impairment : aging to Alzheimer's disease* 2003, Oxford ; New York: Oxford University Press. xiv, 269 p.
3. Moore, M.J., C.W. Zhu, and E.C. Clipp, *Informal costs of dementia care: estimates from the National Longitudinal Caregiver Study*. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci, 2001. 56(4): p. S219-28.
4. Mendez, M.F. and J.L. Cummings, *Dementia : a clinical approach*. 3rd ed 2003, Philadelphia, PA: Butterworth-Heinemann. xxiii, 654 p.
5. Sperling, R.A., et al., *Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup*. Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association, 2011.
6. Kawas, C.H., *Clinical practice. Early Alzheimer's disease*. N Engl J Med, 2003. 349(11): p. 1056-63.
7. Geldmacher, D.S. and P.J. Whitehouse, *Evaluation of dementia*. N Engl J Med, 1996. 335(5): p. 330-6.
8. American Psychiatric Association. and American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV., *Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV-TR*. 4th ed 2000, Washington, DC: American Psychiatric Association. xxxvii, 943 p.
9. *Subjective memory deficits in people with and without dementia: findings from the 10/66 dementia research group pilot studies in low- and middle-income countries*. J Am Geriatr Soc, 2009. 57(11): p.10.2118-24.
10. Ferri, C.P. and M. Prince, *10/66 Dementia Research Group: recently published survey data for seven Latin America sites*. Int Psychogeriatr, 2010. 22(1): p. 158-9.
11. Coley, N., et al., *Memory complaints to the general practitioner: data from the GuidAge study*. The journal of nutrition, health & aging, 2008. 12(1): p. 66S-72S.
12. Cardenas-Ibarra, L., et al., *Cross-sectional observations of thyroid function in geriatric Mexican outpatients with and without dementia*. Archives of gerontology and geriatrics, 2008. 46(2): p. 173-80.
13. Meguro, K., et al., *Incidence of dementia and associated risk factors in Japan: The Osaki-Tajiri Project*. J Neurol Sci, 2007. 260(1-2): p. 175-82.
14. Ravaglia, G., et al., *Incidence and etiology of dementia in a large elderly Italian population*. Neurology, 2005. 64(9): p. 1525-30.

15. Mejia, S., et al., *Cognition, functional status, education, and the diagnosis of dementia and mild cognitive impairment in Spanish-speaking elderly*. *Appl Neuropsychol*, 2004. 11(4): p. 196-203.
16. Fitzpatrick, A.L., et al., *Incidence and prevalence of dementia in the Cardiovascular Health Study*. *J Am Geriatr Soc*, 2004. 52(2): p. 195-204.
17. Fitten, L.J., F. Ortiz, and M. Ponton, *Frequency of Alzheimer's disease and other dementias in a community outreach sample of Hispanics*. *J Am Geriatr Soc*, 2001. 49(10): p. 1301-8.
18. Albalá, C., et al., [*The Health, Well-Being, and Aging ("SABE") survey: methodology applied and profile of the study population*]. *Rev Panam Salud Publica*, 2005. 17(5-6): p. 307-22.
19. Mejia-Arango, S., et al., [*Cognitive impairment and associated factors in older adults in Mexico*]. *Salud Publica Mex*, 2007. 49 Suppl 4: p. S475-81.
20. Drachman, D.A., *Aging of the brain, entropy, and Alzheimer disease*. *Neurology*, 2006. 67(8): p. 1340-52.
21. Inouye, S.K. and L. Ferrucci, *Elucidating the pathophysiology of delirium and the interrelationship of delirium and dementia*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2006. 61(12): p. 1277-80.
22. Cummings, J.L., *Alzheimer's disease*. *N Engl J Med*, 2004. 351(1): p. 56-67.
23. Assal, F., et al., *Association of the serotonin transporter and receptor gene polymorphisms in neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease*. *Arch Neurol*, 2004. 61(8): p. 1249-53.
24. Roman, G.C., *Cholinergic dysfunction in vascular dementia*. *Curr Psychiatry Rep*, 2005. 7(1): p. 18-26.
25. Roman, G.C., *Brain hypoperfusion: a critical factor in vascular dementia*. *Neurol Res*, 2004. 26(5): p. 454-8.
26. Holsinger, T., et al., *Does this patient have dementia?* *JAMA*, 2007. 297(21): p. 2391-404.
27. Geldmacher, D.S., *Differential diagnosis of dementia syndromes*. *Clin Geriatr Med*, 2004. 20(1): p. 27-43.
28. Swanberg, M.M., et al., *Executive dysfunction in Alzheimer disease*. *Arch Neurol*, 2004. 61(4): p. 556-60.
29. Bartzokis, G., et al., *White matter structural integrity in healthy aging adults and patients with Alzheimer disease: a magnetic resonance imaging study*. *Arch Neurol*, 2003. 60(3): p. 393-8.
30. Yuan, Y., Z.X. Gu, and W.S. Wei, *Fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography, single-photon emission tomography, and structural MR imaging for prediction of rapid con-*

- version to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment: a meta-analysis.* AJNR Am J Neuroradiol, 2009. 30(2): p. 404-10.
31. Mendez, M.F. and J.L. Cummings, *Dementia : a clinical approach*. 3rd ed2003, Philadelphia, PA: Butterworth-Heinemann. xxiii, 654 p., [10] p. of plates.
 32. Weiner, M.F., A.M. Lipton, and American Psychiatric Publishing., *The American Psychiatric Publishing textbook of Alzheimer disease and other dementias*. 1st ed2009, Washington, DC: American Psychiatric Pub. xviii, 557 p., 11 p. of plates.
 33. Pathy, M.S.J., A. Sinclair, and J.E. Morley, *Principles and practice of geriatric medicine*. 4th ed. / editors, M.S. John Pathy, Alan J. Sinclair, John E. Morley. ed2006, Chichester: Wiley. 2 v. (xxiv, 2016, lviii p.).
 34. Ayalon, L., et al., *Effectiveness of nonpharmacological interventions for the management of neuropsychiatric symptoms in patients with dementia: a systematic review*. Arch Intern Med, 2006. 166(20): p. 2182-8.
 35. Ballard, C.G., et al., *Management of agitation and aggression associated with Alzheimer disease*. Nat Rev Neurol, 2009. 5(5): p. 245-55.
 36. Shin, I.S., et al., *Neuropsychiatric symptoms and quality of life in Alzheimer disease*. Am J Geriatr Psychiatry, 2005. 13(6): p. 469-74.
 37. Petry, S., et al., *Personality alterations in dementia of the Alzheimer type*. Arch Neurol, 1988. 45(11): p. 1187-90.
 38. Cummings, J.L., *The impact of depressive symptoms on patients with Alzheimer disease*. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2003. 17(2): p. 61-2.
 39. Chow, T.W., et al., *Apathy symptom profile and behavioral associations in frontotemporal dementia vs dementia of Alzheimer type*. Arch Neurol, 2009. 66(7): p. 888-93.
 40. Gauthier, S., C. Ballard, and S. Lovestone, *Management of dementia*. 2nd ed2009, New York: Informa Healthcare. iv, 164 p.
 41. World Health Organization., *International statistical classification of diseases and related health problems*. 10th revision, 2nd edition. ed2004, Geneva: World Health Organization.

15 Uso de ansiolíticos en el anciano

*Alfonso Martín del Campo Laurents,¹ Isabel Cristina González Salas²
y Juan José Bustamante Rojano²*

Resumen

Este capítulo considera los aspectos diagnósticos y de tratamiento que se refieren al anciano sano y al paciente psiquiátrico anciano. La prescripción de psicofármacos a pacientes psiquiátricos ancianos puede presentar varios problemas. Sabemos que la capacidad metabólica se disminuye con la edad, la concentración sérica de proteínas puede ser menor, provocando una concentración del fármaco libre (no unido a proteínas) relativamente más alta, son más sensibles a los efectos secundarios periféricos (i. e. hipotensión, estreñimiento) que los pacientes jóvenes con la misma dosis o concentración sanguínea, y también hay más posibilidades de que se presenten efectos secundarios centrales como son: confusión, temblor, o disquinesia tardía. También tratamos los aspectos de farmacocinética y farmacodinamia en el anciano, los cuales presentan grandes diferencias con el adulto joven. Dentro de los psico-tratamientos que se utilizan en el adulto mayor están los antidepresivos y la terapia electroconvulsiva, los ansiolíticos e hipnóticos y los antipsicóticos, los anti-demenciales. Hablaremos únicamente de ansiolíticos. Se incluyen algunas tablas con los nombres de los medicamentos y se hace referencia a la forma de administrar este tipo de medicamentos en diferentes condiciones médicas. Al final se agrega una lista de referencias.

Se basa en cuatro aspectos básicos del anciano:

¹ Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

² Servicio de Salud Mental, Hospital General de México.

- Cambios psicológicos con la edad.
- Trastornos psiquiátricos en la tercera edad.
- El paciente con demencia.
- El paciente que se muere.

Introducción

En la actualidad, la psicofarmacología es una estrategia muy utilizada en toda la población. Esto se debe a que contamos con fármacos seguros, eficaces y específicos. La población de adultos mayores ha ido incrementándose y así seguirá durante los próximos 100 años, por lo que debemos estar preparados para el uso frecuente de los psicofármacos en este segmento de la población. Sin embargo, la prescripción de psicofármacos tanto en ancianos “sanos” como en pacientes psiquiátricos ancianos presenta diferencias con el adulto joven, incluso pueden suscitarse varios problemas.

Cambios fisiológicos del envejecimiento

Los ancianos son especialmente sensibles a los efectos de todo tipo de fármacos. Existen varias razones para ello:

- Función cardiaca, presenta una disminución del gasto cardiaco y de la perfusión a otros órganos.
- Función renal, la cual se encuentra disminuida debido a bajos niveles de flujo sanguíneo renal y de rango de filtración glomerular.
- Función hepática, la cual se encuentra frecuentemente comprometida.
- Función cerebral, la cual también puede encontrarse comprometida debido a una variedad de factores.

Por otro lado, sabemos que la capacidad metabólica disminuye con la edad, la concentración sérica de proteínas puede ser menor, provocando una concentración del fármaco libre (no unido a proteínas) relativamente más altas, son más sensibles a los efectos secundarios periféricos (i. e. hipotensión, estreñimiento) que los pacientes jóvenes con la misma dosis o concentración sanguínea, y tam-

bién hay más posibilidades de que se presenten efectos secundarios centrales como son: confusión, temblor, desequilibrio, o disquinesia tardía.

Por estas razones, antes de prescribir cualquier fármaco psicoactivo, el médico debe estar al tanto del *status* físico del paciente anciano. De la misma manera el médico deberá hacer una detallada historia del uso de fármacos que ha tenido el paciente. Esto incluye tener una lista completa de los medicamentos y dosis que ha tomado el paciente en los últimos 6 meses, incluyendo los medicamentos sin receta (*over the counter*) que los ancianos utilizan con frecuencia para auto-medicalcarse, los remedios naturales y el uso de alcohol y otras sustancias. Una buena historia del uso de medicamentos nos permite confirmar el uso de varios fármacos recetados por diferentes médicos, los cuales no saben que otros médicos han estado recetando. Todo esto nos ayudará a:

- Identificar fármacos o manejos innecesarios.
- No-adherencia.
- Interacciones farmacológicas adversas potenciales o actuales.

Con respecto a este último aspecto, la interacción entre psicotrópicos y otros fármacos es un asunto frecuentemente complicado. Incluso, algunas enfermedades pueden interferir con el uso de psicotrópicos. Por ejemplo, el uso de antipsicóticos atípicos puede ser complicado en pacientes ancianos diabéticos.

Aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos

Existe un acuerdo general en relación a que los pacientes ancianos representan una población difícil para manejar la administración de psicofármacos. Los cambios físicos que acompañan al envejecimiento frecuentemente producen alteraciones en las acciones farmacológicas de los fármacos, como por ejemplo la sensibilidad de los receptores. Además de esto, la absorción y distribución se modifican debido a un flujo sanguíneo alterado, a la composición del cuerpo, al metabolismo hepático, a la unión a proteínas y a la excreción renal. Otros factores, como el consumo de alcohol o cafeína, pueden tener un impacto en la acción de estos fármacos. Debido a estos cambios relacionados con el envejecimiento, el médico que prescribe deberá tener en cuenta:

- Iniciar el tratamiento a dosis bajas.
- Aumentar la dosis gradualmente con pequeños incrementos cada varios días o semanas.
- Vigilar regularmente si el paciente ha presentado el efecto terapéutico deseado o algún afectos adverso.
- Tratar de individualizar y simplificar lo mejor posible el régimen farmacológico.
- Garantizar un esfuerzo conjunto entre paciente, cuidadores y médico para lograr el mejor apego al tratamiento y reducir errores en la administración de medicamentos.

Uso de ansiolíticos y sedantes-hipnóticos en el adulto mayor

Abordaje farmacológico con ansiolíticos

Ansiolíticos serotoninérgicos

Existen una variedad de fármacos ansiolíticos no-benzodiazepínicos. Tal es el caso de los llamados ansiolíticos serotoninérgicos, como la buspirona, que es un agonista parcial del receptor 5HT_{1A} el cual se utiliza en pacientes con ansiedad crónica y persistente, en pacientes con abuso de sustancias como trastorno comórbido, y en pacientes adultos mayores, porque es bien tolerada y no tiene interacciones farmacocinéticas significativas. Este medicamento muestra eficacia en la ansiedad y la AG en algunos modelos animales, lo cual apunta hacia un papel importante de la serotonina en mediar síntomas de ansiedad a través del receptor 5HT_{1A}. También se ha visto que la buspirona tiene un papel como apoyo en el tratamiento de la depresión resistente.

Ansiolíticos noradrenérgicos

Cuando se estimula eléctricamente el locus coeruleus para hacerlo hiperactivo se crea un estado análogo a la ansiedad en animales de experimentación. Por lo tanto, se cree que la hiperactividad de las neuronas noradrenérgicas es el mecanismo subyacente de los estados de ansiedad. Ciertamente hay ejemplos de sínto-

mas ansiosos que consisten en hiperactividad noradrenérgicas como son la taquicardia, el temblor y la sudoración.

Si la hiperactividad de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus se asocia con la ansiedad, es de suponerse que la administración de un alfa-2 agonista actuaría de manera similar a la acción de la misma noradrenalina en los autoreceptores alfa-2 presinápticos. Por lo tanto, la ansiedad puede ser reducida debido a que los agonistas alfa-2 estimulan los autorreceptores alfa-2, poniendo un freno a la liberación de noradrenalina. De hecho la clonidina, un alfa-2 agonista, tiene acciones ansiolíticas reconocibles. La clonidina es especialmente útil en bloquear los aspectos noradrenérgicos de la ansiedad (taquicardia, dilatación de pupilas, sudoración y temblor).

La hiperactividad de las neuronas noradrenérgicas durante los estados de ansiedad crea una gran actividad de noradrenalina postsináptica particularmente en los receptores beta. Como esto es consistente con la hipótesis de un estado de exceso noradrenérgicos durante la ansiedad, es posible reducir los síntomas ansiosos en algunos casos con la administración de bloqueadores beta-adrenérgicos. Esto puede ser especialmente útil en el tratamiento de la fobia social (tabla 1).

TABLA 1. Recomendaciones de tratamiento para algunos de los trastornos psiquiátricos en el adulto mayor

<i>Trastorno</i>	<i>Recomendación</i>	<i>Evitar</i>
Ansiedad	Benzodiazepinas, buspirona	Antidepresivos, antihistamínicos, barbitúricos
Depresión	ISRS, ADT de aminas secundarios, trazodona, bupropion	IMAO [a menos de que se trate de una depresión atípica]
Insomnio	Benzodiazepinas, zolpidem	Antidepresivos, antihistamínicos (incluyendo OTC), barbitúricos, hipnóticos no-barbitúricos
Manía	Litio, ácido valpróico	—
Psicosis, agitación	Antipsicóticos, trazodone, anticonvulsivos	Antihistamínicos, barbitúricos, benzodiazepinas, ISRS

Abreviaturas: ISRS = inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina; ADT = antidepresivos tricíclicos; IMAO = inhibidores de la recaptura de serotonina; OTC = Over The Counter [sin receta].

Las benzodiazepinas

Las benzodiazepinas son, con notable diferencia, los psicofármacos más prescritos en adultos y adultos mayores, aunque en los últimos años se haya observado un ligero descenso. Ello es debido, sin ninguna duda, a las muchas recomendaciones que recientemente se han venido haciendo sobre el uso más racional de estas sustancias, y que pueden resumirse en los siguientes puntos:

- Deben prescribirse a partir de un diagnóstico claro y como fármaco de primera elección. Hay que evitar su administración cuando sólo pretendemos efectos coadyuvantes (es habitual observar cómo la ansiedad, que casi siempre acompaña a las depresiones, mejora al poco tiempo de tratamiento con antidepressivos sin necesidad de administración de benzodiazepinas).
- Se debe evitar el efecto de *tolerancia* y *dependencia*, desaconsejándose su uso crónico, las pautas demasiado flexibles y la autoadministración. Hay que poner especial cuidado en pacientes con historia de *abuso de fármacos*.
- Deben evitarse los efectos adversos, en especial los efectos *sobresedativos*, excluyéndose las dosificaciones altas, reservándolas para casos absolutamente necesarios durante cortos periodos de tiempo.

La acción de las benzodiazepinas en el SNC sobre el más importante sistema central inhibitorio GABA (ácido gamma amino butírico), y las acciones sobre los demás monoaminas derivadas de la estimulación GABA, constituyen la base neuroquímica del efecto ansiolítico y de los efectos secundarios de estos fármacos de elección en el tratamiento de la ansiedad.

En el adulto mayor, la ralentización en la absorción de benzodiazepinas es muy discreta y sin traducción clínica significativa. Sin embargo, la distribución y la eliminación de estas sustancias sí sufren alteraciones de importancia con la edad. La vida media plasmática se alarga de 3 a 4 veces entre los 20 y los 80 años de edad. Esta prolongación se debe a una reducción del aclaramiento hepático y a un mayor volumen de distribución del fármaco. Lo anterior tiene especial importancia en los fármacos más insolubles y en los que se metabolizan por el sistema microsomal hepático (tabla 2).

TABLA 2. Vida media de las benzodiazepinas

<i>Compuestos de vida media "larga" (long acting)</i>	<i>Vida media plasmática en horas</i>	<i>Características</i>
Clordiazepoxido	5- 30	Acumulación del metabolito principal, mas allá de 3-4 semanas
Diazepam	20-100	
Medazepam		Se transforma en diazepam
Clorazepato		Se transforma en el metabolito del diazepam, desmetildiazepam
Prazepam		No alcanza circulación sistémica. Precursor del desmetildiazepam
Pinazepam		Pro-desmetil diazepam
Flurazepam	50- 100	Comercializado como hipnótico, por su vida media tan larga no es adecuado como hipnótico pero sí como ansiolítico
Flunitrazepam	20- 30	Uso como hipnótico
Clonazepam	24- 48	Comercializado como antiepiléptico. Excelente como hipnótico y como ansiolítico, y sus dos metabolitos son inactivos. Por su vida media no tan larga, puede ser ideal.
Clobazam	18- 50	Su metabolito desmetilclobazam se acumula hasta 8 veces más que el clobazam. Pocos efectos adversos
<i>Compuestos de vida media "intermedia-corta" (short acting)</i>		
Nitrazepam	20- 30	Hipnótico, vida media no muy larga.
Bromazepam	10- 20	Compuesto pro-nordiazepam pero de vida media más corta
Estazolam	10- 30	
Alprazolam	6- 20	Acción rápida pónica y ansiolítica. Riesgo de tolerancia y dependencia
Temazepam	8	Rápidamente absorbido y eliminado, con pico de 1 hora, hipnótico ideal
Lorazepam	10-15	Metabolitos inactivos. Indicados en cirróticos y adultos mayores de edad avanzada. Riesgo de rebote y dependencia
Oxazepam	4-15	
<i>Compuestos de vida media "ultra-corta" (ultra-short acting)</i>		
Triazolam	2	Igual al Temazepam. Hipnótico ideal
Midazolam	2	

En el adulto mayor es frecuente el fenómeno de *sobresedación* por acumulación de dosis, y son más intensos los efectos derivados de la interacción con otras sustancias. Por todo ello, la elección de la benzodiazepinas —teóricamente ideal

en el adulto mayor— la realizaremos según sus características farmacocinéticas, su efecto farmacodinámico y teniendo en cuenta el estado físico previo del sujeto.

La clasificación farmacocinética en benzodiazepinas de vida media larga, corta o ultracorta se ha hecho popular. En principio parece lógico suponer que las de vida media más corta conllevan menos riesgos de acumulación, ya que su eliminación es rápida y sus metabolitos son inactivos (temazepam, lorazepam, oxazepam, triazolam), aunque existe uno de vida media no tan larga (clonazepam) cuyos metabolitos no se acumulan, lo que las convertiría en las benzodiazepinas de primera elección en el adulto mayor (tabla 3). Sin embargo deben hacerse algunas puntualizaciones:

- Una vida media más corta no significa un efecto ansiolítico más reducido en el tiempo, ya que éste depende de la velocidad de distribución; así, el efecto ansiolítico de las primeras dosis de diazepam puede tener un tiempo de acción más corto que el del oxazepam, a pesar de que su vida media sea mucho mayor, porque el diazepam tiene una distribución mucho más rápida que el oxazepam y el lorazepam.
- Con las benzodiazepinas de vida media más corta y ultracorta pueden aparecer más fenómenos de ansiedad-rebote, pudiendo ser ésta más intensa que la ansiedad basal de la que parte el adulto mayor.
- Los riesgos de las benzodiazepinas de vida media larga pueden evitarse espaciando las dosis, lo que en muchas ocasiones revierte en un mejor cumplimiento de las órdenes médicas.

Acción farmacodinámica de las benzodiazepinas

Además del efecto ansiolítico, las benzodiazepinas tienen, en mayor o menor grado, efectos miorrelajantes, anticonvulsivantes, hipnóticos y producen disfunciones en el rendimiento intelectual. Este último punto es de gran importancia en el adulto mayor, ya que de por sí es más vulnerable a sufrir alteraciones de la esfera cognitiva.

Las alteraciones más frecuentes son las mnésicas, sobre todo en cuanto a la memoria anterógrada, y cierta disminución en la capacidad de decisión. Estas alteraciones se han observado tanto con benzodiazepinas de vida media larga como en las de vida media corta. Tales efectos suelen ser mayores durante las primeras semanas de tratamiento, y sólo con el clonazepam se ha observado que dichos

efectos adversos no se presentan en dosis bajas y en pacientes que no hayan desarrollado tolerancia.

TABLA 3. Nombres comerciales, genéricos, laboratorios y dosis recomendadas en el adulto mayor de benzodiazepinas disponibles en México

<i>Nombre comercial</i>	<i>Nombre genérico</i>	<i>Laboratorio</i>	<i>Dosis en el adulto mayor</i>
<i>Dormicum</i>	Midazolam; compr	Roche	5 - 7.5 mg.
<i>Dormicum</i>	Midazolam; sol. iny	Roche	5 - 7.5 mg.
<i>Halcion</i>	Triazolam; tabletas	Pfizer	0.125 mg.
<i>Imovane</i>	Zopiclona; compr	Aventis Pharma	3.75 - 7.5 mg.
<i>Lindormin</i>	Brotizolam; compr	Boehringer Ingelheim	0.125 mg.
<i>Nocte</i>	Zolpidem; tabletas	Armstrong	5 - 10 mg.
<i>Stilnox</i>	Zolpidem; tabletas,	Sanofi-Synthelabo	5 - 10 mg.
<i>Valium 10</i>	Diazepam; sol. iny	Roche	2.5 - 5 mg.
<i>Alzam</i>	Alprazolam; tabletas	Psicofarma	0.25 - 0.50 mg.
<i>Atarax</i>	Hidroxizina; tabletas	UCB	10- 25 mg.
<i>Ativan</i>	Lorazepam; tabletas	Wyeth	0.5 - 1 mg.
<i>Farmapram</i>	Alprazolam; tabletas	IFA	0.25 - 0.50 mg.
<i>Irizz</i>	Alprazolam; tabletas	Probiomed	0.25 - 0.50 mg.
<i>Lexotan</i>	Bromazepam; compr	Roche	1.5 - 3 mg.
<i>Neupax</i>	Alprazolam; comp subl	Armstrong	0.50 mg.
<i>Neupax</i>	Alprazolam; tabletas	Armstrong	0.25 - 0.50 mg.
<i>Otedram</i>	Bromazepam; tabl	Psicofarma	1.5 - 3 mg.
<i>Tafil</i>	Alprazolam; tabletas	Pfizer	0.25 - 0.50 mg.
<i>Tafil Ap</i>	Alprazolam; tab lib prol	Pfizer	0.50 mg.
<i>Tranxene</i>	Cloracepato Dipotásic; cáps,	Sanofi-Synthelabo	5 - 10 mg.
<i>Victan</i>	Loflfacepato De Etilo; comp	Sanofi-Synthelabo	0.5 - 1 mg.
<i>Rivotril</i>	Clonazepam; comp	Roche	0.5 mg.
<i>Rivotril</i>	Clonazepam; gotas	Roche	0.5 mg.

Tratamiento del insomnio en el adulto mayor

Como ya se mencionó anteriormente, existen dos tipos: 1) insomnio primario o psicofisiológico y 2) el insomnio secundario (a algún problema medico), por lo que se hace imprescindible el diagnóstico clínico global en que éste se enmarca. De tal manera que cuando el insomnio es secundario a un síndrome depresivo

(insomnio de la 2ª o 3ª etapa de la noche, despertar de madrugada o matutino temprano), no debemos sorprendernos si la administración de hipnóticos tenga un efecto escaso, y que aun tras la administración de hipnóticos potentes, incluso a dosis superiores a las recomendadas, el paciente siga despertándose a las 2 o a las 3 de la madrugada. En el caso de la depresión, el insomnio mejora concomitantemente con los otros síntomas depresivos, incluso algo antes, por lo que podría decirse que, en estos casos, el mejor hipnótico pudiera ser el propio antidepresivo y que un tratamiento con benzodiazepinas sólo estaría justificado al inicio, cuando existen niveles de ansiedad elevados o cuando el paciente presenta una acción hipnótica adecuada con dosis bajas. Esto nos hace reflexionar sobre la preocupación de algunos familiares, o del mismo paciente adulto mayor que durante algún tiempo ha tomado dosis bajas de una benzodiazepina antes de dormir logrando un sueño satisfactorio, a “volverse adicto” a esos medicamentos. Es claro que si el paciente lleva meses o incluso años tomando una dosis baja y siempre la misma (el famoso “un cuartito de tableta”), no le va a pasar nada si sigue tomando la misma dosis del mismo medicamento, pero corresponde al médico tratante explicarlo a la familia y al mismo paciente y así continuar con un tratamiento seguro y eficaz del insomnio. En el caso del insomnio por un cuadro psicótico, los hipnóticos de elección serán los propios antipsicóticos.

Las quejas más frecuentes de los adultos mayores que reciben benzodiazepinas son: resaca por las mañanas, embotamiento intelectual, disminución de la coordinación motora, desequilibrio, somnolencia diurna, mayor riesgo de accidentes. En este sentido probablemente los hipnóticos de vida media corta (clonazepam, triazolam, midazolam, temazepam) prácticamente están desprovistos de estos efectos, por lo que pudieran ser los medicamentos más aconsejables en el adulto mayor insomne (tabla 4).

TABLA 4. Agentes sedantes-hipnóticos

<p>No-benzodiazepinas nuevas Inicio rápido, acción-corta <i>Zaleplon, Zolpidem, Zopiclone</i></p> <p>Benzodiazepinas <u>Inicio rápido, acción ultra-corta</u> <i>Triazolam</i> <u>Inicio retardado, acción corta</u> <i>Temazepam, Estazolam</i> <u>Inicio rápido, acción larga</u> <i>Flurazepam, clonazepam</i></p> <p>Antidepresivos sedantes <i>Tricíclicos</i> <i>Trazodona</i> <i>Mirtazapina</i> <i>Nefazodona</i></p>	<p>Antihistamínicos sedantes (pueden estar disponibles sin receta = OTC) <i>Difenhidramina</i> <i>Doxilamina</i> <i>Hidroxizina</i></p> <p>Anticolinérgico sedantes (OTC) <i>Escopolamina</i></p> <p>Productos naturales <i>Melatonina</i> <i>Valeriana</i> <i>Te de Tila</i></p> <p>Sedantes-hipnóticos antiguos Hidrato de cloral</p> <p>Sedantes-hipnóticos y antipsicóticos <i>Haldol</i> <i>Melleril</i></p>
---	---

Referencias

- Elliott RA, Woodward MC, Osborne CA. Improving benzodiazepine prescribing for elderly hospital inpatients using audit and multidisciplinary feedback. *Intern Med J.* 2001 Dec;31(9):529-35.
- Herrerao Velasco H., Sabanés Megriña F., Payes Avelli E. *Trastornos Psíquicos de la Tercera Edad.* Hoecht Ibérica S.A. Barcelona, 1985.
- Llorente MD, David D, Golden AG, Silverman MA. Defining patterns of benzodiazepine use in older adults. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2000 Fall;13(3):150-60.
- Madhusoodanan S, Bogunovic OJ. Safety of benzodiazepines in the geriatric population. *Expert Opin Drug Saf.* 2004 Sep;3(5):485-93.
- Nemeroff C.B., Schatzberg A.F. *Recognition and Treatment of Psychiatric Disorders.* American Psychiatric Press, Washington D.C. 2001.
- Pagel JF. Medications and their effects on sleep. *Prim Care.* 2005 Jun; 32(2):491-509

Petrovic M, Mariman A, Warie H, Afschrift M, Pevernagie D. "Is there a rationale for prescription of benzodiazepines in the elderly?" Review of the literature. *Acta Clin Belg*. 2003 Jan-Feb;58(1):27-36.

Ramesh M, Roberts G. Use of night-time benzodiazepines in an elderly inpatient population. *J Clin Pharm Ther*. 2002 Apr; 27(2):93-7.

Stahl S.M. *Essential Psychopharmacology*. Second Edition, Cambridge University Press, 2002.

16 Disposición de los fármacos en el anciano

Pietro Fagiolino,¹ Rosa Eiraldi¹ y Marta Vázquez¹

La calidad de vida y el bienestar de la población de las sociedades modernas forman parte de los objetivos y metas tanto de los gobiernos locales como de las organizaciones internacionales. Son múltiples las tasas estadísticas o índices que se miden regularmente para evaluar y seguir el desarrollo de las poblaciones. Así es como se han definido indicadores que contemplan, por ejemplo, aspectos económicos, educacionales y de salud. La mortalidad infantil y la expectativa de vida al nacer son parte de esta última categoría de índices.

Una baja tasa de mortalidad infantil por toda causa y una esperanza de vida superior a los 70 años, parcialmente se asocian a una calidad de vida deseable a ser alcanzada por una comunidad. A partir de la estructura etaria social una amplia franja de población añosa es traducida como una señal, parcial al menos, de desarrollo social. Importa por lo tanto conocer las particularidades de esta edad en cuanto a la absorción y disposición de los medicamentos, con el objetivo de hacer un más seguro y eficaz uso del mismo en el paciente geriátrico.

Estructura temporal de las funciones vitales

Desde un punto de vista evolutivo, a partir del nacimiento de una persona y hasta su fallecimiento tienen lugar cambios sucesivos en su fisiología. La maduración, funcionamiento óptimo y declinación de las funciones vitales van sucediéndose

¹ Biofarmacia y Terapéutica, Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Química. Universidad de la República (Uruguay).

al pasar las décadas, no sólo desde la *performance* o comportamiento de la función propiamente dicha, sino también en relación a su estructura temporal y cíclica (Haus & Touitou, 1997).

La estructura temporal de las funciones vitales no es un patrimonio de la especie humana. Los ciclos fisiológicos refieren a la adaptación al entorno cambiante. La sobrevida se traduce como capacidad de adaptación y se encuentran variaciones cíclicas de distinta frecuencia en las funciones de seres unicelulares y en medios de cultivo *in vitro* (Moore, 1997; Smolensky & Peppas, 2007).

Si bien la cronobiología estudia las frecuencias ultradianas, circadianas, infradianas, circaseptanas, estacionales y anuales del comportamiento de los seres vivos, es fundamentalmente en relación a los ritmos circadianos que se ha enfocado la mayoría de los estudios en humanos. Desde esta perspectiva, sobrevivir es aprender desde lo más profundo de la fisiología individual a cambiar acompasadamente con el medio ambiente, en sincronía con el entorno. Adaptarse es saber traducir las señales de transformación externa del medio en la oportuna modificación fisiológica interna que permita la adecuación del organismo a la nueva situación ambiental. Este proceso de aprendizaje es individual y comienza ya desde la vida intrauterina (Haus & Touitou, 1997; Hastings, 1997).

Mientras un recién nacido va desarrollando sus funciones vitales en un proceso no homogéneo de maduración, también las va estructurando en el tiempo. En las mejores condiciones, al cabo de 24 meses aproximadamente desde su nacimiento la mayoría de sus ritmos vitales progresan desde una frecuencia ultradiana como neonato a una frecuencia fundamentalmente circadiana, semejante a la estructura temporal del adulto joven. Este aprendizaje de transposición de ritmos es esencial para su desarrollo y adaptación (Haus & Touitou, 1997).

Décadas después, durante el envejecimiento, los cambios consecuentes a la declinación de las funciones vitales promueven otra transposición paulatina de los ritmos internos, desde una estructura circadiana a infradiana. La maduración desarrollada en la infancia y pubertad se caracteriza por ser un proceso no homogéneo. Del mismo modo la declinación de las funciones vitales durante el envejecimiento es un proceso altamente heterogéneo, variando en velocidad e intensidad órgano a órgano y sistema a sistema en un mismo individuo, y también entre individuos de la misma edad y condición.

La alta variabilidad del proceso individual de envejecimiento hace de la población anciana un desafío continuo en la adecuación del tratamiento medica-

mentoso a la mejor respuesta farmacológica y aún así, a pesar de los esfuerzos, en ocasiones dicha respuesta es a veces trágicamente sorprendente (Greenblatt *et al.*, 1991). La clave para entender la diferente disposición de los fármacos en la población geriátrica está en la adaptación a los cambios propios del envejecimiento que el individuo realiza de su función cardiovascular. Los alimentos y el oxígeno que provienen del medio externo se internalizan por medio del sistema cardiovascular hacia los diferentes tejidos corporales. El aparato circulatorio participa también de la detoxificación de sustratos generados por la maquinaria bioquímica que sostiene la vida. Los medicamentos no son ajenos a este proceso, y por ello lo que suceda con la función cardiovascular repercutirá en la absorción y disposición de los fármacos.

Mecanismos de adaptación de la función cardiovascular

La estructura del reloj biológico interno comporta un reloj central conformado por un conjunto de neuronas especializadas, individualizado como Núcleo Supra Quiasmático (NSQ) ubicado en el hipotálamo, y además múltiples relojes periféricos que en condiciones normales funcionan acompasadamente con el reloj central. Cada célula del tejido cardiovascular, incluyendo corazón y aorta, cardiomiocitos, células del músculo liso vascular y las células endoteliales tienen un ritmo biológico intrínseco (Hastings, 1997; Moore, 1997; Takeda & Maemura, 2011).

La base molecular de la estructura temporal de las funciones vitales comprende un modelo de *feedback* en la transcripción de ciertos genes reloj específicos. El producto de esta transcripción son proteínas que se comportan como señales positivas o negativas de la misma transcripción. El resultado es una variación cíclica de las funciones vitales, con una oscilación de amplitud y frecuencia definidas.

A su vez, hay señales externas disparadas por mediadores extracelulares que pueden alterar el ciclo de la transcripción de estos genes. Se dice que estas señales con capacidad de encarrilar o desencarrilar el reloj biológico son marcadores de la oscilación: *timekeepers* o en alemán *zeitgebers*. Se cree que la luz (el ciclo luz-oscuridad) es el marcador más poderoso. La actividad física y mental, la ingesta de alimentos son otros marcadores, señales externas que encarrilan, estructuran los ritmos internos.

Estas señales externas provenientes del entorno son convertidas en mediadores químicos endógenos que son *zeitgebers* endógenos de las células constituyentes de los relojes central y periféricos. En el mejor de los casos la oscilación armónica, encarrilada en lo interno y sincronizada con el ambiente, constituye la adaptación.

Los *zeitgebers* periféricos parecen ser señales territoriales. Por ejemplo, hay genes reloj específicos en las células endoteliales y en las células del músculo liso vascular. En ellas la Angiotensina II se comporta como *zeitgeber*, mientras que en los cardiomiocitos el oscilador intrínseco dispone de la noradrenalina como *zeitgeber* (Takeda & Maemura, 2011).

La presión arterial posee un ritmo circadiano que ha sido intensamente estudiado, con un marcado descenso en los valores tanto sistólicos como diastólicos durante la noche en personas normotensas, que poseen actividad diurna, con un pico fundamental durante las primeras horas de la mañana y otro secundario inmediatamente después del mediodía (Hermida *et al.*, 2007).

La variación cíclica de la presión arterial se considera como resultante de la señalización tanto de factores intrínsecos (dentro de los cuales figuran activación adrenérgica y oscilación del cortisol, renina, aldosterona, péptido vasoactivo intestinal y péptido natriurético atrial) como de factores extrínsecos (ciclo de sueño-vigilia, actividad física, estado emocional, ingestas, etc.) (Takeda & Maemura, 2011)

En pacientes hipertensos hay una gama de perfiles de variación diaria de los valores de la presión arterial (abarcando todas las horas de la noche subjetiva y del día subjetivo) constituyendo subpoblaciones de hipertensos de acuerdo a que sus valores nocturnos desciendan respecto del día: *dippers*; o por el contrario, se eleven durante el descanso nocturno: *non dippers*.

La pérdida del adecuado y oportuno descenso nocturno de la presión arterial durante las horas de reposo configura un escenario de riesgo significativo de daño en distintos órganos. Los pacientes hipertensos *non dippers* presentan mayor riesgo de hipertrofia ventricular izquierda, insuficiencia cardíaca, infarto agudo de miocardio, accidente vascular encefálico y albuminuria en relación con el riesgo correspondiente a los pacientes hipertensos *dippers*. Los *non dippers* son más susceptibles al daño cardíaco y renal. El cociente entre los valores de la presión arterial durante las horas de vigilia y de sueño en relación a los de vigilia parece definirse como el mejor predictor de riesgo cardiovascular. Podría interpretarse como que la desorganización del acoplamiento entre las horas de descanso y los

niveles de presión arterial correspondientes, predisponen a menor calidad de vida y mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares (Hermida *et al.*, 2007; Takeda & Maemura, 2011).

La resincronización, como reorganización de la distorsión del ciclo mediante el ajuste de la hora de la toma de la medicación antihipertensiva fue evaluada en el estudio MAPEC (*Ambulatory Blood Pressure Monitoring for Prediction of Cardiovascular Events*). Aquellos pacientes que ingerían por lo menos un medicamento antihipertensivo al acostarse presentaron un menor riesgo de enfermedad cardiovascular que aquellos que ingerían toda la medicación antihipertensiva por la mañana (Takeda & Maemura, 2011).

Los ritmos biológicos son oscilaciones autosostenidas de origen endógeno. Ritmos y relojes biológicos son estrategias adaptativas: se organiza el medio interno según el medio ambiente en una anatomía temporal que permita adecuaciones a la variación del entorno (Smolensky & Peppas, 2007).

La organización normal de los ritmos circadianos endógenos es crítica en el mantenimiento de la homeostasis. La alteración de los ritmos circadianos induce a la progresión del daño orgánico.

Con la edad, la habilidad para mantener la hemodinamia y los ciclos de la homeostasis deriva en menos eficacia. En tanto proceso paulatino que transcurre con múltiples variaciones en parámetros y funciones biológicas, el envejecimiento se puede asociar a una pérdida de la capacidad de adaptación, a una desincronización paulatina (Turheim, 2003; Fagiolino *et al.*, 2006; Vázquez *et al.*, 2010; Mayersohn, 1994).

En el anciano las funciones se mantienen por encima de un nivel basal pero los ajustes del sistema como respuesta a una situación de *stress* son insuficientes; los mecanismos que posibilitan la autorregulación de la temperatura corporal, pH de la sangre, presión arterial, perfusión sanguínea de los órganos individuales y ritmo cardíaco están restringidos. La reserva funcional varía ampliamente en la población añosa (Turheim, 1998; Turheim, 2003).

Simultáneo con el declive no homogéneo de las funciones biológicas, durante el envejecimiento se promueven cambios en la farmacocinética y en la farmacodinamia de los fármacos. La relación entre la concentración plasmática, la concentración en la biofase, el efecto y la respuesta farmacológica puede diferir con respecto al adulto joven, volviendo a veces el ajuste de concentraciones en plasma a los intervalos terapéuticos estándares una herramienta riesgosa, si no engañosa.

Las diferencias en la disposición de los fármacos en el anciano y la pérdida de los mecanismos de ajuste de la homeostasia se reflejan en la mayor intensidad de la acción farmacológica y la severidad de las reacciones adversas de medicamentos utilizados frecuentemente en esta franja etaria (Turheim, 2003; Hajjar, 2005).

La resincronización promueve un restablecimiento del equilibrio adaptativo entre el medio interno y el ambiente. De ahí la importancia de la cronoterapia: administrar los medicamentos necesarios bajo una forma de liberación y a una hora del día convenientes, de forma de colaborar en la reversión de la desincronización causada por la patología, reorganizando la estructura temporal de las funciones vitales para prevenir y controlar mejor la enfermedad (Hermida *et al.*, 2007).

Impacto del envejecimiento sobre la farmacocinética de los medicamentos administrados por vía oral

Absorción

El proceso de absorción de un medicamento, según esta vía, involucra etapas que se desenvuelven en la luz del tracto digestivo (estómago, intestino) y etapas que se llevan a cabo fundamentalmente en el tejido gastrointestinal y hepático. Finalmente, como resultado del proceso el fármaco se hace disponible por todos los órganos de la economía mediante suministro de una concentración idéntica en todas las arterias de la gran circulación. La biodisponibilidad de la molécula administrada podría afectarse en el anciano tanto en velocidad como en cantidad.

Velocidad de absorción

La disolución de la droga puede verse comprometida en virtud de las menores secreciones digestivas del paciente geriátrico (Mayersohn, 1994), tanto en volumen como en la concentración hidrogeniónica estomacal (aclorhidria). Esta situación lleva a una más lenta liberación desde la forma farmacéutica. Asimismo, la disminución de la motilidad gastrointestinal ralentiza la aparición de la molécula disuelta en las primeras (duodeno) y siguientes porciones del intestino delgado, sitios desde donde el proceso de permeación hacia el medio interno tiene su mayor intensidad. Una vez alojada la sustancia en el torrente sanguíneo de los

vasos mesentéricos se transporta a la velocidad que le proporciona el incesante bombeo cardíaco. Dado que el gasto cardíaco está disminuido en el anciano (Cheitlin, 2003), dicho transporte es más lento que en el adulto joven. Estos factores determinan en buena medida la más lenta velocidad de absorción que se verifica para la mayoría de los fármacos.

La menor expresión de transportadores de eflujo en las membranas del borde apical de enterocitos y hepatocitos (barrera hepatobiliar) reduciría el retorno de la molécula a la luz intestinal. Sin embargo, este fenómeno de mayor permeación que presentaría el anciano no resulta suficiente como para contrarrestar los lentos procesos mencionados anteriormente.

Cantidad absorbida

Los mismos fenómenos enunciados previamente inciden de manera directa en la fracción de dosis que se hace biodisponible en sangre. La más lenta disolución podría ser de tal magnitud que impidiera la total liberación del ingrediente activo desde la formulación. El más lento vaciamiento gástrico y de movimiento peristáltico intestinal podría, por otro lado, aumentar la estadía en tramos digestivos de muy alta tasa de absorción (duodeno, yeyuno, íleon), y de este modo aumentar el rendimiento en la permeación hacia el medio interno. La más reducida expresión de transportadores de eflujo haría menos restringida la difusión hacia el interior celular de la mucosa intestinal, y por ende más saturables los procesos biotransformadores catalizados por las enzimas allí localizadas, conduciendo a una menor eliminación presistémica (McLean & Le Couteur, 2004), es decir, a una mayor biodisponibilidad en el anciano.

Actuaría en contra de este aumento de biodisponibilidad el lento pasaje por los capilares hepáticos (Zoli *et al.*, 1989), permitiendo que el hígado pudiera extraer más eficientemente parte del contenido portal y así contribuir de manera significativa a la eliminación metabólica presistémica. Sin embargo, algunas investigaciones sugieren que el endotelio sinusoidal hepático pierde permeabilidad con el envejecimiento (Le Couteur *et al.*, 2005) al cerrarse ventanas para la transferencia hacia el intersticio (espacio de Disse), y con ello perdería eficiencia la extracción hepática. No obstante, las drogas de alta lipofilia muy probablemente no sufran este impedimento, pues difunden a través de las membranas de las células endoteliales y por tanto podrían igualmente acceder al hepatocito. Las eviden-

cias experimentales muestran un significativo aumento de biodisponibilidad oral en el anciano, por lo que esta hipótesis quizás no sea de suficiente peso para primar en esta etapa farmacocinética.

En resumen, la biodisponibilidad oral en el paciente geriátrico estaría ralentizada pero con cierto aumento de la fracción de dosis biodisponible (Hammerlein *et al.*, 1998).

Disposición

Cuando la droga está circulando en la sangre se somete a la interacción con las diferentes estructuras orgánicas (receptores, transportadores, enzimas, etc.), las cuales disponen de ella para distribuirla a los diferentes niveles de profundidad tisular, o para eliminarla del organismo, ya sea excretándola al medio externo de manera irreversible o biotransformándola a una entidad química diferente (metabolito).

Distribución

El pasaje desde el espacio intravascular al extravascular requiere que la molécula se encuentre en un estado termodinámico apto para la transferencia a nivel capilar. Libre en plasma y no ionizada son las formas más apropiadas para transferirse al espacio intersticial en aquellos territorios donde la barrera endotelial se interpone al paso dejando tan sólo membranas citoplasmáticas o poros intercelulares pequeños (cerebro, por ejemplo). En otros órganos la extravasación discurre sin mayores obstáculos, como en el hígado, o con alguna restricción estérica como sucede a nivel de los glomérulos renales, donde podrían filtrarse drogas de alta hidrofilia y peso molecular menor a 60 kDa.

Albúmina y alfa-1-glicoproteína ácida son las dos proteínas plasmáticas más importantes para ligar fármaco e incrementar su concentración plasmática en los pacientes. En los ancianos la cantidad de albúmina en sangre puede disminuir, pero más debido a enfermedades que se hacen frecuentes en dicha etapa de la vida, que debido a la propia edad del individuo. Por el contrario, la alfa-1-glicoproteína ácida, que liga preferentemente sustancias básicas como el caso de propranolol, mantiene su tasa en el anciano o incluso podría incrementarse (Hammerlein *et al.*, 1998). En un sentido u otro, la eventual modificación en la unión a proteínas plasmáticas que conllevaría el caso, sólo traería aparejado un aumento (menor

fracción libre) o una disminución (mayor fracción libre) de la concentración plasmática total de la droga, pero no alteraría su concentración plasmática libre, ya que se disminuiría o aumentaría, respectivamente, tanto la distribución a órganos no eliminadores como a órganos eliminadores y por tanto el *clearance* libre no sufriría ningún cambio. Tampoco, por este concepto, modificaría la respuesta farmacodinámica al fármaco ya que la concentración tisular media en tratamientos crónicos no sufriría alteración.

Otras proteínas plasmáticas, como las lipoproteínas, ligan a algunos fármacos (ciclosporina) y a ciertas sustancias endógenas (colesterol), y tienen la particularidad de penetrar a las células dianas (linfocitos) y a los hepatocitos mediante el uso de transportadores que reconocen al complejo en la cara externa de la membrana citoplasmática. Este caso ejemplifica una situación en donde la droga libre en plasma no constituye el requisito necesario para que la misma sea dispuesta por el organismo. En el anciano se conjugan los aspectos propios de la edad en cuanto a este mecanismo de transporte, con los aspectos derivados de la medicación que frecuentemente se prescribe para el tratamiento de las dislipidemias, y por lo tanto no puede fácilmente concluirse el impacto del envejecimiento en la eliminación de ciclosporina. La difusión desde el torrente circulatorio hacia el espacio extravascular está también mediada por transporte facilitado (glucosa hacia el cerebro, por ejemplo) y por transporte activo. El transporte de membrana es el caso más nombrado, tanto de ingreso al interior celular de la barrera capilar (cara luminal) como de egreso hacia el intersticio (cara basal). El camino se transita también en sentido inverso, sin la necesidad de haber completado todo el trayecto, y por lo tanto ni bien ingresado al interior celular una bomba de eflujo puede revertir la difusión y hacer que menos cantidad de droga ingrese definitivamente al órgano considerado. Este mecanismo a nivel de la barrera capilar se reproduce en zonas más profundas del tejido, habiéndose detectado transportadores de eflujo en tejidos no eliminadores de fármaco, tales como miocardio y cerebro. En el anciano se reporta una menor expresión de transportadores de eflujo, y así como se mencionó al tratar la absorción, la distribución de ciertas drogas que son sustrato podría estar incrementada en el miocardio y en el cerebro (Bartels *et al.*, 2009).

Otro mecanismo consumidor de energía para la extravasación de drogas es el propio aparato circulatorio, en donde la bomba cardíaca propulsa el fluido sanguíneo, y las arterias, ajustando su diámetro, distribuyen el gasto de manera dife-

rencial y variable entre los diferentes órganos. Esta variable distribución de flujos sanguíneos entre los diferentes territorios vasculares promueve que la energía consumida en la contracción miocárdica se utilice para localizar mayor o menor fracción de las moléculas circulantes en determinados órganos, y así aumentar la transferencia hacia el espacio intersticial de dichos tejidos (Fagiolino *et al.*, 2006). Si bien el gasto cardíaco disminuye con la edad, algunos órganos reducen menos que otros su aflujo de sangre (Mc Elnay & D'Arcy, 1996; Delp *et al.*, 1998), y por tanto la fracción del gasto cardíaco puede en tales órganos verse aumentado en el anciano en relación con el adulto joven. Este mecanismo es muy importante para explicar la incrementada transferencia de fármacos hacia el cerebro de pacientes geriátricos, provocando efectos exacerbados ante la misma concentración plasmática libre de la droga que la observada en el individuo joven.

En lo concerniente a la distribución no sólo está aquello que promueve o restringe el acceso al espacio extravascular desde la sangre, sino también aquellos otros factores que retienen en mayor o menor medida a la droga en el parénquima tisular. Por ejemplo, la proporción de grasa respecto a sustancia magra, lo cual varía a lo largo de la vida, determina la capacidad de retención de drogas por parte del individuo según las características lipofílicas o hidrofílicas de la molécula. Dada la mayor relación grasa/músculo que presentan los ancianos respecto a los jóvenes (Mayersohn, 1994), válido también para las mujeres *versus* los hombres (Soldin, 2011), habría una mayor distribución hacia el espacio extravascular de drogas lipofílicas y una menor distribución de drogas hidrofílicas por kilogramo de peso, a medida que progresa el envejecimiento de la persona.

Eliminación

Durante el envejecimiento el riego sanguíneo de riñones e hígado decrece más que el riego de otros órganos, como por ejemplo el cerebro (Mc Elnay & D'Arcy, 1996). Este fenómeno se explica por la adaptación que realiza el individuo frente al descenso de la presión arterial que ocasiona la progresiva reducción del gasto cardíaco. Los vasos que reciben la mayor porción del gasto (órganos espláncnicos 30% y riñones 20% aproximadamente, en condiciones basales) responden a la acción adrenérgica contrayéndose, lo cual determina un riego menor de todas las regiones espláncnico-renales con excepción del suministro proporcionado por la

arteria hepática. Se arriba así a una menor fracción de flujo sanguíneo en tracto gastrointestinal y riñones, al tiempo que el flujo sanguíneo decrece.

Para el hígado la situación es peculiar, por un lado se disminuye el riego portal pero por otro se aumenta el riego arterial en términos relativos al gasto cardíaco. Si bien el balance de la fracción de flujo sanguíneo hepático decrece durante la vejez, la menor extracción gastrointestinal de moléculas hace que el hígado reciba una fracción del total de droga circulante (por vena porta más arteria hepática) que no difiere prácticamente de la fracción que recibía durante la edad adulta (Fagiolino *et al.*, 2006). Este fenómeno preservaría las funciones trascendentes que se desenvuelven en el hígado para la sobrevivencia del individuo. Todo discurre a un ritmo más lento durante la vejez, pero órganos tales como hígado, miocardio y cerebro son resguardados en el reparto de oxígeno, a menos que un fenómeno patológico se instale. Hay que tener presente que el envejecimiento es un proceso natural y adaptativo que conlleva menores potencialidades del anciano, que aunque sano, por las menores reservas que posee es más propenso al estado de enfermedad que el joven.

La consecuencia farmacocinética es inmediata: 1) aquellos fármacos que son altamente extraídos de la circulación sanguínea por el órgano eliminador (intestino, hígado, riñones) serán menos depurados del organismo en virtud de poseer un *clearance* flujo sanguíneo dependiente; 2) aquellos fármacos que son de extracción baja serán depurados de acuerdo a la capacidad que brinda el órgano para llevar a cabo el proceso y de la disponibilidad de sustancia que le ofrece el organismo en su conjunto (Turnheim, 2003). El primer grupo de sustancias posee una velocidad de eliminación tan importante en el órgano que la velocidad de suministro por parte de la circulación sanguínea se transforma en el paso limitante del proceso, y por consiguiente, ante un gasto cardíaco disminuido en el anciano, la eliminación se ralentiza. El segundo grupo contiene sustancias cuya velocidad de depuración intrínseca en el órgano eliminador es baja y por lo tanto el arribo más o menos velozmente al sitio no configura un factor decisivo en el proceso. En cambio, cualquier situación que afecte el rendimiento intrínseco de la maquinaria eliminadora en el propio órgano, o la fracción de moléculas que se expone continuamente a dicha maquinaria, determinarán el rendimiento global de la depuración en el individuo.

Las conclusiones que se pueden sostener para el segundo grupo de fármacos no han sido firmes por las muchas contradicciones existentes en la bibliografía, las cuales se deben a la enorme variabilidad que existe entre los individuos y al

inadecuado parámetro farmacocinético tomado en cuenta para la comparación joven-anciano. La semivida de “eliminación” no es resultado exclusivo de la eliminación del fármaco, sino también de su distribución. Es así que el diazepam, presentando una semivida más larga en el anciano, no tiene modificado su *clearance* en ambas edades (Mayersohn, 1994). La concentración plasmática total de una droga altamente ligada a las proteínas plasmáticas no constituye una buena medición, ya que varía muy pronunciadamente ante cualquier cambio en la unión sin por ello reflejar necesariamente los quizás imperceptibles cambios de su permanencia en el organismo (Butler & Begg, 2008). La concentración libre sería el objeto de medición en estos casos. Es imposible medir con certeza el *clearance* (CL) de una molécula cuando la misma sólo puede administrarse por vía oral. En estas circunstancias el parámetro estimado (CL/F) es un híbrido entre el verdadero *clearance* y la biodisponibilidad (F). Por consiguiente, un aumento de biodisponibilidad arrojará un valor de *clearance* oral más pequeño, aun cuando la depuración pudiera estar realmente sin cambios o incluso incrementada pero en menor proporción. Se agrega, como dato complementario para el análisis que se hará seguidamente, que las reacciones de fase II (conjugaciones) del metabolismo de fármacos no sufrirían modificaciones (Turnheim, 1998; McLean & Le Couteur, 2004).

Lo anterior nos sugiere que la ausencia de incremento de *clearance* en el anciano, según coinciden todos los reportes, podría ser debido a que realmente las drogas de baja extracción tienen reducida la eliminación en el anciano, o a que tales drogas tienen incrementada la biodisponibilidad sin certezas acerca de su depuración sistémica, o que en realidad para algunos de esos fármacos tanto el *clearance* como la biodisponibilidad permanecen sin cambios durante el envejecimiento.

Fuertes evidencias consignan que la pérdida de biodisponibilidad oral está ligada al metabolismo presistémico intestinal (Lin *et al.*, 1999), y que los fármacos pasibles de tales pérdidas son sustratos de transportadores de flujo. Sin abundar más sobre lo ya dicho en el apartado de absorción, los ancianos tienen para este grupo de fármacos incrementada la biodisponibilidad oral. Algunas enzimas tienen importante presencia a nivel intestinal (CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19 en menor grado) en tanto otras presentan localización preferencial en el hígado (conjugaciones y otros procesos de fase I mediados por enzimas del citocromo P450). La metabolización intestinal por arriba sistémico adquiere relevancia cuando la

sustancia es sustrato de transportadores que lo dirigen desde la cara basal a la cara apical del enterocito, o cuando es derivado desde el hígado por medio del transporte hepato-biliar. De lo contrario, la biotransformación a nivel intestinal es de muy poca relevancia en el conjunto del metabolismo sistémico.

Algunos fármacos son prácticamente metabolizados en su totalidad, en tanto otros tienen eliminación mixta: metabolización y excreción. La excreción tiene fundamentalmente asiento en el riñón (filtración glomerular y secreción tubular). En el hígado, la excreción sólo puede ser asumida para drogas que no pueden reabsorberse desde el intestino tras la secreción biliar, por impedimento fisicoquímico o por metabolización en la luz intestinal. La excreción intestinal tiene similares connotaciones, agregando como otra posibilidad aquella referida al menor tiempo disponible para la reabsorción, cuando la secreción tiene lugar en la parte baja del intestino.

Dada la menor fracción de flujo sanguíneo intestinal, aquellos fármacos de baja extracción que se eliminan por intestino (sustratos de transportadores de eflujo) presentarían menor *clearance* sistémico en el anciano. Fármacos eliminados preferencialmente por el hígado mantendrían el *clearance* sistémico sin cambio en el anciano respecto al adulto joven. Drogas que tienen un componente renal en la eliminación sistémica verían reducido su *clearance*, en virtud de la menor fracción renal del gasto cardíaco.

Impacto de la farmacocinética alterada en el anciano en la respuesta farmacodinámica

Sin entrar en el vasto y complejo entramado que implica la acción farmacodinámica (Levy, 1998), en tanto número de receptores, sensibilizaciones y transducción de la acción hasta transformarse en respuesta clínica, brevemente daremos cuenta de la importancia que tienen las concentraciones de fármaco en la biofase en relación con la información que habitualmente nos reportan sus concentraciones plasmáticas libres.

Si se analiza la respuesta a una dosis, queda muy en evidencia la mayor intensidad de efectos que se desencadenan en el anciano respecto al joven. En buena parte se debe al incremento de la dosis biodisponible, ya comentada anteriormente, y a la mayor dosis por kilogramo de peso que recibiría el paciente geriátrico

si no se adecuara la dosis nominal a la progresiva reducción del tamaño corporal que se registra durante el envejecimiento. La reducción del *clearance* sistémico se agrega como factor en aquellas drogas que presentan este cambio según lo visto previamente. A todo esto deben sumarse los considerandos que siguen.

Si se analiza la respuesta a una concentración plasmática libre, debemos tener presente el aumento del factor tejido/plasma que se registra con el avance de la edad en algunos órganos, donde se alojan los receptores de acción, en función de la redistribución del gasto cardíaco. En particular interesa resaltar un aumento de dicho factor a nivel del encéfalo, el cual podría estar sinergizándose con la menor expresión de transportadores de eflujo en la barrera hematoencefálica para principios activos que son sustrato. Sin embargo, sobre este aspecto, no habría que olvidar la capacidad inductora de la expresión de transportadores que podría poseer la propia droga, lo cual antagonizaría el impacto de la mayor distribución del gasto cardíaco cerebral en la eventualidad de que su incidencia adquiriera mayor relieve como fruto de la mayor localización del agente inductor sobre dichas estructuras. Este es un fenómeno en continuo debate. El futuro de las investigaciones en el campo de la neurociencia dará mayor luz a la conclusión certera del punto.

Referencias

- Bartels AL, Kortekaas R, Bart J, Willemsen AT, de Klerk OL, de Vries JJ, van Oostrom JC, Leenders KL. Blood-brain barrier P-glycoprotein function decreases in specific brain regions with aging: A possible role in progressive neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 2009; 30 (11): 1818-1824
- Butler JM, Begg EJ. Free drug metabolic clearance in elderly people. *Clin Pharmacokinet* 2008; 47(5) 297-321
- Cheitlin MD. Cardiovascular physiology – Changes with aging. *Am J Geriatr Cardiol* 2003; 12(1): 9-13
- Delp MD, Evans MV, Duan C. Effects of aging on cardiac output, regional blood flow, and body composition in Fischer-344 rats. *J Appl Physiol* 1998; 85(5): 1813-1822
- Fagiolino P, Eiraldi R, Vázquez M. The influence of cardiovascular physiology on dose/pharmacokinetic and pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships. *Clin Pharmacokinet* 2006; 45(5): 433-448

- Greenblatt DJ, Harmatz JS, Shader RI. Clinical pharmacokinetics of anxiolytics and hypnotics in the elderly: Therapeutic considerations. Part I. *Clin Pharmacokinet* 1991; 21 (3): 165-177
- Greenblatt DJ, Harmatz JS, Shader RI. Clinical pharmacokinetics of anxiolytics and hypnotics in the elderly: Therapeutic considerations. Part II. *Clin Pharmacokinet* 1991; 21 (4): 262-273
- Hajjar I. Postural blood pressure changes and orthostatic hypotension in the elderly patient: Impact of antihypertensive medications. *Drugs Aging* 2005; 22 (1): 55-68
- Hämmerlein A, Derendorf H, Lowenthal D. Pharmacokinetic-pharmacodynamic changes in the elderly: Clinical Implications. *Clin Pharmacokinet* 1998; 35 (1): 49-64
- Hastings MH. The vertebrate clock: Localisation, connection and entrainment. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 1997; 125: 1-28
- Haus E, Touitou Y. Chronobiology of development and aging. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 1997; 125: 95-134
- Hermida RC, Ayala DE, Calvo C, Portaluppi F, Smolensky MH. Chronotherapy of hypertension: Administration-time-dependent effects of treatment on the circadian pattern of blood pressure. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 923-939
- Le Couteur DG, Fraser R, Hilmer S, Rivory LP, McLean AJ. The hepatic sinusoid in aging and cirrhosis. Effect on hepatic substrate disposition and drug clearance. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44(2): 187-200
- Levy G. Predicting effective drug concentrations for individual patients. Determinants of pharmacodynamic variability. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34(4): 323-333
- Lin JH, Chiba M, Baillie TA. Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? *Pharmacol Rev* 1999; 51(2): 135-158
- Mayersohn M. Pharmacokinetics in the elderly. *Environ Health Perspect* 1994; 102(11): 119-124
- McElnay JC, D'Arcy PF. Age and genetic factors in drug interactions. In: D'Arcy PF, McElnay JC, Welling PG, editors. *Handbook of experimental pharmacology: mechanisms of drug interactions*. Berlin: Springer-Verlag, 1996; 122: 279-304
- McLean AJ, Le Couteur DG. Aging biology and geriatric clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* 2004; 56(2): 163-184
- Moore RY. Chemical neuroanatomy of the mammalian circadian system. In: Redfern P, Lemmer B, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 1997; 125: 79-93
- Takeda N, Maemura K. Circadian clock and cardiovascular disease. *J Cardiol* 2011; 57(3): 249-256

- Turnheim, K. Drug dosage in the elderly: is it rational? *Drugs Aging*. 1998; 13 (5): 357-379
- Turnheim K. When drug therapy gets old: pharmacokinetics and pharmacodynamics in the elderly. *Exp Gerontol* 2003; 38: 843-853
- Smolensky MH, Peppas NA. Chronobiology, drug delivery and chronotherapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 828-851
- Soldin OP, Chung SH, Mattison DR. Sex differences in drug disposition. *J Biomed Biotechnol* 2011; doi: 10.1155/2011/187103
- Vázquez M, Fagiolino P, Eiraldi R, Maldonado C. Influencia del género, del envejecimiento, y de los ritmos circadianos en la farmacocinética de las drogas. En: Beas-Zárate C, Ureña-Guerrero ME, Rivera-Cervantes MC, Pallas Llibiera M, Camins A, editores. *Tópicos de actualización en neurobiología. Excitotoxicidad y cognición en enfermedades neurodegenerativas. Aspectos básicos, clínicos y sociales*. 1ra. Edición. Guadalajara - Jalisco. 2010; 355-371
- Zoli M, Iervese T, Abbati S, Bianchi GP, Marchesini G, Pisi E. Portal blood velocity and flow in aging man. *Gerontology* 1989; 35(2-3): 61-65

17 Genómica del envejecimiento neurológico

Talia Wegman Ostrosky¹ y José Sánchez Corona¹

Resumen

El envejecimiento se caracteriza por la disfunción gradual de los diferentes sistemas del organismo. Los factores involucrados en el envejecimiento son numerosos y se extienden desde los genéticos y moleculares hasta factores ambientales y sociales. El 25% a 30% de la longevidad está determinado por factores genéticos y epigenéticos y aproximadamente 100 genes son los que se han relacionado con una esperanza de vida mayor. Los biomarcadores de envejecimiento celular incluyen disfunción telomérica, activación de ATM, heterocromatización del genoma nuclear y β -galactosidasa, entre otros.

Durante el envejecimiento, el número de células estaminales neuronales disminuye de manera significativa, al igual que el número de neuronas que se producen.

Durante el envejecimiento cerebral están alteradas las siguientes vías metabólicas: inflamación, sistema inmune, genes involucrados en la mielinización, metabolismo del colesterol y tráfico de fosfolípidos, metabolismo de hierro, genes involucrados en la transmisión sináptica y neurogénesis.

¹ Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS.

Definición de envejecimiento

El envejecimiento se caracteriza por la disfunción gradual de los diferentes sistemas de organismo. El envejecimiento como proceso, también llamado envejecimiento normal o fisiológico, se define como los cambios biológicos que se originan por la edad y que no están influenciados por las enfermedades.

Las definiciones de viejo, tercera edad, mayor y envejecimiento no son universalmente aplicables; son términos específicos para cada país, género, cultura y persona. Son tan variables como las definiciones cronológicas en las que de manera categórica se establece que viejo es aquel mayor de 60 o 65 años o definiciones en función de la capacidad de trabajo, como es el caso de Ghana donde la tercera edad se define en relación con la capacidad de trabajar y los atributos sociales de la experiencia y el liderazgo.

Independientemente de la definición de envejecimiento, se trata de un proceso por el que todos los tejidos del cuerpo de un individuo sufrirán con el paso del tiempo. El tejido nervioso no es la excepción. En las siguientes páginas discutiremos cómo la genética y la genómica están involucradas en el proceso de envejecimiento neurológico.

¿Genética o genómica del envejecimiento?

La genética es la ciencia de la diversidad y la genética humana es la rama de la biología que estudia las diferencias entre los individuos, determinadas por las diferencias en el material genético. Genómica es un término relativamente nuevo, que se utilizó por primera vez en 1986 para nombrar una revista cuyos temas a tratar incluían a los genes, los cromosomas y la localización de los genes. Desde entonces el término genómica se utiliza para referirse al estudio de material hereditario completo de un individuo, incluyendo la interacción de los genes, los cromosomas, los mecanismos epigenéticos, la regulación génica y cómo interactúa el ambiente con los genes. En conclusión, podemos decir que se utiliza el término genética cuando estudiamos a un gen y el efecto de sus variaciones en el fenotipo, mientras que el término genómica se refiere al estudio de la totalidad de material genético. Como es de esperarse, la línea entre la genética y la genómica es delgada,

por lo que no es raro que al hablar de genética terminemos hablando de genómica y viceversa.

Los factores involucrados en el envejecimiento son muy numerosos. Se extienden desde los genéticos y moleculares hasta factores ambientales y sociales.

Estudios sobre longevidad han concluido que se trata de un rasgo complejo en el cual hay más de un gen involucrado, por lo que no se trata de un rasgo monogénico en el que las leyes mendelianas se aplican, sino que múltiples genes y factores ambientales están relacionados, por lo que el patrón de herencia es multifactorial.

Por medio de estudios en gemelos monocigóticos y dicigóticos se ha estimado que entre 25% y 30% de la longevidad está determinada por factores genéticos y epigenéticos, y aproximadamente 100 genes son los que se han relacionado con ésta.

En diferentes estudios de cohorte en familias longevas se ha encontrado que los individuos con larga expectativa de vida tienen baja incidencia de enfermedades crónico-degenerativas como diabetes mellitus, hipertensión, cáncer, Alzheimer, etc. y como es de esperarse, en estas familias longevas se encuentran en baja frecuencia o no se encuentran polimorfismos y mutaciones de riesgo para estas enfermedades.

Envejecimiento y mitocondria

En 1979 se propuso que el envejecimiento celular podría estar causado por mutaciones en el DNA mitocondrial. Diferentes mutaciones se van acumulando en el DNA mitocondrial durante el ciclo de vida de la célula, lo que produce inestabilidad del genoma mitocondrial, es decir de todo el material genético contenido dentro de la mitocondria, esto es consecuencia de un desequilibrio entre la reparación mitocondrial y los radicales libres.

Si el daño genómico es extenso termina por disminuir la cantidad de mitocondrias en una célula, por lo tanto disminuye la cantidad de ATP, lo que lleva a la célula a entrar en senescencia y eventualmente a la muerte celular.

Los radicales libres reactivos formados dentro de las células pueden oxidar biomoléculas y conducir a muerte celular y daño tisular. Las reacciones perjudi-

ciales de los radicales libres se producen sobre todo en los lípidos, los cuales son los más susceptibles.

Biomarcadores de senescencia

Pero para realizar investigación de la senescencia se requiere de biomarcadores, es decir parámetros biológicos medibles que a nivel celular puedan indicarnos de manera precisa que una célula está envejeciendo. Cabe mencionar que el envejecimiento celular no es sinónimo de envejecimiento del individuo, ya que cada tejido tiene una vida diferente; por ejemplo un eritrocito vive aproximadamente tres meses, a diferencia de una neurona que vive décadas. Los biomarcadores de envejecimiento celular son disfunción telomérica, activación de ATM, heterocromatización del genoma nuclear y β -galactosidasa.

El telómero es la última porción de todos los cromosomas, tiene una longitud específica y cada vez que la célula se reproduce el telómero se va acortando.

El gen *ATM* es una ciclina involucrada en el control del ciclo celular. La proteína ATM se encuentra en el núcleo celular. Las células progenitoras neuronales que se están dividiendo constituyen ejemplo de su máxima expresión. Esta proteína está implicada en importantes funciones como la transducción de señales mitóticas, la condensación del cromosoma, la recombinación meiótica, así como en la reparación y la regulación de los puntos de control del ciclo celular, en respuesta a diferentes estímulos no inflamatorios de daño celular como el bloqueo de la replicación del DNA, la ruptura de su doble hélice, así como la acción de radiaciones ionizante.

La heterocromatina es la cromatina en donde los genes no se están expresando. Cambios epigenéticos asociados con una alteración global de la heterocromatina durante la senescencia se han relacionado con la irreversibilidad que caracteriza la respuesta senescente. Esta alteración está iniciada por el gen *RB* y resulta en una estable y permanente represión de genes cruciales en la proliferación, como son los factores de transcripción de la familia E2F. Estas alteraciones genómicas pueden ser visualizadas microscópicamente y se conoce con el término de focos de heterocromatina asociada a senescencia o heterocromatización.

El biomarcador más utilizado para senescencia es la detección de la actividad de la β -galactosidasa a pH 6.0, llamada SA- β -gal. La actividad de la β -galactosi-

dasa se deriva del aumento del contenido lisosomal de las células senescentes, que posibilita la detección de la β -galactosidasa lisosomal a pH subóptimo.

¿Qué quiere decir envejecimiento para la célula?

El envejecimiento a nivel celular es conocido como senescencia, es el proceso en el que la célula sale de forma irreversible del ciclo celular y por lo tanto ya no puede reproducirse más. La célula entra en senescencia por diferentes estímulos. Una de las teorías sobre este proceso es que la célula entra en senescencia cuando hay estímulos que promueven el crecimiento celular, pero no hay señales que promuevan el ciclo celular.

Existen dos tipos de senescencia descritos: la dependiente de telómero y la independiente del telómero. La dependiente del telómero se induce cuando el acortamiento pasa un umbral, también es conocida como senescencia replicativa. La independiente del telómero se induce por daño al DNA, en la cual se expresan vías de señalización involucradas con el control del ciclo celular y la apoptosis como p16INK4a, p53, p21WAP/CIP y cinasas Chk1 y Chk2, que controlan el ciclo celular en respuesta a daño al DNA.

Durante el envejecimiento, las células senescentes se acumulan en los tejidos humanos, por lo que se ha sugerido que este proceso participa en la regulación del envejecimiento celular y el mantenimiento de los tejidos. Además, actúa como una defensa para la inmortalidad celular y la formación de tumores y, por lo tanto, contribuye a la supervivencia del organismo.

¿Cómo se expresa el envejecimiento en el sistema nervioso central?

En general, las personas envejecidas se desempeñan de una manera más deficiente en pruebas de funcionamiento mental en comparación a grupos más jóvenes. Las funciones superiores más afectadas son la velocidad de procesar y ejecutar funciones y la memoria.

Existe controversia acerca del momento cronológico en que comienza el envejecimiento cognitivo. Algunos autores sugieren que podría ser después de los 60 años, mientras que otros mencionan que podría ser tan temprano como los

30 años. Sin importar la edad, es claro que el proceso de pérdida cognitiva tiene una gran variabilidad entre cada individuo.

Muchas personas presentan deterioro cognitivo durante el proceso de envejecimiento, otras no demuestran ningún efecto y un pequeño grupo incluso llega a presentar funciones superiores cognitivas a sus contrapartes más jóvenes.

Han quedado atrás los tiempos en que se creía que el tejido nervioso central del adulto no podía reproducirse. Regiones cerebrales específicas presentan fenómenos neurogénicos a lo largo de la vida. Estas nuevas neuronas se generan a partir de células estaminales neuronales localizadas en la zona subventricular y subgranular de los ventrículos laterales y el giro dentado del hipocampo, respectivamente.

Durante el envejecimiento, el número de células estaminales neuronales disminuye de manera significativa, al igual que el número de neuronas que se producen. Esto se ha relacionado con reducción de la actividad enzimática de la telomerasa y un incremento en la expresión p16 INK4a, un inhibidor del ciclo celular.

Pero no sólo las neuronas están implicadas en el proceso de envejecimiento. Estudios realizados en cerebros de ancianos han demostrado deterioro estructural de las células microgliales. Varios trabajos han estudiado la relación entre las células de la glía y el envejecimiento, recalando algunos mecanismos moleculares como incremento en citocinas pro-inflamatorias, disminución en la expresión de proteínas de los peroxisomas, activación de genes supresores de tumor y disminución de proteínas anti-inflamatorias. Se ha encontrado en trabajos realizados en ratones viejos, evidencia que sugiere un estado de senescencia replicativa en células de microglía.

Al ser la microglía la principal línea de defensa ante un daño o enfermedad en el sistema nervioso central, el deterioro de este tipo celular podría contribuir al desarrollo de procesos neurodegenerativos.

¿Cuáles son las vías moleculares involucradas en el proceso de envejecimiento neurológico?

El desarrollo de microarreglos ha permitido que se estudie la expresión de miles de genes al mismo tiempo. Esta tecnología se ha aplicado tanto en modelos animales como en cadáveres para estudiar el envejecimiento.

Numerosos genes y cascadas de señalización se activan durante el aprendizaje, la memoria y la plasticidad sináptica. Aquellas vías que se han descrito alteradas durante el envejecimiento cerebral son inflamación, sistema inmune y genes involucrados en la mielinización, metabolismo del colesterol y tráfico de fosfolípidos, metabolismo de hierro, genes involucrados en la trasmisión sináptica y neurogénesis. También se ha estudiado la producción de radicales libres, especies reactivas de nitrógeno, peroxidación de lípidos y daño oxidativo. Aún no hay suficiente información como para concluir si estas vías alteradas son causa o efecto del envejecimiento

Además, el envejecimiento parece estar involucrado en una disminución de la transcripción de proteínas relacionadas en el transporte activo intra y extracelular de iones y nutrientes, esto genera mayor susceptibilidad al daño oxidativo y a deficiencias metabólicas que terminan en daño al DNA. Este mecanismo se ha descrito no sólo en el envejecimiento, sino también en enfermedades neurodegenerativas y en daño a neurona motora.

Síndromes genéticos

Existen algunos síndromes genéticos mendelianos poco frecuentes en los que los pacientes presentan envejecimiento prematuro. Éstos son excelentes modelos para poder entender el envejecimiento fisiológico, ya que probablemente las vías moleculares afectadas en estos pacientes también lo estén en el individuo anciano. El clásico ejemplo es la progeria. Pero existen algunos otros conocidos como similares a la progeria, como son los síndromes de Wiedemann-Rautenstrauch, Cockayne, Werner, Emery-Dreifuss, Rothmund-Thomson y Seckel.

Progeria

La progeria, conocida también como síndrome Hutchinson-Gilford, es una entidad genética rara en la que existe un envejecimiento prematuro que comienza desde el año de edad. Por lo general, los enfermos fallecen a los trece años debido a enfermedad coronaria (OMIM #176670). La frecuencia es de 1 en 1, 000,000 a 1 en 4, 000,000.

Los pacientes afectados tienen a edad temprana la apariencia de personas de la tercera edad. Esto es producido por defecto en la proteína Laminina A (LMNA), la cual es una proteína de la membrana nuclear involucrada en el mantenimiento estructural de la cromatina y la regulación de la expresión génica.

La mayoría de los casos de esta patología son producidos por un cambio del nucleótido de citocina por timina en la posición 1824 del gen de la Laminina A. Este cambio de una sola base produce un defecto en el proceso de corte y empalme, lo que provoca una proteína 50 aminoácidos más pequeña, llamada progerina. En fibroblastos se ha observado la acumulación de progerina, lo que produce estructuras nucleares aberrantes y posicionamientos de los cromosomas alterados, por lo que estos fibroblastos muestran una gran sensibilidad al estrés por calor, así como altos índices de apoptosis, hiperproliferación y, de manera prematura, una alta incidencia de senescencia celular.

Los síntomas empiezan a aparecer entre los 12 a 24 meses, y los pacientes tienen una esperanza de vida de 10 a 15 años. Estos pacientes desarrollan varias patologías distintivas de edades mayores como defecto vascular, arterosclerosis, piel esclerótica, contracturas en las articulaciones, alopecia y retraso en el crecimiento. La causa de muerte a temprana edad es generalmente consecuencia de infarto en el miocardio.

Síndrome de Werner

Es una enfermedad autosómica recesiva que presenta rasgos progeroides como pérdida y encanecimiento del pelo, desarrollo de diabetes, cataratas, osteoporosis y enfermedades cardiovasculares a temprana edad. A nivel celular, en los fibroblastos se observa re-arreglos complejos cromosómicos, acumulación de daño oxidativo y senescencia temprana. El gen responsable de esta enfermedad *WRN* codifica para una helicasa. Esta proteína tiene actividad exonucleasa 3' - 5', lo cual es una importante función en la reparación y replicación del DNA, mantenimiento del telómero y transcripción. Finalmente la proteína *WRN* regula la estructura de la cromatina. La pérdida de la función de esta proteína resulta en inestabilidad cromosómica, una expectativa de vida corta en cultivo y un acortamiento acelerado de los telómeros. Cabe agregar que en los tejidos no afectados por este síndrome no se encuentran células senescentes.

Conclusiones

Durante el envejecimiento ocurren diferentes cambios fisiológicos. Las células envejecidas, en general de todo el organismo y en particular de las células del sistema nervioso, muestran acumulación de daño al DNA, daño oxidativo, acortamiento de los telómeros, activación de genes supresores, así como inflamación crónica.

Los síndromes genéticos de envejecimiento prematuro son buenos modelos para estudiar lo que sucede en el envejecimiento normal. La implantación de nueva tecnología ha permitido entrar a la era genómica, en la que se estudian múltiples genes al mismo tiempo. Conocer los procesos involucrados en el envejecimiento normal permitirá, en un futuro, modular la expresión de genes para mejorar la calidad de vida y la cognición en individuos envejecidos.

Referencias

- Burger C. Region-specific genetic alterations in the aging hippocampus: implications for cognitive aging. *Front Aging Neurosci*, 2010;14:140.
- Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, López-Durán M, Palacios-Sánchez B, Sánchez-Gutiérrez JJ, Bascones-Martínez A. Marcadores de senescencia celular en cáncer y precáncer oral. *Av Odontoestomatol*, 2008;24: 69-80.
- Dimauro T, David G. Chromatin modifications: the driving force of senescence and aging? *Aging*, 2009;182-190.
- Escames G, López A, García JA, García L, Acuña-Castroviejo D, García JJ, *et al.* The role of mitochondria in brain aging and the effects of melatonin. *Curr Neuropharmacol*, 2010;8:182-193.
- Glorioso C, Sibille E. Between destiny and disease: genetics and molecular pathways of human central nervous system aging. *Prog Neurobiol*, 2011;93:165-181.
- Goh JO. Functional Dedifferentiation and Altered Connectivity in Older Adults: Neural Accounts of Cognitive Aging. *Aging Dis*, 2011;1;30-48.
- Herbig U, Ferreira M, Condel L, Carey D, Sedivy JM. Cellular senescence in aging primates. *Science*, 2006;311:1257.
- OMS:Internet:<http://www.imsersomayores.csic.es/documentos/documentos/oms-hombres-01.pdf>. Revisado el 10 mayo 2011.

Raška I. Importance of molecular cell biology investigations in human medicine in the story of the Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Interdiscip Toxicol*, 2010;3:89-93.

von Bernhardt R, Tichauer JE, Eugenín J. Aging-dependent changes of microglial cells and their relevance for neurodegenerative disorders. *J Neurochem*, 2010;112:1099-114.

18 Cuidados paliativos en demencia y otras enfermedades neurodegenerativas

Mario Ulises Pérez Zepeda¹

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas atraviesan por varias fases, una de las cuales es la etapa terminal. La duración de ésta última se ha incrementado gracias a los diversos avances en la terapéutica médica, lo que vuelve necesario formular una definición adecuada para la identificación temprana de la etapa terminal y así se implementen acciones orientadas a paliar la mayoría de los síntomas que se presenten. Una de las enfermedades más estudiadas a este respecto es la demencia. Últimamente se están aclarando mucho más los criterios para definir en qué momento un enfermo con demencia entra en esta etapa. Asimismo, es común que dichas enfermedades presenten dilemas éticos al final de la vida, los cuales deben abordarse en cualquier texto que trate de esta etapa.

Introducción

La diversidad de la atención que brinda el personal de salud se circunscribe a tres actividades básicas: curación, mantenimiento de la funcionalidad y alivio del sufrimiento. Es en este último aspecto donde los cuidados paliativos tienen su campo de acción, una vez que la probabilidad de curación y mantenimiento de

¹ Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

la función se vuelve casi nula (1). En este sentido, algunas enfermedades suelen requerir cuidados paliativos en etapas de la enfermedad generalmente llamadas terminales. A lo largo del tiempo se ha reconocido a las enfermedades oncológicas como paradigma de la enfermedad terminal; sin embargo, muchas otras pueden adquirir esta calidad.

Dentro de las patologías no neoplásicas se encuentran las neurodegenerativas, la insuficiencia cardíaca, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la insuficiencia renal, la insuficiencia hepática, entre otras. Característicamente, este grupo de enfermedades no neoplásicas tienen manifestaciones circunscritas al órgano afectado; contrario a lo que sucede con las enfermedades neoplásicas, donde las manifestaciones clínicas suelen ser multiorgánicas (2). En el caso de las enfermedades neurodegenerativas, tres grandes grupos de síntomas son los que predominan: cognoscitivos, conductuales y del movimiento. En mayor o menor medida esta sintomatología se presenta a lo largo de la patología, sin embargo en las etapas terminales parecieran converger todas a un alto grado de discapacidad, dependencia e impacto en los cuidadores y familia (3).

En cuanto a los lineamientos generales del manejo paliativo, una de las primeras etapas es conocer las expectativas de los sujetos y sus familias respecto a su enfermedad, así como intentar saber cuáles son sus preferencias en la toma de decisiones al final de la vida (1). Asimismo, el cuidado médico continuo de las comorbilidades no debe ser soslayado por la relevancia que sigue teniendo para el mantenimiento adecuado de las condiciones de salud, asegurando el bienestar del sujeto y alejándolo del sufrimiento (4; figura 1).

Demencias

A pesar de ser un grupo heterogéneo de patologías, se igualan hacia las etapas finales, cuando el impacto que sufre el enfermo en su funcionalidad y capacidades cognoscitivas lo lleva a la dependencia total (5). Existen criterios de clasificación ampliamente aceptados (como los GDS-FAST) que son útiles para ubicar la etapa en donde se encuentra el sujeto con demencia. Aunque no hay criterios definidos de terminalidad, se ha intentado definirlos con base en el pronóstico de supervivencia a mediano plazo (6 meses); otros factores que se han tomado en cuenta para esta clasificación son la presencia de discapacidad y/o dependencia

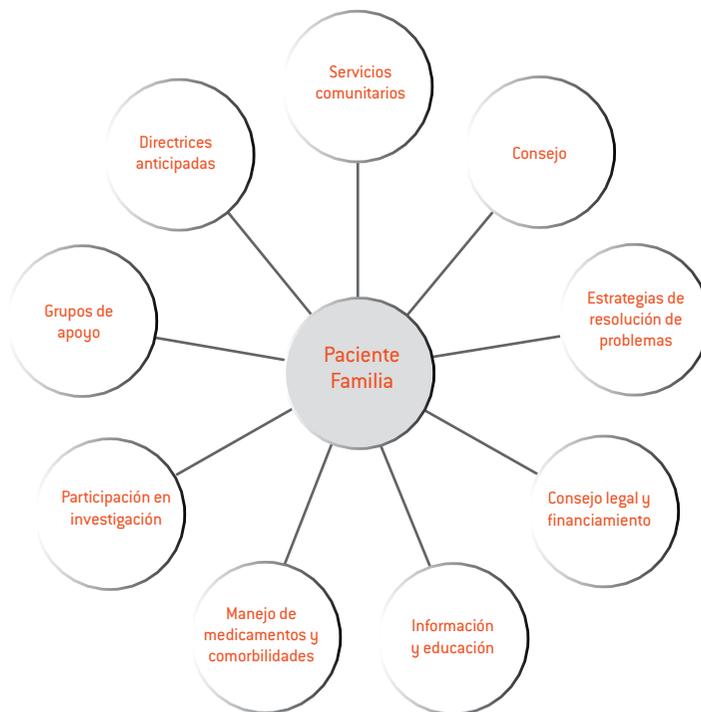


FIGURA 1. Ámbitos de intervención en los cuidados paliativos.

total, deterioro cognoscitivo profundo, infecciones recurrentes y trastornos de la deglución (6). Recientemente se encontró la asociación de tres eventos pivote que se presentan con mayor frecuencia en el último año de vida de pacientes con demencia: trastornos de la deglución, fiebre y neumonía. En este estudio se observó una asociación casi lineal entre la sobrevida y la presencia de trastornos de la alimentación, con una mortalidad a seis meses de casi 90% (7). En cuanto a la discapacidad, y en comparación con otras enfermedades crónicas, se ha constatado que la demencia conlleva en el último año de vida una discapacidad severa y persistente, lo que contrasta con otras entidades, tales como las neoplásicas, donde la discapacidad severa se da en los últimos meses de la enfermedad (8). Por lo anterior, se podría decir que un sujeto con demencia de cualquier etiología,

que tiene discapacidad severa y presenta problemas en la deglución, se encuentra en las etapas finales de su vida.

No obstante los datos previamente mostrados, donde se evidencia que existe una etapa terminal de la demencia, no suele considerársele una enfermedad que requiera cuidados paliativos o en la cual se tengan que dejar de hacer ciertos tratamientos invasivos inapropiados. En 2006 Richardson *et al.* analizaron a 169,036 ancianos para determinar la frecuencia de utilización de intervenciones “agresivas” en pacientes con demencia avanzada; encontraron una frecuencia de admisión a terapia intensiva de 31%, asistencia mecánica ventilatoria 13%, cateterismo pulmonar 1.4%, cateterismo cardiaco 1.1% y diálisis de 3.9% (9) (figura 2). Por otro lado, en un estudio donde se comparó un grupo de pacientes con cáncer terminal con ancianos con demencia avanzada, los sujetos con demencia tenían más síntomas (molestias) y se les practicaban más maniobras innecesarias (toma de muestras, nutrición parenteral, sujeción, etcétera) (10).

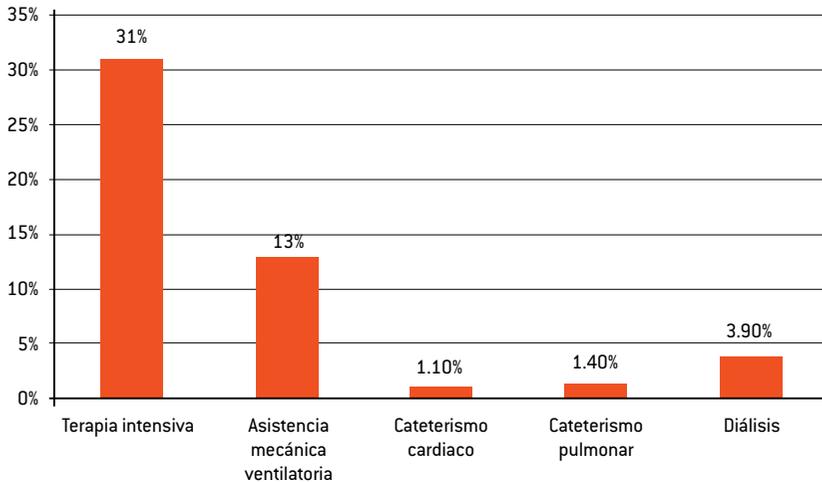


FIGURA 2. Porcentaje de intervenciones “agresivas” en enfermos con demencia terminal.

En cuanto a la evaluación de estos enfermos, se han desarrollado diferentes escalas para dar una dimensión objetiva a los problemas que presentan en esta etapa, tales como sufrimiento, sobrecarga del cuidador, manejo de síntomas,

satisfacción con el cuidado y calidad de vida, entre otros. El ámbito en el que se llevan a cabo los cuidados de un paciente con demencia va desde la atención domiciliaria hasta los servicios hospitalarios de alto nivel; y en particular en las etapas avanzadas se diversifican aún más, incluyendo los hospitales de crónicos, las residencias geriátricas, los hospitales y centros de día, entre otros. Dado que el objetivo primordial de los cuidados paliativos es evitar el sufrimiento y mejorar el bienestar de los sujetos, se ha intentado definir el sitio ideal para el cuidado de estos pacientes. Por ejemplo, en un estudio realizado en 2003 se refiere que los pacientes con demencia avanzada que permanecían en su hogar presentaban menos síntomas del comportamiento y mejor control de síntomas médicos, que aquellos que eran atendidos en residencias geriátricas (11). Sin embargo, hasta el momento no existe un consenso del sistema de salud ideal para el manejo de este tipo de pacientes.

Las intervenciones se pueden dividir en farmacológicas y no farmacológicas. Dentro de las primeras se encuentran los medicamentos que son propiamente para la enfermedad y aquéllos que son para las comorbilidades. Los inhibidores de acetilcolinesterasa y la memantina están entre los fármacos utilizados habitualmente para incidir en la demencia, sin embargo en la actualidad no existe información con respecto a su uso en las etapas finales de la enfermedad (12). Por otro lado, la utilización de antipsicóticos para el control de los síntomas del comportamiento y agitación es controversial, sin embargo la evidencia sugiere que no son de utilidad (13). En cuanto a inhibidores de recaptura de serotonina y moduladores del estado de ánimo, entre otros, no se tiene información de su utilidad en etapas avanzadas de la demencia para manejo de síntomas del comportamiento. Disminuir la prescripción inapropiada de medicamentos y optimización del manejo de las comorbilidades es el principal objetivo del resto del tratamiento farmacológico (12). En cuanto a las intervenciones no farmacológicas, se han encontrado varias aproximaciones efectivas. Se destacan aquellas que proveen de un apoyo continuo para los cuidadores, con el fin de mejorar el entendimiento de la enfermedad, manejo de síntomas del comportamiento y la reacción que provocan en la familia. El grupo de Mittelman ha estudiado una estrategia multidimensional en la atención de estos pacientes y ha encontrado que es efectiva en el manejo de estos pacientes y sus cuidadores (14). Por otro lado, las intervenciones directas en los enfermos involucran su atención como persona: llamándola por su nombre, vinculándola con otros enfermos, recordándole situaciones gratificantes

de su vida, entre otras cosas. Entre estas intervenciones destaca la del grupo de Volicer llamada “*Namaste Care*”, y que ha mostrado evidencia de mejoría en la interacción social, delirium y agitación (15).

En conclusión, los cuidados paliativos para los enfermos con demencia avanzada o terminal aún tienen muchos vacíos en el conocimiento, pero comienzan a llenarse poco a poco y a integrarse, articulando así un sistema de atención adecuado para este tipo de enfermos.

Enfermedad de Parkinson

Es la segunda patología neurodegenerativa más común, sólo detrás de la enfermedad de Alzheimer. Se presenta en aproximadamente 1 en 1,000 de la población general y su frecuencia es arriba de 1% en los mayores de 65 años (16). Sus manifestaciones motoras suelen ser incapacitantes al final de la enfermedad, y han sido clasificadas en cinco estadios (tabla 1). Debido a que en las etapas finales de la enfermedad de Parkinson se presenta una menor respuesta a medicamentos dopaminérgicos, se han buscado opciones para su tratamiento. Se ha tratado la rigidez terminal con apomorfina, escopolamina, difenhidramina y metilfenidato, con mejorías discretas (17-20). Independientemente de los síntomas motores, los problemas conductuales y los síntomas psicóticos empeoran la calidad de vida de estos sujetos. La apatía y la fatiga son dos de los principales síntomas que presentan en etapas finales, cierta evidencia apunta a que también el metilfenidato puede ser útil para este fin, así como algunos inhibidores de recaptura de serotonina (21). Asimismo, el modafinil ha sido útil para el manejo de la somnolencia diurna y la fatiga de estos enfermos (22). Para los síntomas psicóticos es aceptada la utilización de neurolépticos específicos, que no empeoren la rigidez y los síntomas motores, tales como la clozapina y la quetiapina (23).

La demencia asociada a Parkinson se presenta con mayor frecuencia en etapas finales, y existen datos que muestran que el donepecilo y la memantina pueden ser útiles en la mejoría de síntomas cognoscitivos en estos pacientes (24). Dentro de los tratamientos no farmacológicos, al igual que en los enfermos con demencia terminal, se debe hacer énfasis en la familia y cuidadores, así como en el bienestar global del sujeto (20).

TABLA 1. Escala de Hoehn y Yahr para la clasificación de la enfermedad de Parkinson.

Estadio 1

Signos y síntomas en un solo lado.

Síntomas leves.

Síntomas molestos pero no incapacitantes.

Presencia de síntomas con temblor en alguna extremidad.

Se notan cambios en la postura, expresión facial y marcha.

Estadio 2

Síntomas bilaterales.

Mínima discapacidad.

La marcha y la postura están afectadas.

Estadio 3

Significante ralentización de los movimientos corporales.

Dificultad para mantener el equilibrio tanto de pie como al andar.

Disfunción generalizada moderadamente severa.

Estadio 4

Síntomas severos.

Todavía puede andar cierto recorrido.

Rigidez y bradicinesia.

No puede vivir solo.

El temblor puede ser menor que en los estadios anteriores.

Estadio 5

Estadio caquético

Invalidez total.

No puede andar ni mantenerse de pie.

Requiere cuidados de una enfermera.

No obstante las múltiples estrategias farmacológicas que se han desarrollado para la mejoría de síntomas particulares en los pacientes con Parkinson terminal, se debe observar que la polifarmacia es un problema frecuente en estos sujetos, llevando a mayor frecuencia de efectos adversos, interacciones medicamentosas, falta de apego, entre otras; por tanto, los manejos deben ser individualizados y con base en metas con los cuidadores y los enfermos (25).

Esclerosis lateral amiotrófica

También conocida como enfermedad de Lou Gehrig, es una enfermedad cuya incidencia es de dos casos por 100,000 personas al año y prevalencia de seis casos por 100,000 personas. Se caracteriza por iniciar como un síndrome de neurona motora superior: espasticidad, hiperreflexia y reflejo extensor (26, 27). No obstante que es una enfermedad que aparece principalmente en adultos jóvenes, su forma esporádica puede tener una supervivencia de hasta veinte años, lo que incrementa la probabilidad de encontrar ancianos sobrevivientes de esta enfermedad y con manifestaciones tardías de la misma (27). Una de las enfermedades con mejor estructuración en cuidados paliativos es la esclerosis lateral amiotrófica. Integra equipos de salud multidisciplinarios que se enfocan al tratamiento particular de sialorrea, síntomas pseudobulbares, calambres y espasticidad. Por otro lado, el miedo y los problemas del estado de ánimo son manejados con diferentes intervenciones farmacológicas y no farmacológicas (28).

Tiene particular relevancia el manejo de los problemas de la alimentación y de la respiración, los cuales son discutidos desde el inicio de la enfermedad con la familia, para la planeación adelantada de las decisiones que se tomarán en el momento en que se presenten estos trastornos (27).

Otras

Aunque poco descritas en los ancianos, algunas otras enfermedades neurodegenerativas comienzan a ser vistas en este grupo de edad, tales como la enfermedad de Huntington y la esclerosis múltiple. Prácticamente no existen datos del manejo de estas enfermedades en etapas terminales en ancianos, y lo que se hace hoy en día es usar las estrategias en sujetos más jóvenes (29, 30).

Referencias

1. Hughes JC. Promoting palliative care in dementia. *Lancet Neurol.* 2010 Jan;9(1):25-7.
2. Morrison RS, Meier DE, Capello C. *Geriatric palliative care.* Oxford ; New York: Oxford University Press; 2003.

3. Watson MS. Oxford handbook of palliative care. 2nd ed. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2009.
4. Jordan A. Extending palliative care to patients with dementia. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2010 Jan;71(1):31-5.
5. Weiner MF, Lipton AM, American Psychiatric Publishing. The American Psychiatric Publishing textbook of Alzheimer disease and other dementias. 1st ed. Washington, DC: American Psychiatric Pub.; 2009.
6. Mendez MF, Cummings JL. Dementia : a clinical approach. 3rd ed. Philadelphia, PA: Butterworth-Heinemann; 2003.
7. Mitchell SL, Teno JM, Kiely DK, Shaffer ML, Jones RN, Prigerson HG, *et al*. The clinical course of advanced dementia. *N Engl J Med*. 2009 Oct 15;361(16):1529-38.
8. Gill TM, Gahbauer EA, Han L, Allore HG. Trajectories of disability in the last year of life. *N Engl J Med*. 2010 Apr 1;362(13):1173-80.
9. Richardson SS, Sullivan G, Hill A, Yu W. Use of aggressive medical treatments near the end of life: differences between patients with and without dementia. *Health Serv Res*. 2007 Feb;42(1 Pt 1):183-200.
10. Mitchell SL, Morris JN, Park PS, Fries BE. Terminal care for persons with advanced dementia in the nursing home and home care settings. *J Palliat Med*. 2004 Dec;7(6):808-16.
11. Volicer L, Hurley AC, Blasi ZV. Characteristics of dementia end-of-life care across care settings. *Am J Hosp Palliat Care*. 2003 May-Jun;20(3):191-200.
12. Parsons C, Hughes CM, Passmore AP, Lapane KL. Withholding, discontinuing and withdrawing medications in dementia patients at the end of life: a neglected problem in the disadvantaged dying? *Drugs Aging*. 2010 Jun 1;27(6):435-49.
13. Schneider LS, Dagerman K, Insel PS. Efficacy and adverse effects of atypical antipsychotics for dementia: meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2006 Mar;14(3):191-210.
14. Mittelman MS. Psychosocial intervention for dementia caregivers: what can it accomplish? *Int Psychogeriatr*. 2003;15 Suppl 1:247-9.
15. Simard J, Volicer L. Effects of Namaste Care on residents who do not benefit from usual activities. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. 2010 Feb;25(1):46-50.
16. Savitt JM, Dawson VL, Dawson TM. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: molecules to medicine. *J Clin Invest*. 2006 Jul;116(7):1744-54.
17. Perez LM, Farriols C, Puente V, Planas J, Ruiz I. The use of subcutaneous scopolamine as a palliative treatment in Parkinson's disease. *Palliat Med*. 2010 Sep 3.
18. Dellapina E, Gerdelat-Mas A, Ory-Magne F, Pourcel L, Galitzky M, Calvas F, *et al*. Apomorphine effect on pain threshold in Parkinson's disease: A clinical and positron emission tomography study. *Mov Disord*. 2010 Oct 19.

19. Gonzalez F. Diphenhydramine may be useful as a palliative treatment for patients dying with Parkinson's disease and tremors: a case report and discussion. *Am J Hosp Palliat Care*. 2009 Dec-2010 Jan;26(6):474-5.
20. Klivenyi P, Vecsei L. Novel therapeutic strategies in Parkinson's disease. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010 Feb;66(2):119-25.
21. Auriel E, Hausdorff JM, Giladi N. Methylphenidate for the treatment of Parkinson disease and other neurological disorders. *Clin Neuropharmacol*. 2009 Mar-Apr;32(2):75-81.
22. Lou JS, Dimitrova DM, Park BS, Johnson SC, Eaton R, Arnold G, *et al*. Using modafinil to treat fatigue in Parkinson disease: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Clin Neuropharmacol*. 2009 Nov-Dec;32(6):305-10.
23. Thomas AA, Friedman JH. Current use of clozapine in Parkinson disease and related disorders. *Clin Neuropharmacol*. 2010 Jan-Feb;33(1):14-6.
24. Linazasoro G, Lasa A, Van Blercom N. Efficacy and safety of donepezil in the treatment of executive dysfunction in Parkinson disease: a pilot study. *Clin Neuropharmacol*. 2005 Jul-Aug;28(4):176-8.
25. Bainbridge JL, Ruscin JM. Challenges of treatment adherence in older patients with Parkinson's disease. *Drugs Aging*. 2009;26(2):145-55.
26. Perry JJ, Shin DS, Tainer JA. Amyotrophic lateral sclerosis. *Adv Exp Med Biol*. 2010;685:9-20.
27. Bedlack RS. Amyotrophic lateral sclerosis: current practice and future treatments. *Curr Opin Neurol*. 2010 Oct;23(5):524-9.
28. Baumrucker SJ. Palliative care in amyotrophic lateral sclerosis: a new tool in the fight against an old enemy. *Am J Hosp Palliat Care*. 2001 Mar-Apr;18(2):81-2.
29. Deniz E, Kokat AM, Noyan A. Implant-supported overdenture in an elderly patient with Huntington's disease. *Gerodontology*. 2009 Oct 5.
30. Awad A, Stuve O. Multiple sclerosis in the elderly patient. *Drugs Aging*. 2010 Apr 1;27(4):283-94.

19 Evaluación de la actividad antagonista glutamatérgica y neuroprotectora de nuevos compuestos policíclicos

Francesc X. Sureda Batlle¹ y Marta López Querol¹

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas siguen constituyendo un enorme reto para la farmacología, puesto que los fármacos disponibles poseen una actividad escasa en este tipo de trastornos. Además, se prevé que la incidencia de estas enfermedades se incremente de forma importante en las próximas décadas, ya que la mayoría de ellas están relacionadas con el envejecimiento.

Por lo tanto, urge desarrollar nuevos fármacos neuroprotectores y que puedan constituir una alternativa al tratamiento de procesos como la enfermedad de Alzheimer (EA) o de Parkinson. No obstante, el desarrollo de nuevos compuestos se ve dificultado por un todavía incompleto conocimiento de las diferentes rutas bioquímicas implicadas en la neurodegeneración. Una de las vías sobre la que se ha investigado más profundamente es la que implica a la neurotransmisión glutamatérgica. Es bien conocido que la sobreactivación de receptores glutamatérgicos provoca un fenómeno denominado excitotoxicidad, y que tal proceso se halla presente en la EA u otras enfermedades neurodegenerativas, como parte de los trastornos que conducen a la muerte neuronal. Es por ello que se ha dedicado un enorme esfuerzo a desarrollar antagonistas de receptores glutamatérgicos que

¹ Unitat de Farmacologia, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Reus (Tarragona) España.

fueran a la vez eficaces y seguros para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

El presente trabajo describe una estrategia válida para la determinación de actividad antagonista sobre receptores glutamatérgicos, tomando como modelo el único fármaco que hasta ahora se ha desarrollado para minimizar el proceso neurodegenerativo en la EA: la memantina.

Introducción

Se estima que en Europa hay actualmente unos cinco millones de personas afectadas de la principal forma de demencia, la enfermedad de Alzheimer (EA) (Conduras y cols., 2010). Una característica destacable de estas enfermedades es que se trata de trastornos crónicos y que los tratamientos existentes tan sólo ejercen un efecto paliativo y limitado, retrasando levemente la aparición de sintomatología como el declive cognitivo (Daviglus y cols., 2010).

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la pérdida selectiva y progresiva de poblaciones neuronales específicas, y que son características de cada una de estas entidades nosológicas. Esta muerte neuronal puede ser iniciada por señales extrínsecas o intrínsecas, pero a nivel molecular se cree que existen posibles desencadenantes como la excitotoxicidad y el incremento de calcio intracelular asociado, las alteraciones del metabolismo energético, el estrés oxidativo, o la acumulación de agregados proteicos característicos (Dusart y cols., 1991; Marty y cols., 1991).

Excitotoxicidad y neurodegeneración

Desde los años setenta se estableció el efecto del ácido glutámico como agente capaz de inducir neurodegeneración. A partir de los estudios de Olney y sus colaboradores (Olney y Ho, 1970) pudo establecerse que la excitotoxicidad inducida por glutamato contribuye a gran número de trastornos cerebrales como isquemia, epilepsia, traumatismos craneoencefálicos, demencia asociada al sida y a la aparición de patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA) (Hynd y cols., 2004), de Parkinson (EP) (Caudle y Zhang, 2009), de Huntington (EH) (Estrada-Sánchez y cols., 2007), entre otras (Young, 2009).

Las neuronas glutamatergicas comprenden alrededor de 80% de la población total de neuronas de la corteza cerebral (Guimaraes y cols., 2009). Así, las neuronas glutamatergicas forman el principal sistema excitador en el cerebro, y éste desempeña un papel fundamental en diversas funciones neurofisiológicas. El glutamato interviene en el aprendizaje, la memoria y la función cognitiva. También es un neurotransmisor clave en la percepción primaria.

El efecto excitador del glutamato se ejerce a través de la activación de distintos receptores de membrana (Molinuevo J y cols., 2005). Estos receptores se hallan acoplados o bien a canales iónicos (receptores ionotrópicos) o bien a proteínas G (receptores metabotrópicos). Ambos realizan sus acciones especialmente a través de la facilitación de la entrada de calcio desde el exterior, o bien a partir de su movilización desde reservorios intracelulares como el retículo endoplasmático (figura 1).

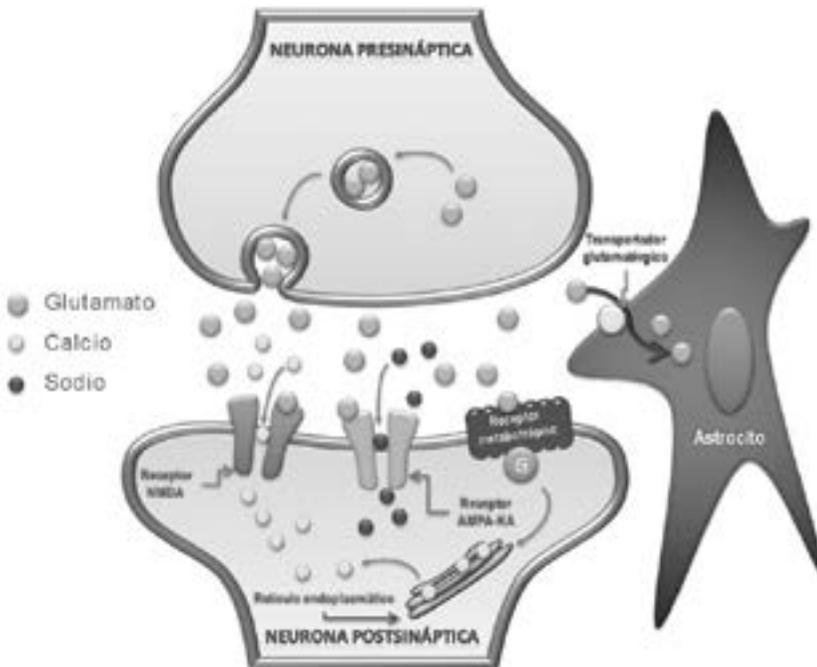


FIGURA 1. La transmisión glutamatergica. Mecanismos sinápticos de liberación, actuación sobre receptores postsinápticos y recaptación por transportadores específicos en glía.

Para su normal funcionamiento fisiológico, la correcta homeostasis del glutamato es esencial y su disfunción o falta de control puede tener consecuencias patológicas, debidas a la desregulación en las concentraciones de Ca^{2+} intracelular. De hecho, existe un delicado equilibrio entre dos procesos conflictivos, los mecanismos que permiten la entrada de Ca^{2+} fisiológica y aquellos que limitan el exceso de calcio intracelular para evitar los procesos neurodegenerativos. El desequilibrio entre ambos puede determinar la pérdida de viabilidad de la neurona (Foster, 2007). Los efectos neurotóxicos del glutamato son debidos fundamentalmente a la excesiva activación de los denominados receptores NMDA, puesto que son los más permeables a calcio, si bien actúan de forma cooperativa con los receptores de tipo AMPA-kainato, fundamentalmente permeables a sodio (Salinska y cols., 2005). Se han sintetizado numerosos antagonistas de los receptores NMDA, con la finalidad de disminuir la entrada de calcio a través de estas dianas y disminuir el proceso excitotóxico. Si bien los primeros estudios fueron prometedores, su desarrollo clínico se ha visto obstaculizado por la aparición de efectos adversos importantes, que dificultarían su implantación en terapéutica (Muir, 2006). No obstante, fármacos como la memantina sí han llegado a ser utilizados en clínica en enfermedades neurodegenerativas, si bien se conoció su mecanismo de acción con posterioridad a su uso terapéutico.

La memantina como fármaco neuroprotector

La memantina es un derivado estructural directo de la amantadina. La amantadina fue el primer miembro de la familia de moléculas llamadas aminoadamantanos que tuvieron aplicación clínica. En los años sesenta se comercializó por primera vez para el tratamiento de infecciones respiratorias debidas al virus de la influenza A, pero de manera casual se observaron sus efectos beneficiosos sobre síntomas extrapiramidales en pacientes de enfermedad de Parkinson (Kalia y cols., 2008). Inicialmente se asumió que sus efectos antiparkinsonianos se basaban en su actividad dopaminérgica. Pero más tarde algunos estudios mostraron que el mecanismo de acción predominante para ese efecto de la amantadina eran sus propiedades antagonistas sobre los receptores NMDA, actuando como un bloqueador de la apertura del canal (Kalia y cols., 2008). La memantina es el 1-amino-3,5-dimetiladamantano. Fue registrada y autorizada en Alemania para el

tratamiento de varios trastornos del sistema nervioso central en 1978 (Molinuevo y cols., 2005, Parsons y cols., 2007).

A diferencia de los antagonistas competitivos o no competitivos del receptor NMDA, la memantina no presenta efectos adversos importantes en el margen de dosis utilizado en terapéutica, lo que ha permitido hipotetizar que es su baja afinidad por los receptores NMDA, con una rápida velocidad de disociación del canal, la responsable de su seguridad y falta de efectos adversos. De alguna manera, parece ser que en condiciones fisiológicas se liberan elevadas concentraciones de glutamato de forma puntual, que consiguen desplazar la memantina de sus lugares de unión, por lo que no se ven afectadas dichas funciones fisiológicas. Sin embargo, frente a la presencia de concentraciones de glutamato quizá no tan elevadas, pero sí más persistentes, situación que sí se daría en procesos neurodegenerativos, la memantina sí permitiría mitigar en cierto modo la excesiva activación del receptor NMDA bloqueando la entrada de calcio a través del canal iónico asociado.

Por todo ello, el interés de la comunidad científica sobre los antagonistas del receptor NMDA se ha centrado especialmente en antagonistas de tipo no competitivo, pero de baja afinidad. Es ahí donde la memantina parece demostrar características únicas que ofrecen una oportunidad de intervención terapéutica para retrasar la neurodegeneración presente en la EA y trastornos similares (Koch *et al.*, 2004).

Desarrollo de nuevos antagonistas NMDA de baja afinidad

Aunque útil, la memantina ofrece una eficacia clínica limitada y sus características farmacocinéticas son mejorables, por lo que es evidente que puede ser optimizado su perfil farmacológico. Para ello, es preciso sintetizar compuestos que, con base en su similitud estructural con memantina, puedan aportar mejoras en este sentido.

La estructura tridimensional del receptor NMDA no se ha determinado con seguridad todavía, puesto que se trata de la combinación de cuatro subunidades diferentes que conforman el receptor, lo que dificulta enormemente esta tarea. Por lo tanto, no se ha podido aplicar una estrategia de diseño y síntesis basada en QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship). En cambio, se ha optado

por una estrategia de síntesis basada en la generación de compuestos con evidentes similitudes estructurales con memantina, pero con contracciones, expansiones o alteraciones más profundas de la estructura policíclica central.

En total, se han evaluado más de 120 compuestos con supuesta actividad sobre receptores glutamatérgicos de tipo NMDA.

Un modelo *in vitro* para la determinación de actividad antagonista NMDA

Una de las técnicas más utilizadas para el *screening* de fármacos es el análisis de la unión de compuestos a su receptor mediante radioligandos. Brevemente, esta técnica consiste en la evaluación de la afinidad de los nuevos compuestos frente a un sustrato biológico que suele ser constituido por un homogeneizado de tejido procedente del cerebro; de una región rica en receptores NMDA, en este caso. Sin embargo, esta técnica no es utilizable puesto que la unión de los posibles compuestos al receptor es dependiente de voltaje, y no es posible controlar este parámetro en los sustratos biológicos homogeneizados. Se requiere pues, de un sustrato “vivo”, que pueda ser representativo de la funcionalidad que se halla presente en el sistema nervioso central de humanos.

Por ello, se optó por utilizar cultivos primarios de neuronas granulares de cerebelo, un sustrato *in vitro* ampliamente establecido en la bibliografía y que permite evaluar la funcionalidad del receptor NMDA (Olmos *et al.*, 1999; Griffiths *et al.*, 2000). En concreto, estos cultivos procedentes de ratas de siete días de edad y madurados *in vitro* durante unos siete días, se incubaron con el fluorocromo Fura-2 AM, un indicador de las concentraciones intracelulares de calcio. Esta sustancia es un acetoximetiléster extremadamente liposoluble que se incorpora al interior celular, para ser desesterificado posteriormente en el citoplasma, para formar Fura-2 ácido. Esta sustancia es muy polar, por lo que permanece atrapada en el citoplasma de la neurona. Puesto que posee capacidad para quelar calcio, y que sus características fluorescentes varían según la cantidad de calcio presente en el interior de la neurona, la determinación de su fluorescencia permite evaluar de manera precisa y sin dañar la neurona cuál es el efecto de diferentes sustancias sobre la neurotransmisión glutamatérgica, cuyo efecto más plausible es el incremento de la concentración intracelular de calcio.

Detalles metodológicos

Se parte de unas cinco o seis ratas de unos siete días de edad, a las que se extrae el cerebelo en condiciones asépticas, para finalmente preparar cultivos primarios de células granulares de cerebelo según protocolos bien establecidos (Schousboe *et al.*, 1989). Las neuronas se hacen crecer en portaobjetos de cristal de 10 mm de diámetro, polilisinizados, situados en placas de 24 pocillos. Transcurridos de siete a 12 días, los cultivos ya pueden utilizarse para los ensayos de movilización de calcio con Fura-2.

Para el ensayo, se añade Fura-2 AM a la concentración de 5 microM y se incuba a 37°C durante 30-45 minutos. Transcurrido el periodo de incubación, el portaobjeto se incorpora a un soporte especial para su inserción en una cubeta estándar de cuarzo para espectrofluorimetría, que contiene 1,3 mL de tampón de ensayo (Locke-Hepes sin magnesio). Posteriormente, se inserta en un espectrofluorímetro PerkinElmer LS50B equipado con un accesorio Fast-Filter para la lectura rápida a 340-380 nm de excitación y lectura a 510 nm. El *software* de lectura (FLWinLab, PerkinElmer) permite la determinación en tiempo real de las oscilaciones de fluorescencia, medidas como cociente (ratio o R) de fluorescencias 340nm/380nm, que son directamente proporcionales a la concentración intracelular de calcio en las neuronas del cultivo.

La exposición de glicina (10 microM) y glutamato o NMDA (100 microM) a la muestra produce un incremento importante y sostenido de la concentración intracelular de calcio, que permite la realización de curvas de inhibición de la entrada de calcio acumulativas, mediante la incubación de concentraciones sucesivamente mayores de los compuestos de estudio, desde 0,1 a 1000 microM (figura 2). Con ello, y si el compuesto es activo, se inhibe de forma dependiente de concentración la entrada de calcio al interior de las neuronas de cultivo. Una vez realizado el experimento, se procede a la cuantificación de la inhibición de la señal respecto al valor máximo para cada una de las concentraciones del compuesto ensayado, para al final someter los datos a una regresión no lineal mediante *software* adecuado (GraphPad Prism 5.0) con un modelo de regresión para curvas de inhibición dosis-respuesta de pendiente variable. Con ello, se obtiene la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}), que definirá la potencia inhibitoria para cada uno de los compuestos que hayan ocasionado una respuesta inhibitoria de más de 50 % de la entrada de calcio inicial.

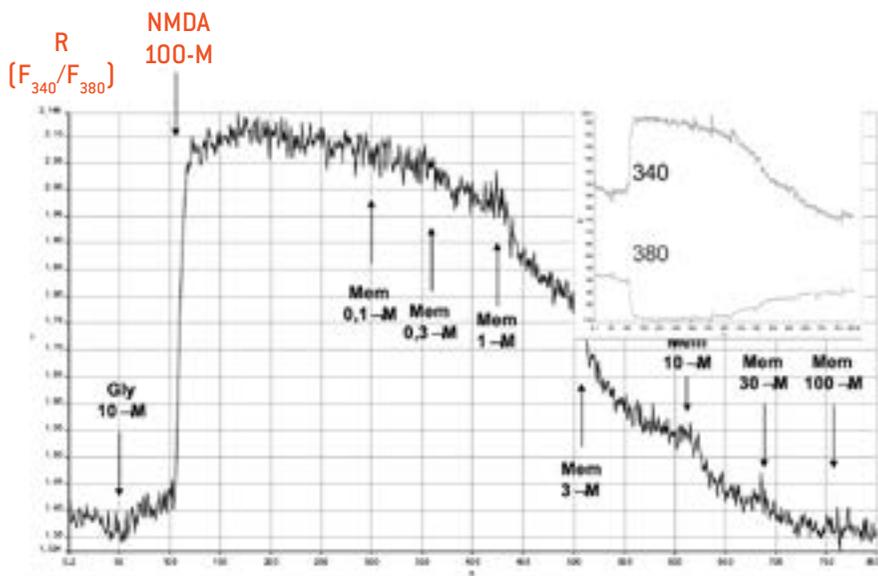


FIGURA 2. Efecto de la adición de sucesivas administraciones de memantina sobre el incremento de la concentración intracelular de calcio inducido por NMDA en presencia de glicina en cultivos de neuronas granulares de cerebelo.

Nuevos antagonistas del receptor NMDA derivados de memantina

Mediante la técnica descrita se pudo determinar la actividad de 120 compuestos de nueva síntesis, más dos compuestos de referencia (amantadina y memantina). Estos compuestos (109) fueron sintetizados por el grupo del doctor Santiago Vázquez de la Unidad de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de Barcelona (Universidad de Barcelona) y por el doctor Antoniós Kolocouris (11), de la Universidad de Atenas (Grecia). Todos los compuestos fueron diseñados teniendo en cuenta que existieran similitudes estructurales con memantina, ya fuera porque compartieran el núcleo principal (adamantanos, 21 compuestos), bien porque se hubiera sustituido un carbono por un oxígeno en dicha estructura (oxadamantanos, 19 compuestos) o bien porque se hubiera reducido el número de carbonos en el núcleo (noradamantanos, 18 compuestos, y bisnoradamantanos, 16 compuestos). Finalmente, se sintetizaron también algunos compuestos

que pese a mantener similitudes evidentes con el compuesto de referencia, ya presentaban variaciones más profundas desde el punto de vista estructural (pentaciclos, 18 compuestos, benzohomonoradamantanos, 9 compuestos, y benzohomooxadamantanos, 19 compuestos). En la figura 3 se presentan las estructuras de los compuestos evaluados.

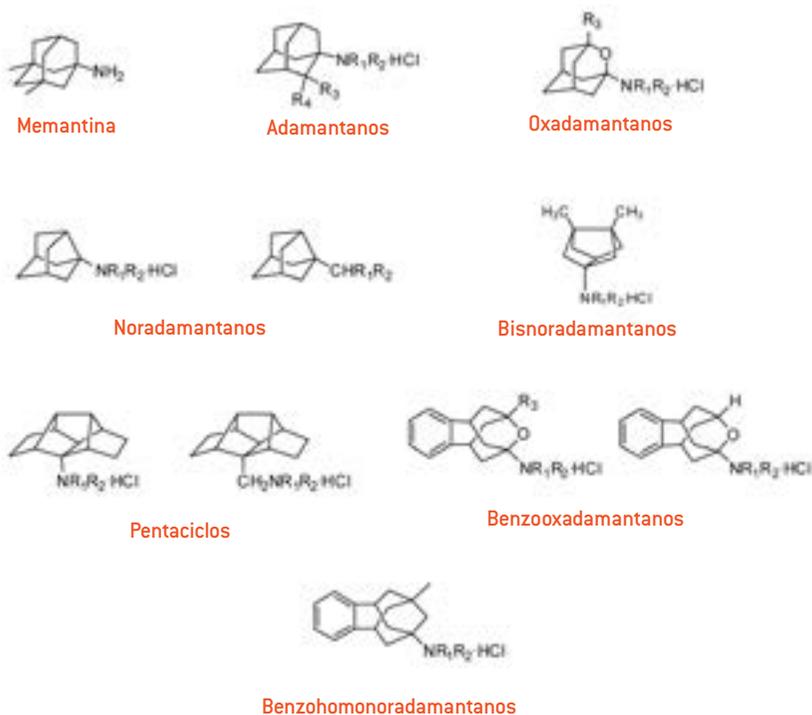


FIGURA 3. Memantina y estructuras básicas de los compuestos investigacionales evaluados.

Los compuestos que presentaron mejores valores de inhibición en general pertenecieron al grupo de los benzohomooxadamantanos, si bien otros compuestos con estructuras diferentes también demostraron actividad neuroprotectora. Estos ensayos se realizaron con el mismo tipo de cultivo neuronal. Se expusieron los cultivos a 200 μM de glutamato, en ausencia de glucosa, durante

1 h en presencia o ausencia del compuesto de estudio. Transcurridas 24 horas, se evaluó la muerte neuronal mediante la prueba de MTT. Si bien no todos los compuestos fueron evaluados, debido a limitaciones en la cantidad disponible, sí se pudo determinar que compuestos de ambos grupos (benzohomooxadamantanos y pentaciclos) presentaron actividad neuroprotectora en este modelo.

Comparación con otros sustratos biológicos

Los cultivos de células granulares de cerebelo son, por lo tanto, un excelente sustrato biológico para evaluar la actividad farmacológica de nuevos compuestos con posible actividad antagonista sobre receptores glutamatérgicos y su posible actividad neuroprotectora. No obstante, poseen algunos inconvenientes, como puede ser la necesidad de obtenerlos a partir de animales, o el lapso de tiempo necesario para su madurez (6-7 días) o el límite temporal que supone su pérdida paulatina de viabilidad, que empieza a ser patente a partir del duodécimo día *in vitro*. Es por ello que quisimos evaluar otros modelos neuronales *in vitro* para la determinación de la actividad antagonista glutamatérgica.

Los cultivos primarios de neuronas corticales de rata, o de neuronas hipocámpales de ratón, si bien podrían ser alternativas viables a los cultivos de cerebelo, no suponen ventajas importantes a ellos y su preparación es más complicada. Los resultados obtenidos tampoco fueron consistentes por lo que se refiere a la movilización de calcio inducida por agonistas glutamatérgicos, por lo que se descartaron para el *screening* rutinario de fármacos antagonistas sobre receptores de glutamato.

Otra alternativa la constituyen las líneas celulares, que pueden mantenerse en cultivo por un cierto número de pases sin necesidad de utilizar animales de experimentación. Por ejemplo, en las líneas celulares tumorales; una vez que se ha conseguido la densidad deseada en la placa de cultivo, estas células pueden diferenciarse a neuronas mediante la aplicación de factores de crecimiento o diferentes fármacos. En nuestro laboratorio probamos dos tipos diferentes de líneas celulares: las denominadas SH-SY5Y, de neuroblastoma humano, y las STHdh, neuronas estriatales inmortalizadas de un ratón *knock-in*. En este caso, se trata de células que deben cultivarse a 33°C, puesto que expresan un lentivirus que las hace susceptibles al proceso excitotóxico tras estimulación de receptores NMDA (Ginés *et al.*, 2003).

Con ninguno de estos dos sustratos biológicos se consiguieron resultados aceptables para nuestros objetivos. En el caso de la línea SH-SY5Y, si bien se consiguió cargar la sonda fluorescente en las células, aparentemente la exposición a glutamato o NMDA no consiguió incrementar las concentraciones intracelulares de calcio, lo que se puede justificarse con base en la ausencia de la expresión de receptores glutamatérgicos en esta línea, si bien se utilizaron tanto células sin diferenciar como células diferenciadas con ácido retinoico.

En el caso de las células STHdh, ninguno de los subtipos que se probaron, STHdh^{Q7}, la línea celular control, o la STHdh^{Q111} portador de un gen de huntingtina mutada (con 111 glutaminas) fue apto para nuestros estudios. En la mayoría de los casos, fue imposible conseguir una carga de Fura-2 aceptable debido a la temperatura de cultivo habitual, de sólo 33°C, y en los casos en que ello fue posible (a temperaturas mayores, o con períodos de incubación más prolongados), no se obtuvo ninguna señal tras la incubación con glutamato.

Conclusión y retos actuales

La determinación de la concentración intracelular de calcio con Fura-2 en cultivos de células granulares de cerebelo de rata constituye un excelente modelo para la determinación de actividad antagonista de nuevos compuestos sobre receptores de glutamato. Si bien no es un sustrato biológico libre de limitaciones, sí parece ser el más adecuado para la determinación de este tipo de actividad. Continúa siendo un reto para la neurobiología desarrollar líneas celulares que expresen la maquinaria característica de la neurotransmisión glutamatérgica (especialmente receptores) y que sean fáciles de mantener y constituyan una alternativa real a la utilización de cultivos primarios procedentes de animales de experimentación. Ello permitiría cumplir con mayor rigor los postulados de Russell y Birch en referencia a la reducción, reemplazo y refinamiento de los experimentos científicos con animales de experimentación.

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin la participación de los doctores Vázquez y Kolocouris y sus respectivos equipos. Asimismo, se agradece la financiación de CiberNed y al Ministerio de Educación y Ciencia español (SAF 2006-13092-C02-01) y Comissionat per a Universitats i Recerca del gobierno autónomo catalán (2009-SGR-853).

Referencias

- Cadle WM, Zhang J. Glutamate, excitotoxicity, and programmed cell death in parkinson disease. *Exp Neurol*, 2009;220:230-233.
- Conduras A, Rabasa I, Frank A, Bermejo-Pareja F, López-Pousa S, López-Arieta JM, *et al*. Prospective one-year cost of illness study in a cohort of patients with dementia of Alzheimer's disease type in España: the ECO study. *J Alzheimer's Dis*, 2010;19:601-615.
- Daviglus ML, Bell CC, Berrettini W, Bowen PE, Connolly ES Jr, Cox NJ, Dunbar-Jacob JM, Granieri EC, Hunt G, McGarry K, Patel D, Potosky AL, Sanders-Bush E, Silberg D, Trevisan M. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference statement: preventing Alzheimer disease and cognitive decline. *Ann Intern Med*, 2010;153(3):176-81.
- Dusart I, Marty S, Peschanski M. Glial changes following an excitotoxic lesion in the CNS—II. Astrocytes. *Neuroscience*, 1991;45(3):541-549.
- Estrada Sánchez AM, Mejía-Toiber J, Massieu L. Excitotoxic neuronal death and the pathogenesis of Huntington's Disease. *Arch Med Res*, 2008 4;39(3):265-276.
- Foster TC. Calcium homeostasis and modulation of synaptic plasticity in the aged brain. *Aging Cell*, 2007;6(3):319-325.
- Gines S, Ivanova E, Seong I, Saura CA, MacDonald ME. Enhanced Akt signaling is an early pro-survival response that reflects N-Methyl-D-aspartate receptor activation in Huntington's disease knock-in striatal cells. *J Biol Chem*, 2003; 12;278(50):50514-50522.
- Griffiths R, Grieve A, Scollon J, Scott M, Williams C, Meredith C. Preliminary evaluation of an in vitro test for assessment of excitotoxicity by measurement of early gene (c-fos mRNA) levels. *Toxicol In Vitro*, 2000;14(5):447-58.
- Guimaraes JS, Freire MAM, Lima RR, Souza-Rodrigues RD, Costa AMR, dos Santos CD, Picanço-Diniz CW, Gomes-Leal W. Mecanismos de degeneración secundaria en el

- sistema nervioso central durante los trastornos neuronales agudos y el daño en la sustancia blanca. *Rev Neurol*, 2009;48(6):304-310.
- Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.*, 2004;45:583-595.
- Kalia LV, Kalia SK, Salter MW. NMDA receptors in clinical neurology: excitatory times ahead. *Lancet Neurol*, 2008;7(8):742-755.
- Koch HJ, Szecsey A, Haen E. NMDA-antagonism (memantine): an alternative pharmacological therapeutic principle in Alzheimer's and vascular dementia. *Curr Pharm Des.* 2004;10(3):253-9.
- Marty S, Dusart I, Peschanski M. Glial changes following an excitotoxic lesion in the CNS—I. Microglia/macrophages. *Neuroscience*, 1991;45(3):529-539.
- Molinuevo JL, Lladó A, Rami L. Memantine: targeting glutamate excitotoxicity in Alzheimer's disease and other dementias. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.*, 2005;20(2):77-85.
- Muir KW. Glutamate-based therapeutic approaches: clinical trials with NMDA antagonists. *Curr Opin Pharmacol.*, 2006;6(1):53-60.
- Olmos G, DeGregorio-Rocasolano N, Paz Regalado M, Gasull T, Assumpció Boronat M, Trullas R, Villarroel A, Lerma J, García-Sevilla JA. Protection by imidazol(ine) drugs and agmatine of glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells through blockade of NMDA receptor. *Br J Pharmacol.*, 1999;127(6):1317-26.
- Olney JW, Ho OL. Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature*, 1970;227(5258):609-611.
- Parsons C, Stöffler A, Danysz W. Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system- too little activation is bad, too much is even worse. *Neuropharmacol*, 2007;53:699-723.
- Salinska E, Danysz W, Lazarewicz J. The role of excitotoxicity in neurodegeneration. *Folia Neuropathol*, 2005;43(4):322-339.
- Schousboe A, Meier E, Drejer J, Hertz L. Preparation of primary cultures of mouse (rat) cerebellar granule cells. En: *A dissection and tissue culture manual of the nervous system*. New York: Alan R. Liss Inc., 1989: 203-206.
- Young AB. Four decades of neurodegenerative disease research: How far we have come! *J Neurosci*, 2009;41(29):12722-12728.

20 Efecto de la estimulación magnética transcraneal terapéutica sobre la actividad eléctrica cerebral en pacientes con infarto cerebral

*Lilia Maria Morales Chacón,¹ Lázaro Gómez Fernández,¹
Genco Estrada Vinajera¹ y Otto Trapaga Quincoses¹*

Resumen

La estimulación magnética transcraneal es un método no invasivo que permite la estimulación cerebral basado en los principios de la inducción electromagnética. Esta técnica permite modular la actividad de la corteza cerebral, demostrando un alto potencial terapéutico en múltiples enfermedades, entre ellas, la epilepsia, la depresión, el dolor, el tinnitus, la migraña y la enfermedad cerebrovascular (ECV). Este efecto modulador puede incidir positivamente en la recuperación de funciones en pacientes con lesiones cerebrales, y mejorar el resultado de la aplicación de los métodos de rehabilitación física.

Las técnicas de mapeo cerebral han contribuido a la comprensión de los mecanismos moleculares, celulares y funcionales de la recuperación después de un accidente cerebrovascular. Entre estas técnicas se encuentra el magnetoencefalograma (MEG), y el electroencefalograma (EEG). La actividad electroencefalográfica es una de las herramientas más sensible para medir el impacto sobre

¹ Centro Internacional de Restauración Neurológica, La Habana, Cuba.

el cerebro de la EMT, de tal forma que el EEG se ha utilizado básicamente con dos objetivos: a) evaluar la seguridad de la aplicación de la EMT y b) determinar los efectos específicos que produce este tipo de estimulación en la actividad eléctrica cerebral. En este trabajo se revisan las evidencias sobre la aplicación de la EMT como alternativa terapéutica, así como el efecto que se produce en la actividad electroencefalográfica en pacientes con infarto cerebral. Se abordan las experiencias preliminares de los autores en la utilización de la EMTr a baja frecuencia adjunta a rehabilitación multifactorial intensiva en pacientes con infartos cerebrales, haciendo énfasis en el impacto en la evolución clínica y en la actividad electroencefalográfica.

Introducción

La estimulación magnética transcraneal es un método no invasivo y generalmente bien tolerado que permite la estimulación cerebral basado en los principios de la inducción electromagnética. Según el tipo de pulso magnético utilizado, puede ser a pulso único, pareado y repetitivo (1, 2). A diferencia de las dos primeras la estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) puede inducir cambios en la excitabilidad cortical y en la actividad neuronal que perduran más allá de la duración del estímulo por minutos u horas (3), esto justifica su uso como herramienta terapéutica (4). Se asume que estos efectos se pueden utilizar para modular la actividad neuronal en un área cortical dañada para obtener un beneficio funcional (2). Los efectos inducidos por la EMT dependen de la frecuencia, intensidad y la duración del estímulo. En general se postula que la EMTr de baja frecuencia (≤ 1 Hz) reduce la excitabilidad cortical, tal como lo evidencian los reportes de aumento en la duración del periodo silente cortical (5) y la reducción de las amplitudes potencial evocado motor (6). En tanto la estimulación a altas frecuencias (más de 5 Hz) aumenta la excitabilidad cortical (7). Estos efectos son una reminiscencia de la depresión y la potenciación a largo plazo (LTD y LTP del inglés), dos formas de plasticidad sináptica evidenciadas en los circuitos corticales de modelos animales por estimulación a baja y alta frecuencia respectivamente.

Aunque este marco teórico es atractivo, cabe señalar que en realidad existe poca evidencia de que de que la EMTr induzca la LTD en el cerebro humano,

en tanto otros mecanismos —incluyendo el aumento de la inhibición GABAérgica— pueden estar involucrados en la acción antiepiléptica (7) mayoritariamente atribuida a la disminución de la excitabilidad cortical provocada por la EMTr a baja frecuencia (8-11).

Se reporta que tanto la EMTr, como la estimulación continua Theta Burst (del inglés) en individuos con factores de riesgo puede provocar la aparición de crisis epilépticas, entre otros efectos adversos leves (12, 13). En un artículo reciente, donde se realiza una revisión de la literatura, se concluye que incluso en pacientes con epilepsia el riesgo de aparición de crisis tras la EMTr es bajo y que la aparición de otros efectos adversos ligeros resulta comparable al observado cuando se aplica la técnica en otras patologías. Así las cosas, esta técnica parece ser igual de segura en pacientes con epilepsia como en individuos no epilépticos, garantizando su aplicación en la investigación y en la terapéutica (1).

El efecto modulador de la EMT en la actividad de la corteza cerebral puede tener una duración aproximada de 1 a 2 horas después de una sesión de estimulación; esto se ha demostrado con métodos electrofisiológicos y de imágenes funcionales. Su aplicación de forma repetitiva y seriada aumenta la ventana temporal del efecto sobre el cerebro, debido a un efecto sumatorio, esto ofrece alternativas seguras y eficaces para el tratamiento de varias patologías, demostrando un alto potencial terapéutico en las epilepsias, la depresión, el dolor, el tinnitus, la migraña y la enfermedad cerebrovascular (ECV) (14-18). Este efecto modulador podría incidir positivamente en la recuperación de la función motora en pacientes con lesiones cerebrales, y mejorar el resultado de la aplicación de los métodos de rehabilitación física; sin que exista evidencia suficiente para recomendar su uso con este fin (4).

Enfermedad cerebrovascular e infarto cerebral

Las ECV constituyen un grupo heterogéneo de entidades que afectan al cerebro como resultado de un proceso mórbido de los vasos sanguíneos y/o su contenido, y que pueden cursar con lesión de la pared vascular, oclusión de la luz por trombos o émbolos, ruptura de vasos, incremento de la viscosidad sanguínea, alteración de la permeabilidad de la pared vascular u otros cambios en la calidad de la sangre. El infarto cerebral representa aproximadamente 85% de toda la ECV y aparecen secundariamente a la alteración cualicuantitativa del aporte circulatorio

a un determinado territorio encefálico, provocando un déficit neurológico de más de 24 horas de duración, expresión de una necrosis tisular (19).

La evolución clínica espontánea de los pacientes con infarto cerebral se observa en un periodo de semanas a meses después del infarto (20), con diferentes patrones de tiempo según el dominio de las funciones neurológicas. Se ha observado que la máxima recuperación funcional en miembros superiores se alcanza espontáneamente en 95% de los pacientes aproximadamente a las 9 semanas. Las habilidades del lenguaje se recuperan en 95% de los casos alrededor de las 6 semanas postinfarto (21). La mejoría clínica dependiente de la reorganización funcional neuronal obedece a varios factores, como el sitio de la lesión y la función cortical que desempeña el área lesionada.

Las crisis epilépticas se encuentran entre las secuelas neurológicas más comunes de la ECV. Aproximadamente 10% de los pacientes con ECV puede presentar crisis epilépticas durante el curso de la enfermedad (22-24).

De los pacientes que sobreviven a un infarto cerebral, de 30% a 40% tiene una incapacidad importante, de naturaleza motora, sensorial y cognitiva, considerándose la causa más frecuente de incapacidad de todas las enfermedades neurológicas. La estrategia a seguir en cuanto al tratamiento del infarto cerebral radica en la intervención en la etapa aguda, basada en la terapia trombolítica, radiológica-intervencionista y la rehabilitación precoz, con lo cual se han logrado avances satisfactorios (19).

Tanto en las etapas subagudas como en las crónicas se han implementado múltiples métodos y técnicas de rehabilitación con impacto en la evolución clínica (25-28). El tratamiento rehabilitador permite que un alto porcentaje de estos pacientes a pesar del grado de déficit que padezca alcancen una función neurológica normal y se reinserten en las actividades de la vida diaria. Los resultados observados aunque prometedores son aun insuficientes, principalmente en el paciente crónico donde el éxito de la terapia rehabilitatoria en la recuperación funcional es limitado. Una de las razones de esta limitación es el reto de medir y orientar la plasticidad del cerebro después de la lesión (26, 27).

En la búsqueda de alternativas terapéuticas se insertan nuevas formas de rehabilitación como el uso de la robótica asistida y la realidad virtual (29), o los métodos de estimulación cerebral como la electroacupuntura y la estimulación eléctrica cerebral (30). En este contexto la EMT como técnica neurofisiológica se perfila con fuerza actualmente en la rehabilitación neurológica (EMT) (31) (32).

Constituye una herramienta terapéutica prometedora para reducir al mínimo el déficit motor, del lenguaje, cognitivo, y del estado de ánimo. Dilucidar cómo la EMT puede ayudar a comprender los mecanismos de recuperación neurológica, y cómo se puede utilizar para evaluar y modular la plasticidad después de un insulto cerebral adquirido continua siendo un tema de debate en la actualidad (33).

Estimulación magnética transcraneal y su uso en el tratamiento del infarto cerebral

El uso de la EMT en pacientes con infarto cerebral provoca modificaciones en diferentes regiones del cerebro, tanto en el hemisferio lesionado como en el contralateral, y se ha utilizado en diferentes fases evolutivas después del infarto (34, 35). Basándose en la teoría de la “rivalidad interhemisférica”, se utilizan diferentes protocolos de estimulación con el objetivo de inhibir el hemisferio contralateral a la lesión o excitar el hemisferio afectado. Se han descrito experimentos en los que la inhibición de un hemisferio, mediante EMTr a bajas frecuencias, facilita la ejecución de tareas motoras en las que participa el otro hemisferio (36).

Otro efecto potencial de la estimulación cortical se basa en la neuroprotección. En pacientes con ECV, la estimulación cortical es capaz de incrementar la expresión y liberación de sustancias neurotransmisoras en el cerebro que promueven la neuroprotección al reducir la degeneración celular provocada por excitotoxicidad. Se ha planteado que la EMT podría modular el umbral neuronal e incluso provocar un aumento en la eficiencia de la transmisión sináptica. Estos mecanismos están expresados como una forma de plasticidad funcional o metaplasticidad (37, 38).

Las experiencias del uso de la EMT en pacientes con infartos cerebrales comenzaron con Khedr *et al.*, quienes describieron resultados satisfactorios en cuanto a la recuperación motora en un ensayo realizado en 52 pacientes con infartos isquémicos agudos del territorio de la arteria cerebral media, tratados durante 10 días con EMTr estimulando el hemisferio afectado. Este mismo grupo reportó recientemente el efecto de la EMTr a corto y largo plazo en la recuperación motora de pacientes con ECV (39, 40).

Efecto de la EMT terapéutica sobre la actividad eléctrica cerebral en pacientes con infarto cerebral

Las técnicas de mapeo cerebral han demostrado ser vitales para comprender los mecanismos moleculares, celulares y funcionales de la recuperación después del accidente cerebrovascular. Entre estas técnicas se encuentra la RMN especialmente las imágenes con tensor de difusión (DTI), la espectroscopia por resonancia magnética (MRS), tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía por emisión de fotón único (SPECT), el magnetoencefalograma (MEG) y el electroencefalograma (EEG)(41).

Los cambios que sufre el cerebro tienen una expresión inmediata en el EEG (42), de tal forma que el EEG es hoy una de las herramientas más sensible para medir el impacto de la EMT sobre el cerebro y se utiliza básicamente con dos objetivos: a) evaluar la seguridad de la aplicación de EMT y b) determinar los efectos específicos que produce este tipo de estimulación en la actividad eléctrica cerebral (43-45).

La mayoría de los estudios se basan en la utilización conjunta de estas técnicas, el registro del EEG antes e inmediatamente después de la estimulación y los registros EEGráficos evolutivos para ver la duración en el tiempo de los cambios registrados (46, 47). Las primeras aproximaciones del uso conjunto de estas técnicas se utilizaron para determinar la seguridad de la EMT. El efecto adverso más temido es la precipitación de crisis epilépticas, gracias a estos estudios se conoce que la asociación de la EMT y las crisis es menos de 1%, la inducción de puntas epileptiformes en el EEG por el uso de la EMT se ha observado en estudios con animales. Ciertos cambios en el EEG son indicativos de susceptibilidad aumentada para la ocurrencia de crisis epilépticas, como la ocurrencia de descargas epileptiformes y la persistencia de ondas lentas focales. La aparición de estas anomalías en el curso de la estimulación son indicativos de la aparición inminente de crisis (12).

El registro conjunto del EEG durante la EMT ha demostrado además ser una fuerte herramienta investigativa para discernir los patrones de conectividad del sistema nervioso central, permitiendo observar con alta resolución temporal los patrones de activación EEGráficos tras la EMT (48).

Otra área potencial del uso del EEG conjuntamente con la EMT es en la determinación del efecto local sobre la actividad eléctrica cerebral en un sitio de estimulación específico, usando diferentes protocolos de estimulación a intensi-

dades, duraciones y frecuencias disímiles. En la EMT a pulso único se ha descrito en el área de estimulación que a altas frecuencias el EEG muestra signos de desincronización de la actividad (tránsito de bajas frecuencias y grandes amplitudes a altas frecuencias y pequeñas amplitudes), esta respuesta es de activación. Por otra parte la estimulación a bajas frecuencias provoca sincronización del EEG (desarrollo de bajas frecuencias y altas amplitudes) y sugiere inhibición de la zona estimulada, observados tanto en vigilia como en registros EEGráficos de sueño (43, 49).

En el EEG los cambios producidos por la EMT persisten alrededor de 15 a 70 minutos según el protocolo de estimulación empleado y son similares a los registrados en fenómenos fisiológicos como la fatiga y el aprendizaje muscular. Diversos autores refieren que el efecto sobre la actividad eléctrica cerebral de la EMT se debe mayoritariamente a un mecanismo compensatorio global de regiones corticales no estimuladas directamente, que son funcionalmente normales, esto sucede en sujetos sanos (46, 50).

Recientemente se han inducido oscilaciones cerebrales en el EEG a la misma frecuencia del estímulo utilizado en la EMT, gracias a esto se ha abierto un campo de investigación para determinar la génesis de los ritmos cerebrales y su relación con estados conductuales; haciendo énfasis en las propiedades endógenas de los circuitos cerebrales activados y la actividad de las conexiones subcortico-talámico-corticales, esto se ha discutido en los últimos años principalmente en afecciones neuropsiquiátricas (46, 50).

El EEG resulta ser, entonces, una herramienta que contribuye a dilucidar los mecanismos que median en el efecto de la EMT sobre el cerebro. Las medidas del EEG que se han utilizado para evaluar el impacto de la EMT en el cerebro se han basado principalmente en técnicas de análisis cuantitativo de la actividad de base: análisis espectral de banda ancha y coherencia intra e interhemisférica (50-52). La evaluación de la actividad epileptiforme solamente se ha realizado en los estudios que abordan el uso de la EMT en pacientes con epilepsia y los resultados obtenidos son controversiales (9, 53).

En un ensayo clínico que realiza nuestro grupo (datos no publicados) en el Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN) se conformó una muestra constituida por pacientes con diagnóstico de infarto cerebral distribuida en dos grupos mediante aleatorización simple. Uno recibió el programa rehabilitación multifactorial intensiva asociada a EMT placebo, y al otro se le aplicó

un esquema de 21 sesiones de EMTr (1Hz) en el hemisferio sano antes de cada sesión de rehabilitación multifactorial intensiva. Se evaluaron las escalas clínicas Escandinava y Barthel y se realizó un análisis de la actividad EEGráfica de base y la actividad epileptiforme interictal (AEI). Mediante un análisis cuantitativo del EEG se determinó el índice delta alfa (IDA), a mayor índice: mayor energía para las frecuencias en el rango delta y menor energía para la banda alfa. Al comparar los resultados clínicos pre y postterapia encontramos que los pacientes que recibieron EMTr (1Hz) presentaron una tendencia a la mejoría clínica reflejada en una disminución de las discapacidades cognitivo-motoras, evaluadas a través de la escala Escandinava ($p=0.06$). El análisis del EEG reveló una tendencia a la disminución del IDA en el grupo sometido a rehabilitación y EMTr, constatándose 23% mayor de variación del IDA en comparación al grupo que recibió rehabilitación y EMTr placebo, denotando una respuesta de activación (figura 1). El IDA no se había evaluado anteriormente en estudios de EMT en pacientes con infarto cerebral. Un estudio de metanálisis sobre el efecto de la EMT en la actividad electroencefalográfica expone que la magnitud de los cambios luego de la EMT a bajas frecuencias están en el rango de 30% a 35 % (46).

En relación con la evaluación de la AEI el grupo de pacientes al que se le aplicó EMTr-1Hz y rehabilitación evidenciamos también una tendencia al aumento de la frecuencia de descarga absoluta total (FDT) de AEI sin la aparición de crisis epilépticas ($p=0.067$). En ninguno de los pacientes de la muestra se produjeron crisis epilépticas u otro efecto adverso durante las sesiones de EMTr. En los pacientes que se sometieron a EMTr placebo y rehabilitación no se constataron modificaciones en la amplitud ni en la FDT de la AEI.

El fundamento neurofisiológico por el cual la EMTr a bajas frecuencias produce modificaciones en la AEI no se conoce, una explicación plausible podría ser un efecto modulador de los circuitos intracorticales inhibitorios (depresión a largo plazo) y reforzamiento de la inhibición GABAérgica (14). Se describe que este efecto ocurre también en regiones cerebrales distantes a la estimulada (54). La presencia de AEI se asocia a cambios neurofisiológicos, neurometabólicos, neurovasculares y neuroquímicos resultando en trastornos cognitivos, conductuales, afectivos sin que necesariamente se produzcan crisis epilépticas (55). La evaluación de la AEI en pacientes con infarto cerebral sometidos a EMTr carece de reportes en la literatura revisada.

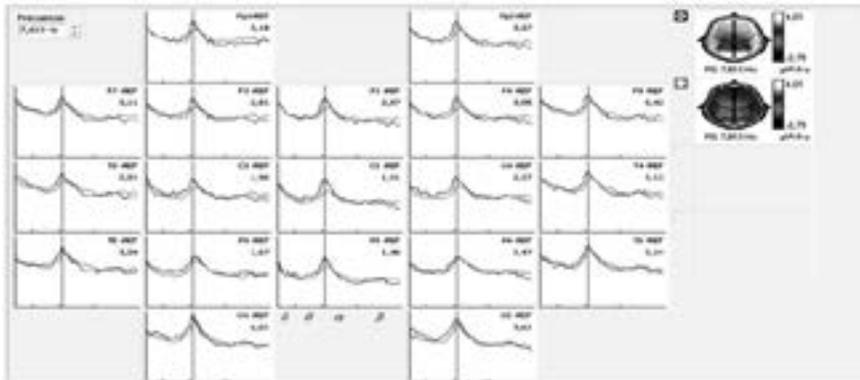


FIGURA. 1 Espectro de frecuencia del EEG para las derivaciones del sistema internacional 10-20 en un paciente con infarto cerebral sometido a rehabilitación multifactorial intensiva y EMT-1Hz. Curvas espectrales negro antes de la terapia. Curvas rojo después de las 21 sesiones de terapia. Nótese el predominio de las altas frecuencias y en el espectro de frecuencia postterapia.

A pesar de que existen algunos puntos de contacto y similitudes en la patogénesis de la actividad epileptiforme registrada en pacientes después de un infarto cerebral y en algunos tipos de epilepsias, no es plausible asumir que el efecto modulador que produce la EMTr sobre neurotransmisores específicos como el GABA y sus receptores en estas epilepsias con la consecuente disminución de la AEI se pueda traspasar linealmente a lo que sucede con la AEI en el infarto cerebral. Los reportes publicados en pacientes con ECV isquémica no han demostrado relación entre la frecuencia de descarga de AEI y la evolución clínica, e incluso no existen evidencias de que el daño isquémico se incremente con el aumento de hiperexcitabilidad eléctrica de la membrana del tejido cicatrizal o necrótico en los estadios subagudo o crónico de la enfermedad (56, 57).

Podemos concluir planteando que la EMTr adjunta a las técnicas de rehabilitación representa una potencial alternativa terapéutica en pacientes con infarto cerebral aun en estadios crónicos. Los estudios neurofuncionales y en especial los que evalúan la actividad eléctrica cerebral contribuyen a la comprensión de los mecanismos funcionales que median en el efecto de la EMT sobre el cerebro tras la recuperación después de un accidente cerebrovascular.

Referencias

1. Bae,E.H., Schrader,L.M., Machii,K., Alonso-Alonso,M., Riviello,J.J., Jr., Pascual-Leone,A., and Rotenberg,A. Safety and tolerability of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with epilepsy: a review of the literature. *Epilepsy Behav.* 2007; 10 :521-528.
2. Fregni,F. and Pascual-Leone,A. Technology insight: noninvasive brain stimulation in neurology-perspectives on the therapeutic potential of rTMS and tDCS. *Nat.Clin. Pract.Neurol.* 2007; 3 :383-393.
3. Miniussi,C., Cappa,S.F., Cohen,L.G., Floel,A., Fregni,F., Nitsche,M.A., Oliveri,M., Pascual-Leone,A., Paulus,W., Priori,A., and Walsh,V. Efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation/transcranial direct current stimulation in cognitive neuro-rehabilitation. *Brain Stimul.* 2008; 1 :326-336.
4. Kim,Y.H., You,S.H., Ko,M.H., Park,J.W., Lee,K.H., Jang,S.H., Yoo,W.K., and Hallett,M. Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced corticomotor excitability and associated motor skill acquisition in chronic stroke. *Stroke.* 2006; 37 :1471-1476.
5. Cincotta,M., Borgheresi,A., Gambetti,C., Balestrieri,F., Rossi,L., Zaccara,G., Olivelli,M., Rossi,S., Civardi,C., and Cantello,R. Suprathreshold 0.3 Hz repetitive TMS prolongs the cortical silent period: potential implications for therapeutic trials in epilepsy. *Clin.Neurophysiol.* 2003; 114 :1827-1833.
6. Muellbacher,W., Ziemann,U., Boroojerdi,B., and Hallett,M. Effects of low-frequency transcranial magnetic stimulation on motor excitability and basic motor behavior. *Clin.Neurophysiol.* 2000; 111 :1002-1007.
7. Kimiskidis,V.K. Transcranial magnetic stimulation for drug-resistant epilepsies: rationale and clinical experience. *Eur.Neurol.* 2010; 63 :205-210.
8. Pascual-Leone,A., Valls-Sole,J., Brasil-Neto,J.P., Cohen,L.G., and Hallett,M. Seizure induction and transcranial magnetic stimulation. *Lancet.* 1992; 339 :997.
9. Fregni,F., Otachi,P.T., Do,V.A., Boggio,P.S., Thut,G., Rigonatti,S.P., Pascual-Leone,A., and Valente,K.D. A randomized clinical trial of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with refractory epilepsy. *Ann.Neurol.* 2006; 60 :447-455.
10. Paulus,W. Toward establishing a therapeutic window for rTMS by theta burst stimulation. *Neuron.* 2005; 45 :181-183.
11. Meunier,S., Russmann,H., Simonetta-Moreau,M., and Hallett,M. Changes in spinal excitability after PAS. *J.Neurophysiol.* 2007; 97 :3131-3135.
12. Gomez,L., Morales,L., Trapaga,O., Zaldivar,M., Sanchez,A., Padilla,E., Grass,D., Diaz,A., and Morales,H. Seizure induced by sub-threshold 10-Hz rTMS in a patient with multiple risk factors. *Clin.Neurophysiol.* 2010.

13. Oberman,L.M. and Pascual-Leone,A. Report of seizure induced by continuous theta burst stimulation. *Brain Stimul.* 2009; 2 :246-247.
14. Theodore,W.H. Transcranial Magnetic Stimulation in Epilepsy. *Epilepsy Curr.* 2003; 3 :191-197.
15. Dodick,D.W., Schembri,C.T., Helmuth,M., and Aurora,S.K. Transcranial magnetic stimulation for migraine: a safety review. *Headache.* 2010; 50 :1153-1163.
16. Alisauskienė,M., Truffert,A., Vaiciene,N., and Magistris,M.R. Transcranial magnetic stimulation in clinical practice. *Medicina (Kaunas).* 2005; 41 :813-824.
17. Fregni,F. and Pascual-Leone,A. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression in neurologic disorders. *Curr.Psychiatry Rep.* 2005; 7 :381-390.
18. George,M.S. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression. *Expert.Rev.Neurother.* 2010; 10 :1761-1772.
19. Barrett,K.M. and Meschia,J.F. Acute ischemic stroke management: medical management. *Semin.Neurol.* 2010; 30 :461-468.
20. Bastings,E.P., Greenberg,J.P., and Good,D.C. Hand motor recovery after stroke: a transcranial magnetic stimulation mapping study of motor output areas and their relation to functional status. *Neurorehabil.Neural Repair.* 2002; 16 :275-282.
21. Reis,J., Robertson,E.M., Krakauer,J.W., Rothwell,J., Marshall,L., Gerloff,C., Wassermann,E.M., Pascual-Leone,A., Hummel,F., Celnik,P.A., Classen,J., Floel,A., Ziemann,U., Paulus,W., Siebner,H.R., Born,J., and Cohen,L.G. Consensus: Can transcranial direct current stimulation and transcranial magnetic stimulation enhance motor learning and memory formation? *Brain Stimul.* 2008; 1 :363-369.
22. Myint,P.K., Staufenberg,E.F., and Sabanathan,K. Post-stroke seizure and post-stroke epilepsy. *Postgrad.Med.J.* 2006; 82 :568-572.
23. Kim,J.H., Lee,H.W., Cohen,L.G., Park,K.D., and Choi,K.G. Motor cortical excitability in patients with poststroke epilepsy. *Epilepsia.* 2008; 49 :117-124.
24. De,R.J. and Van,M.G. Status epilepticus in stroke patients. *Eur.Neurol.* 2009; 62 :171-175.
25. Ackerley,S.J., Stinear,C.M., Barber,P.A., and Byblow,W.D. Combining theta burst stimulation with training after subcortical stroke. *Stroke.* 2010; 41 :1568-1572.
26. Boake,C., Noser,E.A., Ro,T., Baraniuk,S., Gaber,M., Johnson,R., Salmeron,E.T., Tran,T.M., Lai,J.M., Taub,E., Moye,L.A., Grotta,J.C., and Levin,H.S. Constraint-induced movement therapy during early stroke rehabilitation. *Neurorehabil.Neural Repair.* 2007; 21 :14-24.
27. Brown,A.W. and Schultz,B.A. Recovery and rehabilitation after stroke. *Semin.Neurol.* 2010; 30 :511-517.
28. Edwards,D.J. On the understanding and development of modern physical neurorehabilitation methods: robotics and non-invasive brain stimulation. *J.Neuroeng.Rehabil.* 2009; 6:3.3.

29. Duret,C. [Contributions of robotic devices to upper limb poststroke rehabilitation]. *Rev.Neurol.(Paris)*. 2010; 166 :486-493.
30. von,L.F., Hofer,S., Kaus,J., Merboldt,K.D., Rothkegel,H., Schweizer,R., Liebetanz,D., Frahm,J., and Paulus,W. Efficacy of EMG-triggered electrical arm stimulation in chronic hemiparetic stroke patients. *Restor.Neurol.Neurosci*. 2009; 27 :189-197.
31. Wassermann,E.M. and Lisanby,S.H. Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation: a review. *Clin.Neurophysiol*. 2001; 112 :1367-1377.
32. Alonso-Alonso,M., Fregni,F., and Pascual-Leone,A. Brain stimulation in poststroke rehabilitation. *Cerebrovasc.Dis*. 2007; 24 Suppl 1:157-66. Epub@2007 Nov 1.157-166.
33. Bashir,S., Edwards,D., and Pascual-Leone,A. Neuronavigation Increases the Physiologic and Behavioral Effects of Low-Frequency rTMS of Primary Motor Cortex in Healthy Subjects. *Brain Topogr*. 2010.
34. Arac,N., Sagduyu,A., Binai,S., and Ertekin,C. Prognostic value of transcranial magnetic stimulation in acute stroke. *Stroke*. 1994; 25 :2183-2186.
35. Bernad,D.M. and Doyon,J. The role of noninvasive techniques in stroke therapy. *Int.J.Biomed.Imaging*. 2008; 2008:672582.672582.
36. Williams,J.A., Pascual-Leone,A., and Fregni,F. Interhemispheric modulation induced by cortical stimulation and motor training. *Phys.Ther*. 2010; 90 :398-410.
37. Ziemann,U. and Siebner,H.R. Modifying motor learning through gating and homeostatic metaplasticity. *Brain Stimul*. 2008; 1 :60-66.
38. Thickbroom,G.W. and Mastaglia,F.L. Plasticity in neurological disorders and challenges for noninvasive brain stimulation (NBS). *J.Neuroeng.Rehabil*. 2009; 6:4.4.
39. Khedr,E.M., Ahmed,M.A., Fathy,N., and Rothwell,J.C. Therapeutic trial of repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke. *Neurology*. 2005; 65 :466-468.
40. Khedr,E.M. and Fetoh,N.A. Short- and long-term effect of rTMS on motor function recovery after ischemic stroke. *Restor.Neurol.Neurosci*. 2010; 28 :545-559.
41. Eliassen,J.C., Boespflug,E.L., Lamy,M., Allendorfer,J., Chu,W.J., and Szaflarski,J.P. Brain-mapping techniques for evaluating poststroke recovery and rehabilitation: a review. *Top.Stroke Rehabil*. 2008; 15 :427-450.
42. Blume,W.T. Current trends in electroencephalography. *Curr.Opin.Neurol*. 2001; 14 :193-197.
43. Cooper,N.R., Fitzgerald,P.B., Croft,R.J., Upton,D.J., Segrave,R.A., Daskalakis,Z.J., and Kulkarni,J. Effects of rTMS on an auditory oddball task: a pilot study of cortical plasticity and the EEG. *Clin.EEG.Neurosci*. 2008; 39 :139-143.
44. Fitzgerald,P.B. TMS-EEG: a technique that has come of age? *Clin.Neurophysiol*. 2010; 121 :265-267.

45. Johnson,J.S., Hamidi,M., and Postle,B.R. Using EEG to explore how rTMS produces its effects on behavior. *Brain Topogr.* 2010; 22 :281-293.
46. Thut,G. and Pascual-Leone,A. A review of combined TMS-EEG studies to characterize lasting effects of repetitive TMS and assess their usefulness in cognitive and clinical neuroscience. *Brain Topogr.* 2010; 22 :219-232.
47. Thut,G. and Pascual-Leone,A. Integrating TMS with EEG: How and what for? *Brain Topogr.* 2010; 22 :215-218.
48. Ferreri,F., Pasqualetti,P., Maatta,S., Ponzo,D., Ferrarelli,F., Tononi,G., Mervaala,E., Miniussi,C., and Rossini,P.M. Human brain connectivity during single and paired pulse transcranial magnetic stimulation. *Neuroimage.* 2011; 54 :90-102.
49. Civardi,C., Boccagni,C., Vicentini,R., Bolamperti,L., Tarletti,R., Varrasi,C., Monaco,F., and Cantello,R. Cortical excitability and sleep deprivation: a transcranial magnetic stimulation study. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry.* 2001; 71 :809-812.
50. Thut,G. and Miniussi,C. New insights into rhythmic brain activity from TMS-EEG studies. *Trends Cogn Sci.* 2009; 13 :182-189.
51. Das,A. and Dinesh,N.S. Delayed responses in TMS-EEG are different from SPES. *Epilepsia.* 2008; 49 :1814-1815.
52. Blanke,O., Mohr,C., Michel,C.M., Pascual-Leone,A., Brugger,P., Seeck,M., Landis,T., and Thut,G. Linking out-of-body experience and self processing to mental own-body imagery at the temporoparietal junction. *J.Neurosci.* 2005; 25 :550-557.
53. Brodbeck,V., Thut,G., Spinelli,L., Romei,V., Tyrand,R., Michel,C.M., and Seeck,M. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on spike pattern and topography in patients with focal epilepsy. *Brain Topogr.* 2010; 22 :267-280.
54. Reis,J., Rosenow,F., Fritsch,B., Knake,S., Oertel,W.H., and Hamer,H.M. Possible transcallosal seizure induction by paired pulse transcranial magnetic stimulation in a patient with frontal lobe epilepsy. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry.* 2005; 76 :454-455.
55. Shelley,B.P. and Trimble,M.R. "All that spikes is not fits", mistaking the woods for the trees: the interictal spikes--an "EEG chameleon" in the interface disorders of brain and mind: a critical review. *Clin.EEG.Neurosci.* 2009; 40 :245-261.
56. Stasiukyniene,V., Pilvinis,V., Reingardiene,D., and Janauskaite,L. [Epileptic seizures in critically ill patients]. *Medicina (Kaunas).* 2009; 45 :501-507.
57. Stefan,H. Epilepsy in the elderly: facts and challenges. *Acta Neurol.Scand.* 2010;10-0404.

21 Enfermedad de Alzheimer. Búsqueda de potenciales tratamientos antiapoptóticos

Aurelio Vazquez de la Torre,¹ J. G. Pizarro,¹ María Luisa de Lemos,¹ S. Abad Florensa,¹ Dora A. Sanchez,¹ Victor Rimbau,¹ Marta Catalina Rivera Cervantes,² Carlos Beas Zarate^{2,3} y Antoni Camins¹

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia en las personas de edad avanzada en los países desarrollados. Constituye un creciente problema de salud pública, ya que el progresivo envejecimiento de la población mundial hace que la incidencia de esta enfermedad pueda verse muy incrementada en las próximas décadas. Este trastorno tiene un inicio insidioso y una evolución progresiva e irreversible. Los tratamientos farmacológicos de los que se dispone hasta la fecha tienen un efecto limitado sobre la sintomatología en las fases iniciales de la enfermedad, pero no logran frenar el avance de la misma. Es por ello que se hace necesario profundizar en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de la enfermedad para así poder desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que permitan un tratamiento más satisfactorio para estos pacientes.

¹ Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia Facultat de Farmàcia, Centros de Investigació Biomèdica en Red Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Institut de Biomedicina (IBUB). Universitat de Barcelona. España.

² Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara.

³ Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO), IMSS.

Antecedentes

La enfermedad de Alzheimer (EA) debe su nombre al doctor Alois Alzheimer, que en 1901 describió por vez primera el caso de la paciente “Auguste D”, una interna del asilo de enfermos mentales de Frankfurt. “Auguste D” padecía síntomas que incluían pérdida de la memoria, problemas de lenguaje y comportamiento impredecible. En 1906 y tras la muerte de “Auguste D”, Alois Alzheimer examinó el cerebro de la paciente y pudo observar masas gomosas anormales (actualmente conocidas como placas amiloideas) y agrupaciones fibrilares (actualmente llamados ovillos neurofibrilares), consideradas dos de las lesiones histopatológicas características de la enfermedad.

Enfermedad de Alzheimer

La EA se caracteriza por la presencia de niveles elevados de β -amiloide (β A) — péptido implicado en la formación de las placas de β -amiloide— y por la hiperfosforilación de la proteína tau, principal componente de los ovillos neurofibrilares (Selkoe, 1989; Haass and Selkoe, 2007; Castellani *et al.*, 2009). Estas lesiones inducen una rápida pérdida neuronal y provocan un proceso neuroinflamatorio que va acompañado de una activación de la glía y de estrés oxidativo, los cuales también están involucrados en el daño neuronal y favorecen la progresión de la EA (Selkoe, 2000). La EA se caracteriza tener una evolución progresiva e irreversible, provoca la paulatina pérdida de la memoria y de las facultades cognitivas, y con el tiempo, la capacidad de llevar a cabo las tareas más simples. En la mayoría de las personas afectadas por esta enfermedad, los síntomas aparecen por primera vez superados los 60 años de edad y presentan una media de supervivencia tras el diagnóstico de 4-10 años (Lu *et al.*, 2009).

La EA es causa frecuente de demencia en las personas de edad avanzada y es, además, la enfermedad neurodegenerativa más común en el mundo desarrollado y la quinta causa principal de muerte en las personas mayores de 65 años (Aliev *et al.*, 2008; Hung, *et al.*, 2010). Se calcula que actualmente existen 26.6 millones de personas afectadas por la EA en todo el mundo (Noble *et al.*, 2009). Y se prevé que durante los próximos 40 años este número se eleve hasta cuatro veces, debido al rápido aumento en el número de personas de edad avanzada. Este hecho ha lle-

vado a un creciente interés en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas y al desarrollo de estrategias terapéuticas que resulten eficaces en el tratamiento y prevención de la EA, debido a la falta de tratamientos eficaces hasta la fecha.

En los últimos años se ha producido un progreso sustancial en la comprensión de la fisiopatología de la EA gracias al estudio de la forma autosómica dominante de familiares de Alzheimer (FAD).

Esta forma de la EA es causada por mutaciones en tres genes: el gen de la proteína precursora amiloidea (APP), la presenilina-1 y la presenilina-2 (Hauser *et al.*, 2010; Castellani *et al.*, 2010). Las mutaciones en estos genes causan la acumulación de péptidos de βA en las regiones cerebrales importantes para el aprendizaje y la memoria. Los péptidos de βA son una población heterogénea de fragmentos que se generan a través de la escisión proteolítica de la proteína precursora APP (Hsiung and Feldman, 2008).

La relación entre el FAD y las formas de aparición tardía de la EA así como hallazgos neuropatológicos sirven de base para la “hipótesis de la cascada amiloide” de la patogénesis de la EA (Bertram *et al.*, 2010; Bi, 2010). Durante muchos años, la hipótesis principal de la EA ha incluido los efectos tóxicos de una acumulación gradual de placas de βA en el cerebro. El βA se produce después del procesamiento secuencial de la proteína precursora del amiloide (APP), y del aumento de los niveles de los niveles de β -1-42, responsable de provocar los efectos neurotóxicos y por ello se considera como un factor clave en la EA (Walsh and Selkoe, 2007; Willnow *et al.*, 2010). Sin embargo, una de las principales críticas de la hipótesis amiloidea ha sido que los niveles de βA fibrilar, las especies que constituyen las placas insolubles, se correlaciona pobremente con el grado de demencia y atrofia cerebral, además de la pérdida cognitiva. Por otra parte, los individuos normales pueden tener un incremento significativo en la deposición de placas cuando se les realiza una autopsia. La pérdida de sinapsis se ha considerado una característica de la EA, esta pérdida sináptica se ha podido observar en modelos experimentales de animales transgénicos (Hung *et al.*, 2010; Bekris *et al.*, 2010).

Como ya hemos comentado, las manifestaciones histopatológicas de la EA incluyen depósitos de βA que aparecen con dos configuraciones distintas: en el parénquima cerebral en forma de placas amiloides o bien en la pared de los vasos cerebrales en forma de depósitos concéntricos a la luz, y ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos por fibras del citoesqueleto anormalmente alterado principalmente agregados de proteína tau (τ) hiperfosforilada (Selkoe, 2001).

Con respecto al estrés oxidativo, se ha demostrado en modelos *in vitro* en cultivos neuronales que el β A presenta propiedades prooxidantes favoreciendo la producción de los radicales libres de oxígeno y la muerte neuronal.

En las fases iniciales de la enfermedad, la formación de los ovillos neurofibrilares está restringida al hipocampo; a medida que la enfermedad avanza, los ovillos neurofibrilares se extienden por todo el cerebro. Las placas también se extienden por todo el cerebro, empezando en la neocorteza. Cuando llega la fase final, los daños se han extendido ampliamente y se observa una intensa atrofia cerebral que ha sufrido una pérdida evidente de grosor y circunvoluciones (Selkoe, 2003; Hung *et al.*, 2010). Esta atrofia cerebral aparece casi siempre en las fases clínicas de la enfermedad y afecta preferentemente al lóbulo temporal, incluyendo las regiones entorrinal y subicular, así como el hipocampo y la amígdala. Los lóbulos parietales y frontales están menos alterados (figura 1).



FIGURA 1. Representación gráfica de las distintas áreas cerebrales afectadas en las diferentes fases de la enfermedad de Alzheimer.

Sintomatología

El número de personas de edad avanzada con lesiones histopatológicas propias de la EA es mucho mayor que el número de personas que padecerán la enfermedad, lo que nos permite suponer que el cerebro envejecido soporta durante un tiempo, a veces muy prolongado, los efectos de la formación de estas lesiones. La enfermedad puede tener una fase inicial clínica predemencial en la que los problemas de pérdida de memoria, conocidos como deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCL o MCI en inglés), son una de las primeras señales de la EA. Esta fase prede-

mencial sintomática aparece aproximadamente en la mitad de los pacientes que desarrollará la enfermedad. Las personas afectadas con este deterioro cognitivo tienen más problemas de memoria cuando son comparadas con personas de su misma edad que no presentan DCL; desgraciadamente, no es posible realizar el diagnóstico de EA en esta fase inicial.

Enfermedad de Alzheimer leve

En esta etapa aparece una pérdida de memoria y surgen alteraciones en otras capacidades cognitivas que permiten diagnosticar la aparición de demencia, lo que es indispensable para el posible diagnóstico de EA. Los problemas de memoria, fundamentalmente episódica, pueden incluir que el enfermo salga a la calle y se pierda, dificultad para manejar el dinero y pagar las cuentas, repetir las preguntas, requerir más tiempo para completar las tareas diarias normales, juicio deficiente y cambios en el estado de ánimo y en la personalidad; es también frecuente que aparezcan problemas de concentración. El diagnóstico de EA suele hacerse durante esta etapa.

Enfermedad de Alzheimer moderada

A medida que la enfermedad va avanzando, el daño neurológico afecta las áreas del cerebro que controlan el lenguaje, razonamiento, procesamiento sensorial y el pensamiento consciente. La pérdida de la memoria y la confusión aumentan y los pacientes empiezan a tener problemas para reconocer a familiares y amigos, desorientación temporal y espacial manifiesta, comienzan a olvidar datos autobiográficos. La capacidad de aprendizaje se ve claramente reducida, llegándose incluso a perder. Los enfermos de EA se muestran incapaces de llevar a cabo tareas que incluyen múltiples pasos (tales como vestirse) o hacer frente a situaciones nuevas. Aparecen problemas neurológicos como bradicinesia y alteraciones posturales. Es posible que tengan alucinaciones, ideas delirantes y paranoia, falsas percepciones, apatía y comportamiento compulsivo.

Enfermedad de Alzheimer severa

Al llegar a la etapa final de la enfermedad, las placas y ovillos se han extendido por todo el cerebro, que padece además un fuerte grado de atrofia. Al llegar a esta fase de la EA los pacientes están totalmente desorientados, incluso en espacios habituales como su casa, sufren afasia grave e incapacidad para comprender, así como apraxia y falta de reconocimiento de objetos. A nivel conductual persisten las alucinaciones, defectos de la percepción y agitación. Se acrecientan las alteraciones neurológicas como la bradicinesia, alteraciones posturales, crisis mioclónicas y epilépticas, falta de control de esfínteres, falta de motilidad y dificultad en la deglución. En este estadio dependen completamente de otros para su cuidado. Finalmente, es frecuente que el paciente quede en un estado de postración.

Factores genéticos y riesgo de enfermedad de Alzheimer

Aunque la EA es una patología de aparición esporádica, la mayoría de los enfermos de EA presentan el tipo llamado EA de aparición tardía, la cual usualmente se desarrolla a partir de los 60 años de edad y aumenta su frecuencia en la octava década de la vida; sin embargo, aproximadamente 10% de los casos tiene un historial familiar de EA y padecen la enfermedad en edades más tempranas. El estudio de dichos casos ha permitido conocer que la mayoría de estos pacientes presentan mutaciones en tres genes localizados en el cromosoma 21, 14 y 1, pero no en todas las ocasiones en que la enfermedad aparece tempranamente es causada por tales mutaciones.

Uno de estos genes implicados en el desarrollo de la enfermedad es el de la proteína precursora de amiloide (APP) que se encuentra en el cromosoma 21, las mutaciones en esta proteína de membrana inducen alteraciones en los puntos de corte de las distintas secretasas que conducen a la formación de fragmentos más largos (42 aa) e insolubles que forman parte de las placas de β -amiloide.

Los genes de la presenilina 1 (cromosoma 14) y de la presenilina 2 (cromosoma 1) tienen relación causal con el Alzheimer, estas proteínas tienen actividad secretasa y se las ha vinculado con la formación de los fragmentos de β -amiloide que se precipitan formando las placas seniles. Además existen evidencias de que la

sobreexpresión de la presenilina 2 incrementa las tasas de apoptosis de las células en cultivo (Wragg M, *et al.*, 1996)

La apolipoproteína E (APOE), una glicoproteína implicada en el transporte del colesterol y otros lípidos en los diferentes tejidos, ha sido relacionada en numerosos estudios a la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía. Este gen presenta polimorfismo y la presencia del alelo $\epsilon 4$ se considera un factor de riesgo de padecer la enfermedad (Wollmer, 2010). El receptor de la APOE se ha relacionado con la regulación de la proteína precursora del β -amiloide. Cerca de 40% de las personas que desarrollan EA de aparición tardía son portadoras de este gen. Sin embargo, ser portador de la forma APOE 4 del gen no significa necesariamente que una persona desarrollará la enfermedad, ya que existen otros muchos *loci* cromosómicos implicados (Selkoe, 2005) y las personas que no son portadoras del gen de las formas APOE 4 también pueden desarrollar la enfermedad (Fonseca *et al.*, 2010).

En los últimos años la lista de genes implicados en el aumento del riesgo de desarrollo de la EA ha ido en aumento. Así, distintos estudios han identificado variantes de los genes SORL1 (*sortilin-related receptor 1*). El gen CLU produce a la clusterina, que normalmente actúa como protectora del cerebro; la mutación de este gen contribuye al desarrollo de la EA. La proteína PICALM (Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein) es importante en las sinapsis y está involucrada en el transporte de moléculas hacia el interior de las neuronas, participando en el proceso de la memoria y otras funciones cerebrales (Lee *et al.*, 2010). El correcto funcionamiento de las sinapsis está estrechamente relacionado con el rendimiento de la memoria en la EA, por lo tanto los cambios en los genes que afectan a las sinapsis podrían estar relacionados con el desarrollo de la enfermedad.

Factores relacionados con el estilo de vida

Nuevos estudios apuntan a que una dieta equilibrada, la actividad física, las relaciones sociales y la actividad cognitiva constante contribuyen a la prevención de la aparición de la EA y de la pérdida cognitiva en general. También se está investigando la posible relación entre el declive cognitivo y trastornos vasculares y metabólicos tales como las enfermedades cardíacas, los accidentes cerebrovasculares, la hipertensión, la diabetes y la obesidad (Bi, 2010). Entender estas relaciones

puede ayudarnos a deducir si la implicación de ciertos factores de riesgo asociados con esas enfermedades también puede favorecer la aparición de la EA.

Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

El estudio de marcadores biológicos e imágenes de tomografía computarizada (TC) y de resonancia magnética (RM) de personas con DCL y personas que tienen un historial familiar de EA pueden aportar datos acerca de las alteraciones que aparecen en el cerebro en las fases iniciales de la EA. Son numerosos los esfuerzos que se llevan a cabo para detectar la enfermedad de Alzheimer de manera precoz, a fin de tener una respuesta más eficaz que los tratamientos actuales.

Uno de los mayores problemas que existen para el diagnóstico de la EA reside en que se corrobora únicamente *post mortem* (Rossor *et al.*, 2010). El diagnóstico se lleva a cabo vinculando la evolución clínica de la enfermedad con un examen histopatológico en la autopsia.

En la actualidad, el diagnóstico trata de separar a los pacientes en dos grupos: según si los problemas de memoria que padecen son debidos a una EA o bien si éstos podrían tener otra causa.

Para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer se llevan a cabo una serie de pruebas neuropsicológicas que se acompañan de técnicas de imagen y análisis de distintos biomarcadores; sin embargo la unión de todas estas pruebas no es concluyente ya que se considera que el diagnóstico no es certero hasta el análisis histopatológico del enfermo. La anamnesis del paciente se basa en preguntas acerca de la salud general de la persona, sus problemas médicos previos y su capacidad para realizar actividades diarias o sobre cambios en el comportamiento y en la personalidad, a esto se le añaden las pruebas relacionadas con la memoria, la capacidad de resolver problemas, prestar atención y contar, las habilidades de lenguaje y tareas elementales, así como otros test de tipo espacial.

Todas estas pruebas deben acompañarse de gammagrafías del cerebro, tales como la tomografía computarizada (TAC o CT en inglés), o las imágenes por resonancia magnética (IRM o MRI en inglés), con el fin de observar posibles alteraciones de secreción de neurotransmisores, flujo sanguíneo y actividad cerebral. También pueden llevarse a cabo análisis de sangre, orina o líquido espinal con el fin de hallar distintos biomarcadores. Estas pruebas pueden ser repetidas para dar

información sobre la evolución de la enfermedad, lo cual también ayuda a acotar el diagnóstico. El diagnóstico precoz es beneficioso porque el tratamiento en las etapas tempranas de la enfermedad puede ayudar a preservar algunas capacidades cognitivas desde meses hasta años, a pesar de que el proceso subyacente de la enfermedad continúe su curso; además, los tratamientos farmacológicos actuales muestran una mayor eficacia en las primeras fases de la enfermedad.

Tratamiento

Pese a que la forma más eficaz de tratar esta enfermedad sería la de combatir los mecanismos etiopatogénicos con la finalidad de detener su progresión, lo cierto es que uno de los principales problemas existentes a la hora de abordar el tratamiento de la enfermedad es que los medicamentos disponibles hasta la fecha sólo actúan sobre la sintomatología en las fases iniciales de la EA; reducen los síntomas clínicos pero en ningún caso evitan la progresión de la enfermedad.

Por lo tanto, es necesario desarrollar nuevas estrategias terapéuticas más eficaces para la prevención y tratamiento de la EA. De esta manera, se han propuesto muchos mecanismos preventivos, incluyendo el estudio de predisposiciones genéticas (por ejemplo, los niveles de expresión de las presenilinas y ApoE), los procesos inflamatorios que van asociados con la liberación de citocinas, el estrés oxidativo y los procesos de neurotoxicidad provocados por iones metálicos (Shah *et al.*, 2008). También se está intentando desarrollar tratamientos que aumenten la solubilidad del β -amiloide, o prevenir su formación; igualmente, la inhibición de la fosforilación de la proteína tau (τ) o del proceso apoptótico, como nuevas estrategias para abordar la enfermedad.

Actualmente se dispone de cuatro fármacos aprobados por la *U.S. Food and Drug Administration* para el tratamiento de la EA (Castellani *et al.*, 2010). El donepezil (Aricept®), un inhibidor específico de la acetilcolinesterasa, que compensa el déficit colinérgico que padecen estos pacientes, sin embargo los pacientes muestran una mejora limitada en los síntomas; la rivastigmina (Exelon®), un anti-colinesterásico de segunda generación y que basa su mecanismo de acción en el mismo principio que el ya nombrado donepezil y la galantamina (Razadyne®), una amina terciaria que ejerce un bloqueo selectivo, competitivo e irreversible de la acetilcolinesterasa pero que además ejerce un efecto sobre los receptores nicotí-

nicos pre y postsinápticos lo que induce una mayor liberación de acetilcolina, pero su significado clínico no está claro. Estos fármacos se emplean en el tratamiento del Alzheimer de grado leve a moderado (el donepezil puede ser también utilizado EA de grado severo) (Lu *et al.*, 2009). La memantina (Namenda®) se emplea para el tratamiento del Alzheimer de grado moderado a severo (Lipton, 2006; Middleton and Yaffe, 2009), la memantina es un antagonista no competitivo del receptor glutamatérgico NMDA y reduce la disfunción neurológica provocada por una elevación patológica de los niveles tónicos de glutamato. Estos fármacos pueden ayudar a mantener las habilidades como el pensamiento, la memoria, el habla, así como paliar ciertos problemas comportamentales. Sin embargo, no frenan el proceso neurodegenerativo y solamente son efectivos durante un lapso limitado, motivo por el cual se están estudiando nuevas estrategias terapéuticas que actúen sobre la patogenia de la EA.

Nuevas estrategias terapéuticas antiapoptóticas para la prevención o tratamiento en la enfermedad de Alzheimer

Antioxidantes

Pese a que —como hemos comentado anteriormente— el estrés oxidativo tiene un papel clave en el proceso de muerte neuronal, el aporte de antioxidantes en la prevención de las enfermedades neurodegenerativas es controvertido. La principal ventaja de estos agentes es su seguridad y tolerabilidad. Se ha sugerido un gran número de moléculas anti-oxidantes que podrían ser útiles en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, por ejemplo la vitamina E, la melatonina, el resveratrol, la carnosina y la coenzima Q10 (Strijks *et al.*, 1997; Shults *et al.*, 2003; Massieu *et al.*, 2004; Pallàs *et al.*, 2009). Todos estos fármacos antioxidantes tienen efectos neuroprotectores frente al β -amiloide y otras neurotoxinas en cultivos de células neuronales. Actualmente se dispone de datos experimentales para varios compuestos antioxidantes y se ha investigado sobre la administración en la dieta de vitaminas E y C en seres humanos. Un estudio clínico indica que en pacientes con EA moderadamente grave la administración de vitamina E retrasa la progresión de la enfermedad. Dichas investigaciones aportan pruebas de los efectos beneficiosos de la mencionada vitamina cuando

se le incluye en el tratamiento de EA (Boothby *et al.*, 2005; Isaac *et al.*, 2008). De acuerdo con estos resultados, estudios sobre la administración de vitamina C, carotenoides y otros antioxidantes a los pacientes con EA han demostrado que éstos también tienen un efecto protector frente a la enfermedad. Sin embargo, los datos publicados sobre la vitamina E no son compatibles en otros estudios respecto a la eficacia de esta vitamina en la prevención o el tratamiento de pacientes con Alzheimer o deterioro cognitivo leve (MCI) (Lloret A *et al.*, 2009). Por lo tanto, se requieren más investigaciones para determinar la contribución de la vitamina E —sola o en combinación con otros fármacos— en el tratamiento del deterioro cognitivo en la EA.

Melatonina

La melatonina es un compuesto bien tolerado que se ha comercializado como un suplemento nutricional en varios países. Tiene varias acciones como regulador de las enzimas antioxidantes y por sí mismo actúa como agente captador de radicales libres de oxígeno. Así mismo, los efectos anti-apoptóticos de la melatonina pueden explicarse por su actuación a nivel mitocondrial y no mitocondrial (López *et al.*, 2009; Olcese *et al.*, 2009). Se ha descrito un efecto antiapoptótico de la melatonina a través de la prevención de la formación de cdk5/p25 y el estrés oxidativo inducido por la sobrecarga de calcio mitocondrial, la despolarización mitocondrial, la formación de ERO y la apertura del poro de transición mitocondrial que precede a la liberación cyt c (Carretero *et al.*, 2009). De hecho, presenta un potente efecto neuroprotector frente a la neurotoxicidad provocada por β A en cultivos de células neuronales. Por otra parte, estudios *in vivo* mediante un modelo de ratón transgénico de la EA demuestran que la administración de melatonina se asocia con beneficios cognitivos y de comportamiento, posiblemente relacionados con la prevención de la agregación del β A y también con efectos antiinflamatorios (Cardinali *et al.*, 2002). La melatonina puede ser útil en modelos experimentales, como lo demuestran los resultados de estudios realizados con neurotoxinas, como el ácido 3-nitropropionico en ratas de laboratorio (un modelo animal de la enfermedad de Huntington) y en modelos experimentales de la EP. Además este compuesto tiene un efecto anti-envejecimiento, como se ha demostrado en ratones que envejecen precozmente (SAMP8). En conjunto, todos estos datos

experimentales apoyan a la melatonina para el tratamiento a largo plazo, como estrategia principal o complementaria en la prevención de enfermedades neurodegenerativas. Aunque sólo se han realizado unos pocos estudios clínicos con este compuesto, según informa un reciente estudio los pacientes con deterioro cognitivo leve a los cuales se les administraron 9.3 mg de melatonina al día mostraron una mejoría significativa en la función cognitiva. Sin embargo, el potencial de la melatonina como un posible medicamento contra la demencia o su aplicación en los trastornos neurológicos, sola o en combinación con otros medicamentos, requiere más estudios (Furio *et al.*, 2007).

Inhibidores de la GSK3 β

Un gran número de estudios sugieren que un incremento en la actividad de la enzima GSK3 β conduce a un efecto proapoptótico y por lo tanto la inhibición de GSK3 β presentaría efectos neuroprotectores (Hampel *et al.*, 2009; Camins *et al.*, 2009). Se ha demostrado que la enzima GSK3 β desempeña un papel crucial en la modulación de la señal intracelular en vías implicadas en el proceso de muerte neuronal debido a su capacidad de fosforilar diversos grupos de sustratos (Selenica *et al.*, 2007; Camins *et al.*, 2009). Probablemente el más importante entre ellos es la proteína tau (τ), que está directamente involucrada en la patogénesis de EA formando el componente principal de los ovillos neurofibrilares (Bhat *et al.*, 2003). La evidencia de que GSK3 β fosforila tau ha generado un considerable interés en los inhibidores de GSK3 β como agentes neuroprotectores. El hallazgo de que el litio inhibe la GSK3 β y además podría activar la proteína Akt (vía de supervivencia neuronal) ha dado lugar a la hipótesis de que este compuesto podría mejorar los síntomas o retrasar la progresión de la EA. Se ha demostrado que la proteína Akt (también conocida como proteína cinasa B, PKB) está involucrada en la regulación, específicamente en la inactivación de esta enzima (fosforilación ser9) de GSK3 β . Los fármacos implicados en la inhibición de GSK3 β , como el litio y los inhibidores selectivos como SB-216763 y SB-415286, paullonas e indirubinas —pese a que estas últimas no resultan selectivas, ya que también son capaces de inhibir las cinasas dependientes ciclinas (CDKs)— podrían constituir una estrategia adecuada para la obtención de neuroprotección y prevención de la muerte neuronal en la EA. Por otra parte, en un modelo de ratón transgénico de

tau mutante, Pérez *et al.* demostraron que un tratamiento crónico con Li^{2+} disminuía la fosforilación y agregación de tau en los ovillos neurofibrilares.

Fármacos anti-inflamatorios

La utilización de los fármacos anti-inflamatorios se ha propuesto como otra estrategia para mejorar la función cognitiva en la EA y para evitar la pérdida de células neuronales. Estos fármacos pueden ejercer su efecto beneficioso mediante la inhibición de la cascada inflamatoria en el cerebro de pacientes con EA (Imbimbo, 2004; Pasqualetti *et al.*, 2009). La hipótesis de cascada de β -amiloide sostiene que la acumulación de amiloide en las placas seniles desencadena una cascada patológica que da lugar a la disfunción neuronal y muerte. Además de la deposición de βA , también genera una respuesta inflamatoria por la acumulación de enredos (ovillos) neurofibrilares. De este modo se genera una retroalimentación positiva que se inicia con una inflamación que promueve la producción y el aumento de βA y su deposición. Dado que la respuesta inflamatoria al βA es perjudicial, los fármacos anti-inflamatorios se han propuesto como agentes beneficiosos en el tratamiento de EA (Imbimbo, 2004; Profenno *et al.*, 2005). Además, estudios recientes indican que los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos tienen efectos antiapoptóticos frente al péptido βA en cultivos de neuronas corticales de rata. Los AINE podrían bloquear la despolarización mitocondrial provocada por el βA a través de la inhibición del incremento del calcio a nivel mitocondrial (Hirohata *et al.*, 2005). Por otra parte, al impedir la producción de ERO y la inhibición de la liberación de cyt c , estos fármacos pueden ejercer un efecto antiapoptótico. Por consiguiente, la preservación de la función mitocondrial se ha propuesto como el principal mecanismo de acción a través del cual los AINE ejercen la acción neuroprotectora. Estas hipótesis se apoyan en el hallazgo que la pérdida de memoria y del aprendizaje en ratones Tg2576 APP fueron atenuados por un tratamiento crónico con R-flurbiprofeno (Galasko *et al.*, 2007). Por otra parte, se ha propuesto que los efectos antiapoptóticos de R-flurbiprofeno y otros fármacos AINE podrían deberse a un aumento en la producción de neurotrofinas (Van Groen *et al.*, 2005). Estos hallazgos favorecen el uso de dichos fármacos en el tratamiento de la EA. Aunque los resultados de los ensayos clínicos de los AINE hasta ahora han sido desalentadores, son necesarios más ensayos clínicos, por ejemplo con

R-flurbiprofeno, para entender cómo este fármaco y otros AINE pueden prevenir el deterioro cognitivo en pacientes con EA.

Referencias

- Aliev G, Obrenovich ME, Reddy VP, Shenk JC, Moreira PI, Nunomura A, Zhu X, Smith MA, Perry G. Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice. *Mini Rev Med Chem.* 2008;8:1395-406.
- Alley GM, Bailey JA, Chen D, Ray B, Puli LK, Tanila H, Banerjee PK, Lahiri DK. Memantine lowers amyloid-beta peptide levels in neuronal cultures and in APP/PS1 transgenic mice. *J Neurosci Res.* 2010;88:143-154.
- Bassil N, Grossberg GT. Novel regimens and delivery systems in the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drugs.* 2009;23:293-307.
- Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2010;23:213-27.
- Bertram L, Lill CM, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron.* 2010;68:270-81.
- Bhat R, Xue Y, Berg S, Hellberg S, Ormö M, Nilsson Y, Radesäter AC, Jerning E, Markgren PO, Borgegård T, Nylöf M, Giménez-Cassina A, Hernández F, Lucas JJ, Díaz-Nido J, Avila J. Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418. *J Biol Chem.* 2003;278:45937-45.
- Bi X. Alzheimer disease: update on basic mechanisms. *J Am Osteopath Assoc.* 2010;110(9 Suppl 8):S3-9
- Bonda DJ, Evans TA, Santocanale C, Llosá JC, Viña J, Bajic VP, Castellani RJ, Siedlak SL, Perry G, Smith MA, Lee HG. Evidence for the progression through S-phase in the ectopic cell cycle re-entry of neurons in Alzheimer disease. *Aging.* 2009;1:382-8.
- Bonda DJ, Lee HP, Kudo W, Zhu X, Smith MA, Lee HG. Pathological implications of cell cycle re-entry in Alzheimer disease. *Expert Rev Mol Med.* 2010;12:e19.
- Boothby LA, Doering PL. Vitamin C and vitamin E for Alzheimer's disease. *Ann Pharmacother.* 2005;39:2073-80.
- Camins A, Verdaguer E, Folch J, Canudas AM, Pallás M. The role of CDK5/P25 formation/inhibition in neurodegeneration. *Drug News Perspect.* 2006;19:453-60.
- Camins A, Verdaguer E, Junyent F, Yeste-Velasco M, Pelegrí C, Vilaplana J, Pallás M. Potential mechanisms involved in the prevention of neurodegenerative diseases by lithium. *CNS Neurosci Ther.* 2009;15:333-44.

- Cardinali DP, Brusco LI, Liberczuk C, Furio AM. The use of melatonin in Alzheimer's disease. *Neuro Endocrinol Lett.* 2002; 23 Suppl 1:20-3.
- Carretero M, Escames G, López LC, Venegas C, Dayoub JC, García L, Acuña-Castroviejo D. Long-term melatonin administration protects brain mitochondria from aging. *J Pineal Res.* 2009;47:192-200.
- Castellani RJ, Zhu X, Lee HG, Smith MA, Perry G. Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease: Reductionist versus expansionist approaches. *Int J Mol Sci.* 2009;10:1386-406.
- Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA Alzheimer disease. *Dis Mon.* 2010 ;56:484-546.
- Furio AM, Brusco LI, Cardinali DP. Possible therapeutic value of melatonin in mild cognitive impairment: a retrospective study. *J Pineal Res.* 2007;43:404-9.
- Galasko DR, Graff-Radford N, May S, Hendrix S, Cottrell BA, Sagi SA, Mather G, Laughlin M, Zavitz KH, Swabb E, Golde TE, Murphy MP, Koo EH. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and Aβ levels after short-term administration of R-flurbiprofen in healthy elderly individuals. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2007;21:292-299.
- Hampel H, Ewers M, Bürger K, Annas P, Mörtberg A, Bogstedt A, Frölich L, Schröder J, Schönknecht P, Riepe MW, Kraft I, Gasser T, Leyhe T, Möller HJ, Kurz A, Basun H. Lithium trial in Alzheimer's disease: a randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter 10-week study. *J Clin Psychiatry.* 2009;70:922-31.
- Hauser PS, Narayanaswami V, Ryan RO. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. *Prog Lipid Res.* 2011;50:62-74.
- Hirohata M, Ono K, Naiki H, Yamada M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs have anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Neuropharmacology.* 2005;49:1088-1099.
- Hsiung GY, Feldman HH. Pharmacological treatment in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother.* 2008;9:2575-82.
- Imbimbo BP. The potential role of non-steroidal anti-inflammatory drugs in treating Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2004;13:1469-81.
- Isaac MG, Quinn R, Tabet N. Vitamin E for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;3:CD002854.
- Hung CW, Chen YC, Hsieh WL, Chiou SH, Kao CL. Ageing and neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev.* 2010; Suppl 1:S36-46.
- Lee JH, Barral S, Reitz C. The neuronal sortilin-related receptor gene SORL1 and late-onset Alzheimer's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2008;8:384-91
- Lee HG, Casadesus G, Zhu X, Castellani RJ, McShea A, Perry G, Petersen RB, Bajic V, Smith MA. Cell cycle re-entry mediated neurodegeneration and its treatment role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2009;54:84-88.

- Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1366:177-96.
- Lipton SA. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:160-170.
- López A, García JA, Escames G, Venegas C, Ortiz F, López LC, Acuña-Castroviejo D. Melatonin protects the mitochondria from oxidative damage reducing oxygen consumption, membrane potential, and superoxide anion production. *J Pineal Res*. 2009;46:188-98.
- Lu PH, Edland SD, Teng E, Tingus K, Petersen RC, Cummings JL; Alzheimer's Disease Cooperative Study Group. Donepezil delays progression to AD in MCI subjects with depressive symptoms. *Neurology* 2009;72:2115-21.
- Lloret A, Badía MC, Mora NJ, Pallardó FV, Alonso MD, Viña J. Vitamin E paradox in Alzheimer's disease: it does not prevent loss of cognition and may even be detrimental. *J Alzheimers Dis*. 2009;17:143-9.
- Marzo I, Brenner C, Zamzami N, Jürgensmeier JM, Susin SA, Vieira HL, Prévost MC, Xie Z, Matsuyama S, Reed JC, Kroemer G. Bax and adenine nucleotide translocator cooperate in the mitochondrial control of apoptosis. *Science*. 1998;281:2027-31.
- Massieu L, Morán J, Christen Y. Effect of Ginkgo biloba (EGb 761) on staurosporine-induced neuronal death and caspase activity in cortical cultured neurons. *Brain Res*. 2004;1002:76-85.
- Middleton LE, Yaffe K. Promising strategies for the prevention of dementia. *Arch Neurol*. 2009;66:1210-1215.
- Morgan JI, Curran T. 1988. Calcium as a modulator of the immediate-early gene cascade in neurons. *Cell Calcium* 9(5-6):303-311.
- Nunes PV, Forlenza OV, Gattaz WF. Lithium and risk for Alzheimer's disease in elderly patients with bipolar disorder. *Br J Psychiatry*. 2007;190:359-60.
- Olcese JM, Cao C, Mori T, Mamcarz MB, Maxwell A, Runfeldt MJ, Wang L, Zhang C, Lin X, Zhang G, Arendash GW. Protection against cognitive deficits and markers of neurodegeneration by long-term oral administration of melatonin in a transgenic model of Alzheimer disease. *J Pineal Res*. 2009;47:82-96.
- Oo TF, Henchcliffe C, James D, Burke RE. 1999. Expression of c-fos, c-jun, and c-jun N-terminal kinase (JNK) in a developmental model of induced apoptotic death in neurons of the substantia nigra. *J Neurochem* 72(2):557-564.
- Pallàs M, Casadesús G, Smith MA, Coto-Montes A, Pelegri C, Vilaplana J, Camins A. Resveratrol and neurodegenerative diseases: activation of SIRT1 as the potential pathway towards neuroprotection. *Curr Neurovasc Res*. 2009 ;6:70-81.

- Pasqualetti P, Bonomini C, Dal Forno G, Paulon L, Sinforiani E, Marra C, Zanetti O, Rossini PM. A randomized controlled study on effects of ibuprofen on cognitive progression of Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res*. 2009;21:102-10.
- Profenno LA, Jakimovich L, Holt CJ, Porsteinsson A, Tariot PN. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial of safety and tolerability of two doses of divalproex sodium in outpatients with probable Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2005;2:553-558.
- Rodríguez MI, Escames G, López LC, López A, García JA, Ortiz F, Sánchez V, Romeu M, Acuña-Castroviejo D. Improved mitochondrial function and increased life span after chronic melatonin treatment in senescent prone mice. *Exp Gerontol*. 2008;43:749-56.
- Sanz-Blasco S, Valero RA, Rodríguez-Crespo I, Villalobos C, Núñez L. Mitochondrial Ca²⁺ overload underlies Abeta oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. *PLoS One*. 2008 23;3:e2718.
- Selenica ML, Jensen HS, Larsen AK, Pedersen ML, Helboe L, Leist M, Lotharius J. Efficacy of small-molecule glycogen synthase kinase-3 inhibitors in the postnatal rat model of tau hyperphosphorylation. *Br J Pharmacol*. 2007;152:959-979.
- Selkoe DJ, Schenk D. Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2003;43:545-84.
- Selkoe DJ. Toward a comprehensive theory for Alzheimer's disease. Hypothesis: Alzheimer's disease is caused by the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;924:17-25.
- Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*. 2001 ;81:741-66.
- Selkoe DJ. The deposition of amyloid proteins in the aging mammalian brain: implications for Alzheimer's disease. *Ann Med*. 1989;21:73-6.
- Selkoe DJ. Defining molecular targets to prevent Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2005 ;62:192-5.
- Shah RS, Lee HG, Xiongwei Z, Perry G, Smith MA, Castellani RJ. Current approaches in the treatment of Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother*. 2008;62:199-207.
- Smith JV, Luo Y. Elevation of oxidative free radicals in Alzheimer's disease models can be attenuated by Ginkgo biloba extract EGb 761. *J Alzheimers Dis*. 2003; 5:287-300.
- Solá S, Amaral JD, Borralho PM, Ramalho RM, Castro RE, Aranha MM, Steer CJ, Rodrigues CM. Functional modulation of nuclear steroid receptors by tauroursodeoxycholic acid reduces amyloid beta-peptide-induced apoptosis. *Mol Endocrinol*. 2006;20:2292-303

- Stackman RW, Eckenstein F, Frei B, Kulhanek D, Nowlin J, Quinn JF. Prevention of age-related spatial memory deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease by chronic Ginkgo biloba treatment. *Exp Neurol*. 2003 ;184:510-20.
- Strijks E, Kremer HP, Horstink MW. Q10 therapy in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Mol Aspects Med*. 1997;18(suppl):S237-S240.
- Tezapsidis N, Johnston JM, Smith MA, Ashford JW, Casadesus G, Robakis K, Wolozin B, Perry G, Zhu X, Greco SJ, Sarkar S. Leptin: a novel therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009;16:731-740.
- Thakur A, Wang X, Siedlak SL, Perry G, Smith MA, Zhu X. 2007. c-Jun phosphorylation in Alzheimer disease. *J Neurosci Res* 85(8):1668-1673.
- Van Groen T, Kadish I. Transgenic AD model mice, effects of potential anti-AD treatments on inflammation and pathology. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005 ;48:370-8.
- Walsh DM, Selkoe DJ. A beta oligomers - a decade of discovery. *J Neurochem*. 2007;101:1172-84.
- Wang X. The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther*. 2009;15:345-57
- Weinstock, M., T. Goren, M.B.H. Youdim. 2000. Development of a novel neuroprotective Drug (TV3326) for the Treatment of Alzheimer's Disease, with cholinesterase and monoamine oxidase inhibitory activities. *Drug Dev. Res*. 216-22.
- Weishaupt JH, Bartels C, Pölking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, Mertens N, Sperling S, Bohn M, Hüther G, Schneider A, Bach A, Sirén AL, Hardeland R, Bähr M, Nave KA, Ehrenreich H. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res*. 2006;41:313-23.
- Wengreen HJ, Munger RG, Corcoran CD, Zandi P, Hayden KM, Fotuhi M, Skoog I, Norton MC, Tschanz J, Breitner JC, Welsh-Bohmer KA. Antioxidant intake and cognitive function of elderly men and women: the Cache County Study. *J Nutr Health Aging*. 2007;11:230-7.
- Willnow TE, Carlo AS, Rohe M, Schmidt V. SORLA/SORL1, a neuronal sorting receptor implicated in Alzheimer's disease. *Rev Neurosci*. 2010;21:315-29.

Impacto social de las enfermedades neurodegenerativas y del envejecimiento

22 Sobrecarga del cuidador de enfermos con demencia

Oscar Rosas Carrasco¹ y María de Guadalupe Guerra Silla²

Resumen

La expectativa de vida del ser humano actualmente es mayor debido, en gran medida, a los avances en la medicina y a la mejoría de las condiciones de vida. Se han podido controlar factores de riesgo de enfermedades que antes eran mortales.

Sin embargo, el costo de este privilegio redundando en la aparición de patologías que se presentan más característicamente asociadas a una mayor edad, como la demencia. Esta entidad se manifiesta por alterar las funciones cognitivas, perceptivas, conductuales y, eventualmente, la funcionalidad de la persona; haciéndola más dependiente de otros. Éstos (los cuidadores), quienes al tratar de subsanar las necesidades básicas e instrumentales de la vida diaria del sujeto en cuestión, además de otras funciones como monitor, enfermero, ayudante doméstico, vigilante de la alimentación, medicación, visitas al médico, etc., ven mermados varios aspectos de su propia vida a costa de las crecientes demandas conforme progresa la enfermedad.

Dichos cuidadores corren el riesgo de enfermar, además de comprometer la calidad de los cuidados que prodigan al enfermo con demencia. Es importante detectar a tiempo esta sobrecarga con el fin de planear estrategias e intervenciones que beneficien tanto al enfermo como al cuidador.

¹ Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

² Clínica de Cognición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.

Introducción

El avance de la medicina y la mejoría en las condiciones sanitarias han permitido controlar muchos factores de riesgo de enfermedades que ocasionaban la muerte en etapas más tempranas. Sin embargo, esto ha acarreado otra problemática: la aparición de enfermedades propias de edades más avanzadas, como la hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, cardiopatías, enfermedad vascular cerebral, incluso la demencia. La demencia ocasiona compromiso en las funciones mentales superiores, situación que repercute en la funcionalidad de la persona y la coloca en una posición de desventaja ante sus semejantes, y de dependencia frente a sus familiares, particularmente el individuo que lo asista en las actividades cotidianas de la vida diaria y a quien se le conoce como cuidador.

Cuando la atención al enfermo con demencia rebasa las capacidades del cuidador ocurre el agotamiento de éste, llamado sobrecarga o agobio. Esta situación pone en riesgo el futuro cuidado del enfermo, aumentando las probabilidades de su institucionalización, con todo lo que esto implica.

La detección oportuna y pertinente de la sobrecarga del cuidador permite garantizar tanto su integridad física, mental y espiritual como la del propio paciente. Con esto en mente, se han diseñado instrumentos de evaluación de la sobrecarga o agobio que permiten dicha detección y son un buen indicador de los efectos del cuidado.

Concepto de demencia

La demencia se caracteriza por una declinación en varias funciones cognitivas, las cuales ocurren conservando un estado de conciencia claro. Estas alteraciones se pueden clasificar en dos grandes grupos: cortical y subcortical. Los primeros denotan *amnesia* (pérdida de la memoria), *afasia* (incapacidad para el uso del lenguaje), *apraxia* (pérdida de la capacidad para realizar movimientos previamente aprendidos o adiestrados) y *agnosia* (pérdida de la capacidad para reconocer estímulos visuales). La presencia de estos síntomas manifiesta disfunción de una extensa área de la corteza cerebral. Las demencias subcorticales se distinguen, entre otros síntomas, también por alteración de la memoria pero que puede presentarse en etapas más avanzadas de la enfermedad, además de: bradipsiquia,

apatía, alteraciones en la fluidez verbal y en la evocación de información, falta de iniciativa o de estímulo vital. Inicialmente se presentan desórdenes en la marcha y el movimiento, y a menudo coexisten síntomas depresivos (Folstein y Folstein, 1994), algunas veces alucinaciones, trastornos del sueño y otras alteraciones del comportamiento.

Dichos problemas requerirán de otro tipo de apoyos para sobrellevar el cuidado de estas personas, quienes, eventualmente, demandarán más atención y se tornarán más dependientes de terceros, particularmente de quien o quienes funjan como sus cuidadores, frecuentemente algún miembro de la familia.

La prevalencia de la demencia va en aumento al incrementarse la edad de las personas. La variabilidad de las prevalencias entre los diferentes estudios estriba en los diversos métodos de escrutinio que han utilizado los investigadores, como la selección de las muestras, los criterios de inclusión, exclusión y diagnóstico, así como los instrumentos para la investigación. También han influido en la prevalencia de esta entidad el contexto ambiental y el tipo de poblaciones estudiadas. Se ha observado una baja prevalencia de demencia y enfermedad de Alzheimer en Nigeria y en la India debido al alto índice de mortalidad entre las personas afectadas por la demencia. Por otro lado, la migración de la población desde zonas rurales a las urbanas matiza el resultado de estas investigaciones (Smith *et al.*, 2005). En el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, de la Ciudad de México, se observó que la demencia y la depresión ocupan un quinto lugar en morbilidad, después de accidentes, enfermedades cardiovasculares, cirrosis hepática y diabetes mellitus (Corona- Vázquez, *et al.*, 2002). En la Ciudad de México, la prevalencia de demencia en personas de 65 años y más es de 4.7 a 8.6% en población urbana (Gutiérrez *et al.*, 2001; Mejía-Arango *et al.*, 2007); en población rural, de 8.5%. (Llibre Rodríguez JJ *et al.*, 2008). Esta cifra puede ser de hasta 20-30% cuando los individuos son más añosos (Mittelmark, 1994).

Los cuidadores o proveedores de atención y cuidados

En un estudio dirigido por Stone (Stone *et al.*, 1987) basado, a su vez, en el Estudio Nacional de Cuidados prolongados de 1982, que define como cuidadores a quienes proveen asistencia no remunerada a personas de 65 o más años que experimentan dificultad en por lo menos una de las actividades básicas de la vida

diaria. En este estudio se encontró que los cuidadores eran predominantemente mujeres (72%) de mediana edad (promedio 57 años), casadas (70%), y sobre quienes recaía la mayor responsabilidad del cuidado, además contaban con poca o nula ayuda por parte de otros. Más de 35% de los cuidadores eran los cónyuges, 29% eran hijas adultas, 8.5% eran hijos varones adultos; el restante 27% lo conformaban amigos, parientes y otras personas que cuidaban a esta sección de la población de adultos mayores no institucionalizados. De los hijos que fungían como cuidadores de sus padres ancianos, 40% pertenecían a la fuerza laboral; 9% tuvieron que renunciar a su trabajo para poder cuidar a su pariente anciano y más frecuentemente eran mujeres quienes tuvieron que abandonar su trabajo para poder cumplir como cuidador.

La función de cuidador puede describirse tanto en términos de cantidad de tiempo invertida en esta actividad, como en la cantidad y tipo de servicios proporcionados. Alrededor de 80% de los cuidadores encuestados en el estudio de Stone y colaboradores proveían asistencia los siete días de la semana, y 20% de ellos habían fungido como cuidadores por más de cinco años.

El tipo de tareas o servicios que ejecutan los cuidadores es variado y a veces estas tareas son diversificadas entre varios cuidadores; por ejemplo: 67% de los cuidadores asiste al paciente en la higiene personal, 80% en trabajos domésticos, 45% en la movilidad, 53% en la administración de medicamentos, 49% en el manejo de finanzas, 86% en la realización de compras y la transportación. Sólo 10% de estos cuidadores recibía un pago por el desempeño de esta carga de trabajo. La mayoría de estos cuidados son realizados por una sola persona.

De acuerdo con Hirschman *et al.* (2004), al cuidador se le define como la persona que traslada y acompaña al paciente con demencia a sus visitas clínicas periódicas, y que proporciona datos confiables en relación a la severidad y progresión de la demencia, además de ser quien asiste al paciente en las actividades básicas e instrumentales de la vida diaria.

En México, la disponibilidad de apoyo familiar constituye el sistema más importante, y a veces el único, para proporcionar múltiples servicios al miembro que así lo requiere, comúnmente un anciano.

En el citado estudio de Stone (Stone *et al.*, 1987), 60% de los receptores del cuidado eran mujeres con una edad promedio de 78 años; 51% eran casadas y 41% eran viudas.

El cuidado de los viejos recae, por lo general, sobre la familia. Ésta provee de asistencia instrumental, financiera y emocional, y desempeña un papel preponderante en la toma de decisiones. Esta estructura familiar es común tanto en México como en Estados Unidos. Tal solidaridad nace de valores culturales añejos como el amor, la convivencia, la paciencia, la tolerancia, el intercambio de servicios (Mendoza-Martínez y Rodríguez-García, 1999) y de una conciencia de grupo que busca el bienestar de sus integrantes. Esta conciencia se intensifica cuando alguno de sus miembros sufre de alguna incapacidad, ya sea temporal o permanente. En el caso de las demencias, cuando éstas no son reversibles y el grado de dependencia cada vez es mayor, se produce un gran impacto en el entorno familiar, particularmente en aquella o aquellas personas sobre las que recae el cuidado más específico de la persona demente. Un mal manejo de esta situación puede acelerar procesos como la hospitalización, la institucionalización, mayor grado de invalidez y de inmovilidad o depresión, entre otras.

Para prodigar el cuidado adecuado a la persona con demencia a veces se requieren cambios drásticos en la vida personal tanto del enfermo como del cuidador. Se precisa talento y sensibilidad para poder detectar alianzas, jerarquías, barreras, conflictos familiares recientes o de antaño, y especialmente el carácter de la relación del paciente con el cuidador potencial (Mendoza-Martínez y Rodríguez-García, 1999). Exige reorganizar la vida para asistir en ciertas tareas como: finanzas, compras, labores domésticas, transportación al médico, administración de medicamentos, apoyo en la realización de las actividades básicas de la vida diaria (baño, vestido, alimentación, traslados, movilización, etc.) y en actividades instrumentales de la vida diaria (uso del teléfono, manejo de medicamentos, compras, traslados, finanzas, etc.). Además, es en el interior de cada familia donde se define quién será el cuidador primario, con base en el contexto general, el ambiente más propicio para el cuidado y el apoyo por parte de otros familiares e incluso otras personas ajenas a la familia, como amigos, vecinos o personal especialmente contratado para ello. Sin embargo, en ocasiones los familiares no necesariamente se reconocen a sí mismos como el cuidador primario, sino que asumen esta responsabilidad como parte de su “rol” dentro del núcleo familiar.

Con mucha frecuencia al asumir el papel de cuidador de una persona con demencia se requiere hacer una profunda reflexión sobre el estado real del enfermo; se debe dejar de pensar en la madre como la madre, o en el esposo como el cónyuge. Se deben elaborar procesos de perdón y análisis de los propios senti-

mientos del cuidador: perdonar al enfermo por estarlo y por las cosas que pudo haberle hecho al cuidador en el pasado, perdonar a la enfermedad y sus síntomas, perdonar los olvidos, perdonar los planes frustrados, perdonarse a sí mismo por los errores cometidos en el pasado, presente o en el futuro durante la acción del cuidado (Gray-Davidson, 1999).

Concepto de sobrecarga del cuidador

El concepto de carga se remonta a principios de la década de los sesenta, cuando fue utilizado para evaluar los efectos y consecuencias que tenía sobre las familias el hecho de mantener insertos en la comunidad a pacientes psiquiátricos, como parte de un programa británico de asistencia psiquiátrica. En los años setenta se continuaron las investigaciones sobre el impacto causado al cuidador durante el curso de la atención de enfermos mentales, y esto se extrapoló a personas mayores con fallas cognitivas. Para los años ochenta, Zarit (Zarit *et al.*, 1980) abordó el problema considerando la sobrecarga del cuidador como clave para mantener a pacientes con demencia viviendo dentro de la comunidad (entrevista de carga del cuidador, 2007).

Debe distinguirse entre carga subjetiva y carga objetiva. La primera puede definirse como las actitudes y reacciones emocionales ante la experiencia de cuidar. La segunda se refiere al grado de perturbaciones o cambios en la vida doméstica y laboral del cuidador o cuidadores.

El agotamiento, colapso o sobrecarga del cuidador compromete su capacidad para cumplir con las demandas crecientes del familiar enfermo (Mendoza-Martínez y Rodríguez-García, 1999), además de provocar un agobio excesivo con riesgo de suicidio o muerte.

Existen condiciones en el cuidador que le permitirán manejar mejor o peor la sobrecarga. Durante el proceso de validación de la escala original de sobrecarga del cuidador (SCB) (Vitaliano *et al.*, 1991) se empleó un modelo de constructo teórico que consiste en:

$$\text{Agobio psicológico} = \frac{\text{exposición a apremiantes (stressors) + vulnerabilidad}}{\text{recursos psicológicos y sociales}}$$

Los componentes del modelo tienen una solidez conocida en la literatura que habla de situaciones de apremio (*stress*) (Appley y Trumbull, 1967), donde, operacionalmente, la exposición a apremiantes corresponde a los problemas cognitivos y de conducta de la persona que recibe los cuidados. Las variables de vulnerabilidad tienen que ver con el tiempo que el cuidador puede soportar dichas situaciones apremiantes. Esto va a depender de rasgos genéticos heredados y de la experiencia adquirida (por ejemplo: variables como el estado de salud y tipo de personalidad) (Zubin y Spring, 1977). La manera como una persona expresa su enojo es un rasgo de personalidad (Funkenstein *et al.*, 1957; Biaggio, 1980). En cuanto a los recursos, éstos se refieren a la moral del individuo (del cuidador), su autoestima, su capacidad para enfrentar las cosas, sus apoyos sociales (Diener *et al.*, 1985; Gottlieb, 1981; Lazarus y Folkman, 1984) y la actitud ante la vida. Si ésta es positiva, constituye un mecanismo que amortigua las situaciones agobiantes que surgen cotidianamente.

Evaluación de la sobrecarga del cuidador

Desde un punto de vista bioético personalista, se busca activamente el bien de ambas personas (Sgreccia, 1994) y que ambas vivan de la mejor manera posible, es decir, que su calidad de vida sea la mejor posible de acuerdo con la problemática que enfrentan. El conocimiento del grado de sobrecarga del cuidador permitirá aportar elementos a nivel clínico para iniciar intervenciones en los aspectos psicológico y socio-familiar, y así poder mejorar tanto el estado de salud del cuidador como la calidad de la atención al paciente.

No existe un estándar de oro (validez de criterio) para la detección de la sobrecarga del cuidador. La investigación de sobrecarga familiar dentro del contexto gerontológico empezó a desarrollarse en la década de 1980. La escala de 22 elementos o ítems de Zarit y su grupo de colaboradores probablemente haya sido el instrumento más utilizado en gerontología para evaluar la carga familiar y ha sido punto de referencia para otras escalas. Sin embargo, este instrumento sólo maneja dominios del cuidador como la salud física y psicológica, el área económica y laboral, las relaciones sociales y las relaciones con el familiar a su cuidado. Al ser la sobrecarga del cuidador un concepto muy subjetivo, se han diseñado otras escalas para evaluarla, como el Caregiver Burden Inventory (CBI) (Novak

y Guest, 1989), el Neuropsychiatric Inventory Caregiver Distress Scale (NPI-D) (Kaufert *et al.*, 2000), el Screen for Caregiver Burden (SCB versión breve) (Hirschman *et al.*, 2004) y SCB de 25 elementos (SCB, versión completa) (Vitaliano *et al.*, 1991), que es específico para pacientes con demencia.

Este último cuestionario evalúa tanto dominios propios del enfermo como los del cuidador. Dicha característica de la escala es muy enriquecedora porque otros instrumentos no contemplan la ventaja de señalar, con cierta precisión, la distinción entre lo que atañe al paciente y lo que es propio de su cuidador. Considerar los dominios del paciente con demencia puede ser determinante en el momento de tomar la decisión de institucionalizarlo o de planear una intervención terapéutica para el cuidador, además de ser un buen instrumento para predecir los efectos del cuidado. El SCB mide seis dominios. Los dominios de los pacientes atañen quejas cognitivas (preguntas repetitivas) y de comportamiento (conducir automóvil, extraviarse, comunicación). Los dominios de los cuidadores cubren aspectos sociales (sentimiento de soledad), emocionales (vergüenza, frustración), económicos (buscar asistencia pública) y físicos (tareas domésticas). Se cuenta con una versión validada al español en población mexicana (Guerra-Silla *et al.*, 2011).

Impactos en el ámbito físico, social, económico y emocional del cuidador y enfermo con demencia

Es frecuente que el cuidador de un enfermo con demencia centre su atención y vierta gran parte de su energía en esta labor, descuidando, no en pocas ocasiones, su propia persona, su trabajo y a otros miembros de la familia. El cuidador suele desatender sus propios intereses, lo que le ocasiona ansiedad, angustia, depresión y aislamiento social (Intrieri y Rapp, 1994). Es muy común que no cuente con una persona que escuche sus problemas, que lo aliente y oriente en situaciones nuevas o de crisis. Cuando el cuidador es viejo, puede enfermar e incluso morir antes que el paciente al que está cuidando.

El desgaste económico se presenta cuando tienen que sacrificarse algunas necesidades básicas o hasta los placeres más elementales para poder hacer frente a gastos imprevistos, que en ocasiones incluyen la contratación de personal de apoyo.

La salud física se merma grandemente cuando el cuidador tiene que realizar maniobras de movilización que a veces rebasan su capacidad, ocasionando

incluso lesiones músculo-esqueléticas, pérdida del apetito, trastornos del sueño, fatiga crónica e incapacidad para relajarse. Tales esfuerzos, sin el debido descanso, pueden conducir al colapso o sobrecarga del cuidador, situación que repercutirá negativamente en la atención del enfermo. El término de colapso o agotamiento del cuidador se ha incluido dentro de los síndromes geriátricos.

El paciente con demencia experimenta día a día pequeñas pérdidas a las que el cuidador debe enfrentarse, y este constante perder (Mendoza-Martínez y Rodríguez-García, 1999) le produce un desgaste o duelo anticipado, pues a menudo el enfermo se convierte en un desconocido que sólo demanda cuidados, ya no comparte gustos ni responsabilidades y frecuentemente ya no agradece lo que se hace por él o ella. Esta actitud de desapego confunde al cuidador, lo entristece, enoja, deprime y frustra. La prevalencia de depresión del cuidador fluctúa entre 30% y 50% (Intrieri y Rapp, 1994). En otros estudios, esta cifra llega a ser tan elevada como 80% (Savundranayagam *et al.*, 2005).

La atención óptima de los pacientes con demencia implica no sólo el cuidado de quien padece la enfermedad, sino también de su cuidador (Pérez del Molino y Ayuso Gil, 1994). Los objetivos a alcanzarse en la atención óptima de este último incluyen: lograr la satisfacción con los cuidados, disminuir el estrés físico y psicológico, evitar su aislamiento social, aliviar y solidarizarse con su pena, así como conducir a la aceptación de la enfermedad.

No todas las experiencias de los cuidadores han sido negativas. A pesar del agobio emocional y la carga de trabajo, algunos cuidadores refieren haber sentido satisfacción, compañía y haber encontrado sentido a su propia vida al cuidar al enfermo con demencia (Cohen *et al.*, 2003). Existen grupos de personas que viven con una gran carga de agobio (*stress*) crónico, como los cuidadores de personas con enfermedad de Alzheimer, controladores de tráfico aéreo, médicos, pacientes psiquiátricos externos (Nedic *et al.*, 2008). Se ha reportado que los cuidadores tienen un nivel más alto de síntomas por sobrecarga (depresión y trastornos del sueño) (Von Känel *et al.*, 2010), además de hábitos de salud deficientes (conducta sedentaria, dietas inadecuadas), y también tienen una falta de regulación metabólica marcada (niveles altos de glucemia) (Yi *et al.*, 2008). Algunos cuidadores con depresión están más propensos a tener una elevación de plaquetas, lo que constituye un riesgo cardiovascular (Aschbacher *et al.*, 2009).

En relación al género, los hombres que cuidan a su cónyuge con enfermedad de Alzheimer tienen una prevalencia más elevada de cardiopatías (Zhang *et al.*,

2006). De igual manera, los cuidadores que padecen cáncer tienen una menor actividad inmunológica. Cuidadores hipertensos tienen mayor reactividad de su presión sistólica.

En consecuencia, cuidadores con comorbilidad tienen mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico (hipertensión, diabetes, obesidad, dislipidemia). De manera que los cuidadores, al llevar a cabo un trabajo tan extenuante y desgastante, tienen mayor probabilidad de enfermar (Vitaliano *et al.*, 2003); esto, aunado a los factores predisponentes específicos (Ferrario *et al.*, 2003). En cuanto al enfermo con demencia, si su cuidador presenta sobrecarga, el enfermo está en riesgo de ser institucionalizado, maltratado y que como desenlace disminuya su calidad de vida (Taw CW *et al.*, 2010, Vandeweerd C y Paveza GJ., 2005, Vandeweerd C *et al.*, 2006, Rosas-Carrasco O *et al.*, 2010)

Estrategias e intervenciones que pueden prevenir y/o disminuir la sobrecarga del cuidador

Es importante informar o asesorar a la familia sobre los cuidados del enfermo con demencia, lo cual es un punto clave en las estrategias que aminoran la sobrecarga. Esta información y recomendación deberá realizarse preferentemente desde etapas tempranas de la enfermedad ya que se ha demostrado que con una intervención oportuna se obtienen mayores beneficios para el cuidador (Signe A y Elms-táhi S., 2008).

A todo cuidador debe explicársele la naturaleza de los problemas cognitivos y conductuales de esta enfermedad, sus consecuencias, manifestaciones y las incapacidades a las que conduce. La educación del familiar con respecto a la enfermedad demencial permitirá una mejor aceptación de la misma y le ayudará a prepararse para enfrentar y lidiar mejor con sus manifestaciones clínicas, lo cual permitirá mejorar la calidad de atención brindada y reducir el grado de agobio o sobrecarga que con frecuencia se puede experimentar como cuidador durante el curso del padecimiento. Se debe sugerir también la búsqueda de un grupo de apoyo en donde pueda expresar su sentir, comparar, compartir experiencias y así aminorar la sobrecarga (Signe A y Elmstáhi S., 2008, Chu H *et al.*, 2011, Gräsel E *et al.*, 2010).

Buscar la ayuda de otros familiares, quienes deberán contribuir con tiempo de cuidado y/o dinero si es posible, para la contratación de personal capacitado o de alguna asistencia institucional para que el cuidador principal pueda tener espacios propios, “respiros” para su auto-cuidado —atención médica, intereses, actividades, pasatiempos propios que promuevan una mayor satisfacción personal que ayudarán sin duda alguna a aminorar la sobrecarga. (Intrieri y Rapp., 1994).

A todo cuidador se debe recomendar acudir con el profesional de salud capacitado para recibir, en determinadas situaciones, ayuda más personalizada como psicoterapia, asistencia psicoeducativa, utilizar los centros de día o de “respiro”, donde puede permanecer el enfermo temporalmente por horas durante el día, mientras el cuidador atiende sus propias necesidades (de la Cuesta-Benjumea C., 2011).

Referencias

- Appley M.H, Trumbull R. On the concept of psychological stress. En: MH Appley, R. Trumbull (eds.). *Psychological stress*. Nueva York: Appleton-Century-Crofts, 1967: 1-13.
- Aschbacher K, *et al.* Persistent versus transient depressive symptoms in relation to platelet hyperactivation: a longitudinal analysis of dementia caregivers. *Journal of Affective Disorders*, 2009; 116 (1-2): 80-87.
- Biaggio ML. Anger arousal and personality characteristics. *Journal of Personality and Social Psychology*, 1980; 39: 352-356.
- Corona-Vázquez T, *et al.* The neurologic diseases. *Gaceta Médica de México*, 2002; 138: 533-546.
- Cohen CA, Colantonio A, Vernich L. Positive aspects of care giving: rounding out the caregiver experience. *Int J Geriatric Psychiatry*, February 2002; 17(2):184-188.
- Chu H, Yang CY, Liao YH, Chang LI, Chen CH, Lin CC, Chou KR. The effects of a support group on dementia caregivers' burden and depression. *Journal of Aging and Health* 2011; 23 (2): 228-41.
- de la Cuesta-Benjumea C. Strategies for the relief of burden in advanced dementia caregiving. *Journal of Advancing Nursing*. 2011 doi: 10.1111/j.1365-2648.2010.05607.
- Diener E, *et al.* The satisfaction with life scale. *Journal of Personality Assessment*, 1985; 49: 71-75.

- Entrevista de carga del cuidador. www.segg.es/segg/html/cuidadores/cuidador/entrevista_carga.htm-45k. Revista de Gerontología, 6: 338-346. Consultada el 7 de noviembre de 2007.
- Ferrario SR, *et al.* Alzheimer's disease: usefulness of the Family Strain Questionnaire and the Screen for Caregiver Burden in the study of caregiving related problems. International Journal of Geriatric Psychiatry, 2003; 18 (12): 1110-1114.
- Folstein MF, Folstein SE. Syndromes of altered mental state. En: Hazzard, WR, *et al.* Principles of Geriatric Medicine and Gerontology 3rd ed. Nueva York: McGraw-Hill, 1994: 1197-1204.
- Funkenstein DH, *et al.* Mastery of stress. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1957.
- Gottlieb B. Social networks and social support in community mental health. En: Gottlieb B (ed.). Social networks and social support vol. 4, Sage studies in community mental health. Beverly Hills: Sage, 1981: 11-42.
- Grässel E, Trilling A, Donath C, Luttenberger K. Support groups for dementia caregivers—predictors for utilization and expected quality from a family caregiver's point of view: a questionnaire survey part I*. BMC Health Services and Research. 2010. 28; 10: 219.
- Gray-Davidson F. The caregiver's journey. En: Gray-Davidson F (ed.). The Alzheimer's Sourcebook for Caregivers 3rd ed. Los Ángeles: Lowell House, 1999:1-12.
- Guerra-Silla G, Gutiérrez-Robledo LM, Villalpando-Berumen JM, Pérez-Zepeda MU, Montaña-Álvarez M, Reyes-Guerrero J, Rosas-Carrasco O. Psychometric evaluation of a Spanish Language Version of the Screen for Caregiver Burden (SCB) in caregivers of patients with mixed, vascular and Alzheimer's dementia. Journal of Clinical Nursing 2011. Aceptado para su publicación en impresión.
- Gutiérrez LM, *et al.* Prevalence of dementia and mild cognitive impairment in subjects 65 years and older in Mexico City. Gerontology, 2001; 47: 145.
- Hirschman KG, *et al.* The development of a rapid screen for caregiver burden. Journal of the American Geriatric Society, 2004; 52: 1724-1729.
- Intrieri RC, Rapp SR. Caring for the older adult: the role of the family. En: Hazzard WR, *et al.* Principles of Geriatric Medicine and Gerontology 3rd ed. Nueva York: McGraw-Hill, 1994: 229-234.
- Kaufner DI, *et al.* Validation of the NPI-Q, a brief clinical form of the Neuropsychiatric Inventory. Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience, 2000; 12; 233-239.
- Lazarus RS, Folkman S. Stress, appraisal, and coping. Nueva York: Springer, 1984.
- Llibre Rodríguez JJ, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob KS, Krishnamoorthy ES, Salas A, Sosa AL, Acosta I, Dewey ME, Gaona C, Jotheeswaran AT, Li S, Rodrí-

- guez D, Rodríguez G, Kumar PS, Valhuerdi A, Prince M; 10/66 Dementia Research Group. Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *Lancet*. 2008 Aug 9;372(9637):464-74.
- Mejía-Arango S, *et al*. Deterioro cognoscitivo y factores asociados en adultos mayores en México. *Salud Pública de México*, 2007; 49, sup .4; S475-S481.
- Mittelmark MB. The epidemiology of aging. En: Hazzard WR., *et. al*. *Principles of Geriatric Medicine and Gerontology* 3rd ed. Nueva York: McGraw-Hill, 1994: 135-151.
- Mendoza-Martínez L, Rodríguez-García R. Colapso del cuidador. En: Rodríguez-García R, *et al*. (ed.). *Geriatría*. México: McGraw-Hill Interamericana, 1999: 224-229.
- Nedic O, *et al*. Work stressors among physicians with and without the acquired cardiovascular disorders: assessment using the Occupational Stress Index.
- Medicinski Pregled, Mayo-junio, 2008; 61 (5-6): 226-234. (Artículo serbio).
- Novak M, Guest C. Application of a multidimensional caregiver burden inventory. *The Gerontologist*, 1989; 29: 798-803.
- Pérez del Molino-Martín J, Ayuso-Gil E. Cuidados del paciente con demencia. En: Guillén-Llera F, Pérez del Molino Martín J, (eds.). *Síndromes y cuidados en el paciente geriátrico*. Barcelona: Masson, 1994: 357-380.
- Rosas-Carrasco O, Torres-Arreola Ldel P, Guerra-Silla Mde G, Torres-Castro S, Gutiérrez-Robledo LM. Validation of the Quality of Life in Alzheimer's Disease (QOL-AD) scale in Mexican patients with Alzheimer, vascular and mixed-type dementia. *Revista de Neurología*. 2010; 51 (2): 72-80.
- Savundranayagam MY, *et al*. Investigating the effects of communication problems on caregiver burden. *Journal of Gerontology Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, enero 2005; 60 (1): S48-S55.
- Sgreccia E. La bioética y sus principios. En: Sgreccia E (ed.). *Manual de Bioética*. México: Editorial Diana, 1994: 135-179.
- Signe A, Elmståhl S. Psychosocial intervention for family caregivers of people with dementia reduces caregiver's burden: development and effect after 6 and 12 months. *Scandinavian Journal of Caring Sciences*; 2008; 22 (1): 98-109.
- Smith SC, *et. al*. Measurement of health-related quality of life for people with dementia: development of a new instrument (DEMQOL) and an evaluation of current methodology. *Health Technology Assessment*, 2005; 9 (10): 1-3.
- Stone R, *et al*. Caregivers of the frail elderly: A national profile. *The Gerontologist*, 1987; 27: 616.
- Tew CW, Tan LF, Luo N, Ng WY, Yap P. Why family caregivers choose to institutionalize a loved one with dementia: a Singapore perspective. *Dement Geriatric and Cognitive Disorders*. 2010; 30 (6): 509-16.

- Vandeweerd C, Paveza GJ. Verbal mistreatment in older adults: a look at persons with Alzheimer's disease and their caregivers in the state of Florida. *Journal of Elder Abuse and Neglect*. 2005; 17 (4): 11-30.
- Vandeweerd C, Paveza GJ, Fulmer T. Abuse and neglect in older adults with Alzheimer's disease. *Nursing Clinics of North America*. 2006; 41 (1): 43-55.
- Vitaliano PP, *et al.* The screen for caregiver burden. *The Gerontologist*, 1991; 31: 76-83.
- Vitaliano PP, *et al.* Is caregiving hazardous to one's physical health? A meta-analysis. *Psychological Bulletin*, noviembre 2003; 129 (6): 946-972.
- Von Känel, *et al.* Sleep and biomarkers of atherosclerosis in elderly Alzheimer caregivers and control. *Gerontology*, 2010; 56 (1): 41-50. Epub 2009 Dec 3.
- Yi JP, *et al.* How does anger coping style affect glycemic control in diabetes patients? *International Journal of Behavioral Medicine*, 2008; 15 (3): 167-172.
- Zarit SH, *et al.* Relatives of the impaired elderly: Correlates of feeling of burden. *The Gerontologist*, 1980; 20: 649- 655.
- Zhang J. *et al.* Relations of caregiving stress and health depend on the health indicators used and gender. *International Journal of Behavioral Medicine*, 2006; 13 (2): 173-181.
- Zubin J, Spring B. Vulnerability. A new view of schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*, 1977; 86: 103-126.

23 Salud bucal y deterioro cognitivo

Roberto Carlos Castrejón Pérez¹

Resumen

La boca es una parte importante del cuerpo, tiene influencia en el desempeño social y la autoestima de las personas, además de que forma parte de la primera línea de defensa del organismo, participando de manera activa en el control antibacteriano; en ella comienza el proceso digestivo y favorece una comunicación adecuada. La caries dental y la enfermedad periodontal son los dos problemas de salud bucal más frecuentes a nivel poblacional, también son el punto de partida para llegar a condiciones poco favorables como el edentulismo y la presencia de infecciones dentales. Estos problemas son fácilmente prevenibles con procedimientos sencillos como el cepillado y el uso de hilo dental para eliminar residuos de alimentos que puedan favorecer la colonización de bacterias que agredirán a los tejidos bucales. Los pacientes con deterioro cognitivo suelen presentar problemas bucales en diferentes niveles de complejidad, tales como la caries dental, la presencia de restos radiculares, tener pocos dientes en boca y la xerostomía, estas condiciones comprometen el estado de salud general y no son favorables para conservar una adecuada nutrición, ya que limitan la selección de alimentos y dificultan la deglución. Es importante prevenir el desarrollo de estas condiciones para mejorar las condiciones nutricias y la calidad de vida de los pacientes con deterioro cognitivo.

En el presente capítulo se describirá lo que es la salud bucal y la manera de conservarla, así como las técnicas de higiene y se presentará la relación entre las condi-

¹ Instituto de Geriatria (INGER), SSA, México DF.

ciones de salud bucal y el deterioro cognoscitivo. Finalmente se sugieren algunas recomendaciones para los cuidados de la salud bucal de este grupo de pacientes.

La salud bucal

Importancia de la salud bucal

La salud bucal se refiere a la totalidad de la boca, no solamente a los dientes, por lo que se deben tener presentes las encías, el paladar duro y blando, la mucosa de boca y garganta, la lengua, los labios, las glándulas salivales, los músculos masticadores, los huesos maxilares y la mandíbula[1].

La salud bucal significa más que tener buenos dientes, está integrada en la salud general y es esencial para el bienestar[2], implica estar libre dolor facial o bucal, cáncer bucal o de garganta, úlceras bucales, defectos de nacimiento (labio y/o paladar fisurados), enfermedad periodontal (de las encías), caries y pérdida dental entre otras enfermedades y desórdenes que afectan a la cavidad bucal y tejidos craneofaciales, conjuntamente conocidos como el complejo craneofacial[2, 3].

La boca tiene un papel importante en la salud general y la calidad de vida de las personas[2, 4], la masticación, la deglución y la fonación son funciones de la cavidad bucal[1, 5]; participa como parte del sistema de protección del cuerpo, pues al masticar fragmenta los alimentos, los mezcla con la saliva, sustancia rica en lipasa lingual, amilasa- α salival y mucinas que facilitan la deglución y comienzan con el proceso de digestión de los alimentos fragmentando los ácidos grasos. La saliva también contiene inmunoglobulina A (Ig-A), que es la primera línea de defensa del sistema inmune contra el ataque de virus y bacterias; ésta es acompañada, entre otras sustancias, por lisozima y lactoferrina, que ayudan al control bacteriano. La saliva también es importante para la fonación, lubricando y facilitando los movimientos labiales y de la lengua[6].

De tal modo que la cavidad bucal permite comer, hablar, sonreír, besar, tocar, oler y degustar, participando de manera activa en la vida diaria de las personas[5] y siendo un elemento importante en el sistema de protección del organismo, por lo cual es importante conservar las mejores condiciones de salud bucal el mayor tiempo posible[2].

Como resultado de múltiples trabajos de investigación se ha encontrado que la salud bucal se relaciona con la selección de alimentos[7-10], el estado nutricional[11-15], la calidad de vida[7, 16-24], enfermedad cardiovascular[25-28], osteoporosis[29-32], deterioro cognitivo[33-39], trastornos inflamatorios[40, 41] y metabólicos[42-49], observando que el menor número de dientes presentes es una condición que coincide como factor de riesgo para condiciones sistémicas, la presencia de periodontitis puede influir en la respuesta del tratamiento de condiciones metabólicas y que la salud bucal general tiene efecto en el desempeño social y la autoestima de las personas.

Problemas de salud bucal

Los problemas de salud bucal se pueden dividir en dos grupos generales, los problemas o trastornos genéticos y del desarrollo (labio y paladar fisurados, amelogénesis y la dentinogénesis imperfecta, entre otros) y los problemas adquiridos, éstos últimos a su vez se pueden dividir en primarios y secundarios (tabla 1).

TABLA 1. Problemas de salud bucal.

Genéticos y del desarrollo
Amelogénesis imperfecta
Dentinogénesis imperfecta
Labio y paladar fisurados
Adquiridos
Primarios
Caries
Gingivitis
Periodontitis
Secundarios
Infección dental
Fracturas dentales
Pérdida dental
Edentulismo
Xerostomía
Cáncer bucal
Alteraciones de la Articulación Temporo-Mandibular (ATM)
Otros
Traumatismo

Los trastornos adquiridos son aquellos que se contraen a lo largo de la vida; éstos se pueden dividir en primarios (aquellos que suceden en tejidos originalmente íntegros) y en secundarios (aquellos que suceden a partir de tejidos previamente vulnerados por condiciones primarias previas). Entre los problemas adquiridos primarios encontramos la caries, la gingivitis y la periodontitis; mientras que entre los problemas adquiridos secundarios se pueden mencionar la infección dental, fractura dental, pérdida dental, edentulismo, xerostomía y lesiones de tejidos blandos.

Las alteraciones de la ATM merecen una mención especial, ya que es una condición que se puede presentar debido a una alteración del desarrollo embrionario, donde se presentan asimetrías craneales que provocan una función poco apropiada para la articulación o como consecuencia de condiciones previas, tal como la interferencia oclusal debida a pérdida dental y malposición dental (maloclusiones).

En los siguientes párrafos abordaré los problemas de salud bucal más frecuentemente observados en los adultos mayores y en personas con deterioro cognitivo, por lo que los problemas genéticos y del desarrollo, así como los problemas relacionados con los tejidos blandos serán omitidos a partir de este punto.

Los problemas bucales más comunes son la caries (prevalencia de 60% a 90% en niños en edad escolar[2, 5, 50, 51]) y la enfermedad periodontal (prevalencia de periodontitis severa entre 5% y 15% a nivel poblacional)[2, 52], estas dos condiciones son experimentadas prácticamente por todas las personas[1]; otra condición de alta prevalencia en los adultos es la pérdida dental, la cual lleva a la presencia de edentulismo (prevalencia de 6% a 78% en diferentes países)[2, 50].

La *caries* es un proceso patológico que sucede luego de la erupción dental, involucra el desbalance entre las interacciones moleculares de la superficie del diente y la película biológica (placa dentobacteriana). Se manifiesta a través del tiempo como la desmineralización acumulativa del diente, que tiene el potencial para producir una cavitación en el esmalte con el daño colateral a la dentina y la pulpa[53-55], esta desmineralización es causada por productos de degradación de las bacterias[56].

La *enfermedad periodontal* se refiere a la alteración de los tejidos de soporte de los dientes (ligamento periodontal, hueso alveolar) por la presencia de colonias de bacterias y sus subproductos[5, 56] en el espacio existente entre la superficie dental y la encía marginal; este espacio aumenta su profundidad como efecto de la agresión constante de los subproductos de las bacterias que colonizan ese espa-

cio, el cual también puede modificarse por la acción física de la calcificación de la placa dentobacteriana, provocando migración apical de la encía y exponiendo la superficie radicular al medio ambiente bucal y al trauma oclusal.

La *pérdida dental* puede estar relacionada con cualquier causa, ya sea infección posterior a caries, extracción por fines terapéuticos (alivio de infecciones persistentes o diseño de rehabilitaciones protésicas) o accidente (golpes directos o accidentes deportivos y automovilísticos)[57].

El *edentulismo* es la ausencia de todos los dientes. Es una condición que aumenta su prevalencia con la edad, en general es la consecuencia de la experiencia de caries y de enfermedad periodontal.

La *xerostomía* es el reporte de sensación de boca seca, puede ser confundido con hipofunción de las glándulas salivales, y aunque la hipofunción de las glándulas salivales está claramente definida como un flujo salival de 0.1 a 0.2 ml por minuto sin estímulo, y 0.7 ml por minuto bajo estímulo, la xerostomía no siempre estará acompañada de disminución del flujo salival[58-61].

Factores de riesgo para salud bucal

A los problemas adquiridos de salud bucal (tabla 1) se les puede incluir entre las enfermedades crónicas, ya que, además de ser condiciones de larga duración y progresión lenta, comparten factores de riesgo, tales como el uso de tabaco, el sedentarismo, dietas ricas en grasas, sal y azúcar[1]; factores que también contribuyen con enfermedades como la obesidad, la diabetes, enfermedad cardiovascular y problemas bucales[1].

Las dietas ricas en azúcares representan el principal factor de riesgo para el desarrollo de caries, ya que bacterias como el *Streptococcus mutans* metabolizan el azúcar en ácido láctico, que tiene la capacidad de desmineralizar la superficie dental produciendo así la caries[1, 62].

La higiene deficiente permite que entre los dientes se conserven restos de comida y se formen la placa dentobacteriana y cálculo dental, que servirán como medios favorables para la colonización de bacterias (*Treponema Denticola*, *Porphyromona gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetencomitans*)[62] que son características de la gingivitis y enfermedad periodontal.

El tabaquismo tiene efecto crónico de largo tiempo en la respuesta inmune e inflamatoria, modifica la vascularización de la mucosa bucal, dificulta la transmigra-

ción de neutrófilos en la encía, afecta la inmunidad celular y humoral disminuyendo la concentración de citocinas, encimas y células polimorfonucleares, por lo que la susceptibilidad para periodontitis se ve aumentada en personas fumadoras[63].

Como podemos observar, la dieta rica en azúcares, la higiene inadecuada y el tabaquismo son factores de riesgo para los tres problemas adquiridos de salud bucal primarios. Cuando estas condiciones primarias no son intervenidas de manera oportuna, y conforme aumenta su severidad en cada persona, se pueden presentar los problemas secundarios, como pueden ser fractura dental, secundaria a la desmineralización de los dientes por procesos de caries; infección dental, secundaria a caries no tratadas o a infecciones establecidas en los tejidos de soporte; pérdida dental, por medio de la pérdida de tejidos de soporte característica de la periodontitis, o por la necesidad de extraer piezas dentales después de haber perdido la mayor proporción de su estructura por procesos de caries.

Al perder los dientes se vuelve necesaria la rehabilitación protésica, la cual de manera inicial devolverá la capacidad masticatoria de las personas, pero que, si las personas continúan sin conservar adecuados hábitos de higiene, dejarán de ser funcionales al momento de perder otra pieza dental, comprometiendo la capacidad funcional de esa boca y presentando dificultades masticatorias a la persona.

Cuando se han perdido la totalidad de los dientes (edentulismo), las personas se enfrentan a la necesidad de una rehabilitación con prótesis totales (dentaduras totales), las cuales representan un gran reto tanto para el clínico como para el paciente, ya que el clínico deberá devolver la capacidad masticatoria del individuo por medio del reemplazo artificial de la totalidad de los dientes, y para ello no tendrá referencias de cuál era la situación inicial de la persona; mientras que por el lado del paciente edéntulo, deberá aprender a utilizar una aparatología que cubrirá gran extensión de sus tejidos (paladar principalmente), que no le pertenece y que en gran medida modificará su capacidad sensorial, ya que la extensión de las dentaduras totales cubrirá el paladar duro, que participa de manera importante en el sentido del gusto, ofreciendo sensibilidad sobre la textura, consistencia y el sabor de los alimentos que son aplastados contra él por la lengua durante el proceso de masticación y formación del bolo alimenticio.

La xerostomía es una condición secundaria al uso de medicamentos específicos (anticolinérgicos, antidepresivos, antihistamínicos) o la polifarmacia[58-61], es una condición que se presenta con mayor frecuencia en adultos mayores, por lo que se ha atribuido que está relacionado con una hipofunción de las glándulas

salivales atribuible a la edad, pero en la mayoría de los casos se relaciona con la polifarmacia a la que están sujetos la mayoría de los adultos mayores[9, 60, 61].

Consecuencias de una salud bucal pobre

Para exponer las consecuencias de la salud bucal deficiente, debo aclarar que es importante cuidar las condiciones de salud bucal desde el momento del nacimiento, pues los dientes han comenzado a formarse a partir del tercer trimestre de gestación. Los dientes temporales (también conocidos como “dientes de leche”) comienzan a erupcionar a partir del séptimo mes de vida y la condición de salud de éstos durante los siguientes cinco años será determinante como predictor de las condiciones de salud de la dentición permanente.

Una vez mencionada la importancia de conservar una adecuada salud dental durante la infancia, es posible trazar una línea de temporalidad en la aparición de los problemas de salud bucal adquiridos; todos los dientes al momento de su erupción son dientes saludables y carecen de defectos adquiridos, a partir de este momento se vuelven relevantes los factores de riesgo previamente descritos (dieta e higiene), ya que si se tiene una dieta rica en azúcares acompañada por una higiene pobre, será muy probable desarrollar caries, si esta caries no es tratada, existe el riesgo de experimentar infección dental, que eventualmente terminará con la pérdida del órgano dentario, siendo así necesaria la rehabilitación protésica. Una vez que la pérdida dental es rehabilitada protésicamente, será importante adquirir el conocimiento y las habilidades necesarias para conservar una adecuada higiene en las prótesis (fijas o removibles), ya que al usar aditamentos protésicos también se tendrán espacios y zonas donde con facilidad queden atrapados restos de comida y placa que sirva como reservorio de bacterias que aumentarán el riesgo de experiencia de caries o de problemas de los tejidos de soporte (gingivitis o periodontitis).

Si después de que han erupcionado los dientes no se conserva una adecuada higiene, se pueden presentar problemas de gingivitis y periodontitis. Aunque la gingivitis es un problema relativamente sencillo que consiste en la inflamación de la encía debida a productos bacterianos que la irritan, si ésta permanece el tiempo suficiente, puede progresar a una condición de periodontitis, con la cual se experimentará pérdida de soporte de los dientes debido a la pérdida de hueso alveolar; esta pérdida de soporte se presentará clínicamente como movilidad dental; si

es intervenida oportunamente esta situación podrá devolverse estabilidad a los dientes, pero si no es atendida, podrá progresar hasta que los dientes se pierdan uno a uno.

Si estas condiciones no son intervenidas de manera oportuna, la pérdida de dientes progresará hasta terminar con una boca edéntula (sin dientes), condición que requerirá de una rehabilitación con aparatología protésica.

El uso de aparatología protésica es un factor de riesgo para el desarrollo y presencia de lesiones en las mucosas. Estas lesiones se presentan en respuesta al uso de prótesis con un ajuste inadecuado o con una higiene deficiente[64-67]. Cuando la aparatología protésica no es debidamente higienizada podrá ser colonizada principalmente por hongos (ej. *Candida albicans*) que irritarán la mucosa sobre la que se apoya, dejando superficies irritadas que presentan molestias para el uso de las prótesis[68-71].

Se ha observado que las personas con xerostomía tienen mayor experiencia de caries coronal y radicular, es probable que hayan perdido mayor número de dientes, presentan halitosis (mal aliento), dolor y ardor en la mucosa bucal, dificultades para deglutir y para hablar, sensación del gusto alterada, aumenta el riesgo de experiencia de caries, periodontitis e infecciones fúngicas oportunistas[58].

La salud bucal y el deterioro cognitivo

Como ya se mencionó previamente, los problemas de salud bucal más frecuentes en la población general son los problemas adquiridos (caries, gingivitis, periodontitis, pérdida dental, edentulismo, etc.). Es importante mencionar que el deterioro cognitivo (DC) es acompañado por cambios graduales que interfieren con el desempeño ocupacional, comportamiento social, control motriz y la capacidad para realizar de manera adecuada el autocuidado personal y bucal[72-74], por lo cual las personas que desarrollan deterioro cognitivo de manera progresiva requieren de asistencia para realizar las actividades de autocuidado; y de manera similar, conforme avanzan en el desarrollo y establecimiento de la enfermedad, presentan más problemas para sus cuidadores al realizar los procedimientos de higiene, sobre todo los bucales (tabla 2).

Si sumamos el hecho de que las personas pierden interés por su cuidado personal y dificultan que quienes los cuidan realicen los procedimientos de higiene cotidianos a que los factores de riesgo comunes para los problemas primarios de

TABLA 2. Problemas que ofrecen las personas con diferentes grados de deterioro cognitivo a sus cuidadores para realizar los procedimientos de higiene bucal [72-74].

No abrir la boca
No comprender las instrucciones sobre cuidados bucales
Rehusarse a la limpieza bucal
Olvidar o necesitar recordatorios para lavarse la boca
Ser agresivo o usar malas palabras hacia el cuidador
Morder el cepillo dental o al cuidador
No poder remover las prótesis (parciales o totales) o no poder volver a colocarlas en boca.
Patear y golpear durante los cuidados bucales
No poder enjuagarse o escupir
Mantener la cara hacia abajo y dificultar el acceso a la boca

salud bucal son hábitos de higiene, entonces será fácil identificar que los problemas de salud bucal más frecuentemente encontrados en las personas con DC estén relacionados con la falta de higiene y consecuencias derivadas de ello (gingivitis, alto índice de placa dental, periodontitis, caries radicular, mayor número de dientes perdidos y edentulismo; tabla 3).

TABLA 3. Características bucales, alimentación y de asistencia más frecuentes en personas con alteraciones cognitivas.

Clínicas dentales	
Enfermedad periodontal Sangrado gingival Pérdida de nivel de inserción	Caries radicular Presencia de restos radiculares Xerostomía
Edentulismo ≤10 dientes Caries coronal	No uso de prótesis (parciales o totales) Mayor necesidad de tratamiento dental
Alimentación y asistencia	
Problemas para masticar Dificultades para deglutir Menor consumo de alimentos	Dietas blandas Necesidad de asistencia para realizar higiene bucal

Se ha explorado la relación entre el DC y una gran variedad de variables dentales (tabla 4); para ello se han empleado evaluaciones clínicas directas (ej. son-

TABLA 4. Características de salud bucal exploradas para evaluar su relación con deterioro cognitivo.

Clínicas	
<ul style="list-style-type: none"> • Evaluación periodontal • Sangrado gingival • Nivel de inserción ($\geq 3\text{mm}$; 4-5mm) • Profundidad de bolsa ($\geq 4\text{mm}$; $\geq 6\text{mm}$) • Número de dientes presentes • Número de dientes perdidos • Presencia de pares funcionales naturales • Edentulismo • Restauraciones dentales (amalgamas) • Caries • Coronal • Radicular 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de restos radiculares • Higiene bucal • Acumulación de placa • Acumulación de cálculo • Higiene de dentaduras (Amorjisen) • Atrición • Uso de prótesis parcial removible (PPR) o dentaduras totales (DT) • Funcionalidad de PPR o DT • Lesiones de mucosas • Necesidad de tratamiento dental
Auto-reporte	
<ul style="list-style-type: none"> • Dolor dental • Xerostomía • Capacidad para morder o masticar (problemas) • Uso de productos para la higiene bucal • Auto-percepción de salud bucal • Auto-percepción de necesidad de tratamiento dental • Dificultades para deglutir 	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de higiene bucal* • Uso de productos para la higiene bucal* • Tiempo desde última visita al dentista (menor a 12 meses/≥ 12 meses)* • Frecuencia de visitas al dentista • Razón de uso de servicios dentales • Tratamiento recibido durante última visita
Reportados por cuidadores	
<ul style="list-style-type: none"> • Capacidad para morder o masticar (problemas)* • Necesidad de asistencia para higiene bucal • Dificultades ofrecidas a los cuidadores para la higiene bucal • Frecuencia de higiene bucal* • Uso de productos para la higiene bucal* 	<ul style="list-style-type: none"> • Tiempo desde última visita al dentista (menor a 12 meses/≥ 12 meses)* • Frecuencia de visitas al dentista* • Razón de uso de servicios dentales* • Tratamiento recibido durante última visita*
Expedientes	
<p>Razones para perder dientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Periodontitis • Caries • Fracturas 	<ul style="list-style-type: none"> • Infección apical • Dolor • Restauraciones fallidas

*Cuando la persona no ha sido capaz de dar la información por sí misma, esta información ha sido solicitada a sus cuidadores.

daje periodontal), cuestionarios y evaluaciones indirectas[75], así como fichas y radiografías dentales de archivo (ej. pérdida de nivel óseo evaluado en radiografías dento-alveolares y panorámicas)[36, 76].

Una de éstas[76] explora la relación entre tener el mayor número de amalgamas en boca como factor de riesgo para el desarrollo de alteraciones neurológicas, basándose en la hipótesis de que el mercurio juega un rol en el desarrollo de estas alteraciones y también es el componente principal de las amalgamas (mercurio, plata, estaño y cobre). Sin embargo, después de evaluar la superficie (mm²) de los dientes restaurada con amalgama y evaluar el desempeño neurológico de 129 participantes en el estudio, se concluyó que el uso de amalgamas no aumenta el riesgo para desarrollar alteraciones neurológicas, ya que no hubo diferencias en las calificaciones del MMSE entre las personas con mayor y menor superficie restaurada con amalgamas.

En la mayoría de los estudios se observó que las personas con DC han perdido un gran número de dientes y son edéntulos[36, 39, 77-80], de igual manera se ha observado que son personas a las que les cuesta trabajo conservar una higiene bucal adecuada, ya que presentan altos índices de placa dentobacteriana y cálculo dental (sarro), esto debido a que no realizan su higiene bucal de manera adecuada, no permiten que sus cuidadores los ayuden con la misma u olvidan por completo realizarla.

Al tener una higiene bucal deficiente también son personas que presentan mayor número de caries coronal[81] y radicular[82], así como enfermedad periodontal[83], lo cual se refleja en mayor necesidad de tratamiento dental, tanto preventivo como restaurativo[81, 84].

Como este tipo de paciente ha perdido mayor número de dientes, han dejado de utilizar sus prótesis (parcial o total)[74, 79] y presentan dificultades para deglutir, deben modificar su dieta por una selección de alimentos más fáciles de procesar (dietas blandas) disminuyendo el número de alimentos que consumen, situación que a su vez compromete la biodisponibilidad de nutrientes para un adecuado funcionamiento del organismo y de las funciones neurológicas.

En este grupo de personas también se ha reportado mayor frecuencia de xerostomía, esto puede ser atribuido al tipo de fármacos empleados para su tratamiento (antidepresivos y anticolinérgicos), pero esto no es excluyente de otras posibles interacciones farmacológicas atribuibles a la polifarmacia[58] necesaria para tratar condiciones que convergen en ellos.

En tres estudios longitudinales donde se siguió a un grupo de personas en riesgo durante periodos de uno a doce años, se observó mayor incidencia de demencia en personas edéntulas o con pocos dientes[36, 39, 77]; los autores observaron que es posible que las personas con demencia perciban los cuidados de salud bucal como de baja prioridad, por lo que presentan poco interés en su necesidad de cuidados dentales, así como el que no es posible que el DC haya causado las condiciones de salud bucal desfavorables en corto tiempo (uno a seis años de seguimiento)[39, 77].

Con la información disponible es fácil observar que las condiciones de salud bucal entre las personas con deterioro cognitivo son poco favorables, y que éstas se deterioran de manera progresiva al mismo ritmo en que aumenta la severidad del deterioro de los pacientes, de modo que no resultará raro que las personas institucionalizadas que padecen algún tipo de DC sean personas con mayor necesidad de intervención dental, con pocos dientes y con menor cooperación e interés en sus cuidados bucales, lo que comprometerá su situación nutricia, ya que debido a estas características de salud bucal, la selección de alimentos para este grupo de pacientes comprometerá la calidad de los mismos y aumentará el riesgo de estos pacientes para tener bajos índices de masa corporal y menos disponibilidad de nutrientes para el funcionamiento orgánico.

Recomendaciones

Es importante saber que los dientes son instrumentos trituradores de comida y soporte de los tejidos blandos de la cara (mejillas), que en ausencia de enfermedad de las encías u otras razones para perderlos, es posible tener una dentición completa y funcional toda la vida[1], por lo que es recomendable conservarlos en las mejores condiciones posibles para que cumplan su función el mayor tiempo posible. Aunque aún se pueden encontrar personas que consideran que la pérdida dental es parte “natural” del envejecimiento[52, 85, 86], también es posible encontrar que el día de hoy hay más personas mayores de 70 años que conservan más de 20 dientes.

La mayoría de los problemas de salud bucal son prevenibles por medio de procedimientos simples y económicos, tales como el cepillado dental, uso de hilo dental, uso de fluoruros y visitas regulares al profesional dental[5, 50]. Las per-

sonas pueden tomar acción por sí mismas para prevenir estas condiciones, mejorando sus hábitos dietéticos, siguiendo las recomendaciones de autocuidado y modificando hábitos como el tabaquismo[51].

En muchos lugares numerosas personas continúan sin atenderse de manera regular con el dentista, lo cual se refleja en mayor pérdida dental, pues permiten que sus dientes lleguen a una situación donde no es posible mantenerlos en boca, haciendo que la extracción se convierta en la opción para controlar procesos infecciosos severos[51]. Aunque aún hay personas que consideran que la pérdida dental forma parte natural del envejecimiento, la prevalencia de edentulismo está disminuyendo, lo que muestra que de manera progresiva las personas están conservando un mayor número de dientes a edades superiores de los 70 años.

Si bien conservar mejores condiciones de salud bucal no disminuirá la incidencia de alteraciones neurológicas, puede facilitar el trabajo de los cuidadores y mejorar las condiciones de salud general de los pacientes, permitiéndoles tener acceso a una mayor variedad de alimentos

Referencias

1. Beaglehole, R., et al., *The Oral Health Atlas*, ed. J. King, C. Lacey, and E. Wyse 2009, Brighton, UK: FDI World Dental Federation. 120.
2. Petersen, P.E., *The World Oral Health Report 2003*, W.G.O.H. Programme, Editor 2003, World Health Organization: Geneva. p. 45.
3. WHO. *Oral Health*. Health Topics 2011 2011 [cited 2011 Mar 21]; Available from: http://www.who.int/topics/oral_health/en/.
4. Petersen, P.E. and H. Ueda, *Oral Health in Ageing Societies. Integration of oral health and general health report of a meeting convened at the WHO, Centre for Health Development in Kobe, Japan 1-3 June 2005*, 2006, World Health Organization: Geneva. p. 59.
5. CDC. *Oral Health*. Chronic Disease Prevention and Health Promotion 2011 2010, Feb 19 [cited 2011 Mar 21].
6. Ganong, W.F., ed. *Fisiología Médica*. ed. a. Edición 1995, Manual Moderno: México.
7. Jung, Y.M. and D.S. Shin, *Oral health, nutrition, and oral health-related quality of life among Korean older adults*. J Gerontol Nurs, 2008. 34(10): p. 28-35.
8. Brennan, D.S., A.J. Spencer, and K.F. Roberts-Thomson, *Tooth loss, chewing ability and quality of life*. Quality of Life Research, 2007. 17(2): p. 227-235.

9. Hildebrandt, G.H., et al., *Functional units, chewing, swallowing, and food avoidance among the elderly*. J Prosthet Dent, 1997. 77(6): p. 588-95.
10. Koehler, J. and I.-U. Leonhaeuser, *Changes in Food Preferences during Aging*. Annals of Nutrition and Metabolism, 2008. 52(1): p. 15-19.
11. Ahmed, T. and N. Haboubi, *Assessment and management of nutrition in older people and its importance to health*. Clin Interv Aging, 2010. 5: p. 207-16.
12. Hutton, B., J. Feine, and J. Morais, *Is there an association between edentulism and nutritional state?* J Can Dent Assoc, 2002. 68(3): p. 182-7.
13. N'Gom P, I. and A. Woda, *Influence of impaired mastication on nutrition*. J Prosthet Dent, 2002. 87(6): p. 667-73.
14. Nowjack-Raymer, R.E. and A. Sheiham, *Numbers of natural teeth, diet, and nutritional status in US adults*. J Dent Res, 2007. 86(12): p. 1171-5.
15. Sahyoun, N.R., C.L. Lin, and E. Krall, *Nutritional status of the older adult is associated with dentition status*. J Am Diet Assoc, 2003. 103(1): p. 61-6.
16. Inukai, M., et al., *Does Removable Partial Denture Quality Affect Individuals' Oral Health?* Journal of Dental Research, 2008. 87(8): p. 736-739.
17. Cunha-Cruz, J., P.P. Hujoel, and N.R. Kressin, *Oral health-related quality of life of periodontal patients*. Journal of Periodontal Research, 2007. 42(2): p. 169-176.
18. Lahti, S., L. Suominen-Taipale, and H. Hausen, *Oral health impacts among adults in Finland: competing effects of age, number of teeth, and removable dentures*. Eur J Oral Sci, 2008. 116(3): p. 260-6.
19. Locker, D., *Oral health and quality of life*. Oral Health Prev Dent, 2004. 2 Suppl 1: p. 247-53.
20. Locker, D., et al., *The oral health status of older adults in four Ontario communities*. J Can Dent Assoc, 1991. 57(9): p. 727-32.
21. Sanders, A.E., et al., *Impact of oral disease on quality of life in the US and Australian populations*. Community Dent Oral Epidemiol, 2009. 37(2): p. 171-81.
22. Saub, R. and D. Locker, *The impact of oral conditions on the quality of life of the Malaysian adult population: preliminary results*. Med J Malaysia, 2006. 61(4): p. 438-46.
23. Slade, G.D. and A.J. Spencer, *Social impact of oral conditions among older adults*. Aust Dent J, 1994. 39(6): p. 358-64.
24. Slade, G.D. and A.J. Spencer, *Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile*. Community Dent Health, 1994. 11(1): p. 3-11.
25. Arbes, S.J., Jr., G.D. Slade, and J.D. Beck, *Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data*. J Dent Res, 1999. 78(12): p. 1777-82.
26. Beck, J.D., G. Slade, and S. Offenbacher, *Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation*. Periodontol 2000, 2000. 23: p. 110-20.

27. Beck, J.D., et al., *The Periodontitis and Vascular Events (PAVE) pilot study: adverse events*. J Periodontol, 2008. 79(1): p. 90-6.
28. Couper, D.J., et al., *The Periodontitis and Vascular Events (PAVE) pilot study: recruitment, retention, and community care controls*. J Periodontol, 2008. 79(1): p. 80-9.
29. Dervis, E., *Oral implications of osteoporosis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. 100(3): p. 349-56.
30. Edwards, B.J. and C.A. Migliorati, *Osteoporosis and its implications for dental patients*. J Am Dent Assoc, 2008. 139(5): p. 545-52; quiz 625-6.
31. Inagaki, K., et al., [*Oral osteoporosis: a review and its dental implications*]. Clin Calcium, 2007. 17(2): p. 157-63.
32. Mulligan, R. and S. Sobel, *Osteoporosis: diagnostic testing, interpretation, and correlations with oral health--implications for dentistry*. Dent Clin North Am, 2005. 49(2): p. 463-84.
33. Avlund, K., et al., *Tooth loss and caries prevalence in very old Swedish people: the relationship to cognitive function and functional ability*. Gerodontology, 2004. 21(1): p. 17-26.
34. Kaye, E.K., et al., *Tooth loss and periodontal disease predict poor cognitive function in older men*. J Am Geriatr Soc, 2010. 58(4): p. 713-8.
35. Noble, J., et al., *Periodontitis is associated with cognitive impairment among older adults: analysis of NHANES-III*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2009. 80(11): p. 1206-11.
36. Stein, P.S., et al., *Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun study*. J Am Dent Assoc, 2007. 138(10): p. 1314-22; quiz 1381-2.
37. Stewart, R. and V. Hirani, *Dental health and cognitive impairment in an English national survey population*. J Am Geriatr Soc, 2007. 55(9): p. 1410-4.
38. Takata, Y., et al., *Cognitive function and number of teeth in a community-dwelling elderly population without dementia*. J Oral Rehabil, 2009. 36(11): p. 808-13.
39. Wu, B., et al., *Cognitive function and oral health among community-dwelling older adults*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2008. 63(5): p. 495-500.
40. Locker, D., *Health outcomes of oral disorders*. Int J Epidemiol, 1995. 24 Suppl 1: p. S85-9.
41. Niedzielska, I., et al., *The effect of chronic periodontitis on the development of atherosclerosis: review of the literature*. Med Sci Monit, 2008. 14(7): p. RA103-6.
42. Erdemir, E.O. and J. Bergstrom, *Relationship between smoking and folic acid, vitamin B12 and some haematological variables in patients with chronic periodontal disease*. J Clin Periodontol, 2006. 33(12): p. 878-84.
43. Boggess, K.A., et al., *Vitamin D Status and Periodontal Disease Among Pregnant Women*. J Periodontol, 2010.
44. Dixon, D., et al., *Calcium and vitamin D use among adults in periodontal disease maintenance programmes*. Br Dent J, 2009. 206(12): p. 627-31; discussion 617.

45. Jabbar, S., et al., *Plasma vitamin D and cytokines in periodontal disease and postmenopausal osteoporosis*. J Periodontal Res, 2010.
46. Morita, I., et al., *Five-year incidence of periodontal disease is related to body mass index*. Journal of Dental Research, 2011. 90(2): p. 199-202.
47. Ide, R., et al., *Periodontal disease and incident diabetes: a seven-year study*. Journal of Dental Research, 2011. 90(1): p. 41-6.
48. Vergnes, J.N., *Treating periodontal disease may improve metabolic control in diabetics*. Evidence-based dentistry, 2010. 11(3): p. 73-4.
49. Ford, P.J., et al., *Why should a doctor be interested in oral disease? Expert review of cardiovascular therapy*, 2010. 8(10): p. 1483-93.
50. WHO. *Strategies and approaches in oral disease prevention and health promotion*. Oral Health 2011 [cited 2011 Mar 21]; Available from: http://www.who.int/oral_health/strategies/cont/en/index.html.
51. WHO. *What is the burden of oral disease?* 2011 [cited 2011 Mar 21]; Available from: http://www.who.int/oral_health/disease_burden/global/en/.
52. Petersen, P.E., *The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme*. Community Dent Oral Epidemiol, 2003. 31 Suppl 1: p. 3-23.
53. WHO, *The etiology and prevention of dental caries*. Technical report series, 1972: p. 494.
54. Pitts, N.B. and J.W. Stamm, *International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT)--Final Consensus Statements: Agreeing Where the Evidence Leads*. Journal of Dental Research, 2004. 83(suppl 1): p. C125-C128.
55. Medina-Solis, C.E., et al., *Políticas de salud bucal en México*. Rev Biomed, 2006. 17: p. 269-286.
56. Axelsson, P., ed. *Preventive Material, Methods and Programs*. The Axelsons series on preventive dentistry, ed. K. O'Malley 2004, Quintessence Books: Carol Stream, IL.
57. Starr, J.M. and R. Hall, *Predictors and correlates of edentulism in healthy older people*. Current opinion in clinical nutrition and metabolic care, 2010. 13(1): p. 19-23.
58. Hopcraft, M.S. and C. Tan, *Xerostomia: an update for clinicians*. Aust Dent J, 2010. 55(3): p. 238-44; quiz 353.
59. Oxholm, P. and K. Asmussen, *Primary Sjogren's syndrome: the challenge for classification of disease manifestations*. Journal of internal medicine, 1996. 239(6): p. 467-74.
60. Navazesh, M., C. Christensen, and V. Brightman, *Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction*. Journal of Dental Research, 1992. 71(7): p. 1363-9.
61. Fox, P.C., K.A. Busch, and B.J. Baum, *Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance*. Journal of the American Dental Association, 1987. 115(4): p. 581-4.

62. Loesche, W.J., *Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease*, in *Medical Microbiology*, S. Baron, Editor 1996: Galveston (TX).
63. Palmer, R.M., et al., *Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking*. Journal of Clinical Periodontology, 2005. 32 Suppl 6: p. 180-95.
64. Candel-Marti, M.E., et al., *Dental implants in patients with oral mucosal alterations: An update*. Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal, 2011.
65. Ferreira, R.C., C.S. Magalhaes, and A.N. Moreira, *Oral mucosal alterations among the institutionalized elderly in Brazil*. Brazilian oral research, 2010. 24(3): p. 296-302.
66. Mandali, G., et al., *Factors affecting the distribution and prevalence of oral mucosal lesions in complete denture wearers*. Gerodontology, 2011. 28(2): p. 97-103.
67. Jaiakittivong, A., V. Aneksuk, and R.P. Langlais, *Oral mucosal lesions in denture wearers*. Gerodontology, 2010. 27(1): p. 26-32.
68. Laurent, M., et al., *Oropharyngeal candidiasis in elderly patients*. Geriatrie et psychologie neuropsychiatrie du vieillissement, 2011. 9(1): p. 21-28.
69. Kim, J. and P. Sudbery, *Candida albicans, a major human fungal pathogen*. Journal of microbiology, 2011. 49(2): p. 171-7.
70. Sanita, P.V., et al., *Candida spp. prevalence in well controlled type 2 diabetic patients with denture stomatitis*. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, 2011. 111(6): p. 726-33.
71. Gendreau, L. and Z.G. Loewy, *Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis*. Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists, 2011.
72. Chalmers, J.M., et al., *The prevalence and experience of oral diseases in Adelaide nursing home residents*. Australian dental journal, 2002. 47(2): p. 123-30.
73. Ghezzi, E.M. and J.A. Ship, *Dementia and oral health*. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, 2000. 89(1): p. 2-5.
74. Chalmers, J.M., K.D. Carter, and A.J. Spencer, *Oral diseases and conditions in community-living older adults with and without dementia*. Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry, 2003. 23(1): p. 7-17.
75. Weyant, R.J., et al., *Medical and cognitive correlates of denture wearing in older community-dwelling adults*. Journal of the American Geriatrics Society, 2004. 52(4): p. 596-600.
76. Saxe, S.R., et al., *Dental amalgam and cognitive function in older women: findings from the Nun Study*. J Am Dent Assoc, 1995. 126(11): p. 1495-501.

77. Kim, J.M., et al., *Dental health, nutritional status and recent-onset dementia in a Korean community population*. International journal of geriatric psychiatry, 2007. 22(9): p. 850-5.
78. Okamoto, N., et al., *Tooth loss is associated with mild memory impairment in the elderly: the Fujiwara-kyo study*. Brain research, 2010. 1349: p. 68-75.
79. Shimazaki, Y., et al., *Influence of dentition status on physical disability, mental impairment, and mortality in institutionalized elderly people*. Journal of Dental Research, 2001. 80(1): p. 340-5.
80. Rai, B., J. Kaur, and S.C. Anand, *Possible relationship between periodontitis and dementia in a North Indian old age population: a pilot study*. Gerodontology, 2010.
81. Ellefsen, B., et al., *Caries prevalence in older persons with and without dementia*. Journal of the American Geriatrics Society, 2008. 56(1): p. 59-67.
82. Chalmers, J.M., K.D. Carter, and A.J. Spencer, *Caries incidence and increments in community-living older adults with and without dementia*. Gerodontology, 2002. 19(2): p. 80-94.
83. Syrjala, A.M., et al., *Dementia and oral health among subjects aged 75 years or older*. Gerodontology, 2010.
84. Purandare, N., et al., *Dental health of community-living older people attending secondary healthcare: a cross-sectional comparison between those with and without diagnosed mental illness*. International psychogeriatrics / IPA, 2010. 22(3): p. 417-25.
85. Petersen, P.E., et al., *Changing dentate status of adults, use of dental health services, and achievement of national dental health goals in Denmark by the year 2000*. Journal of Public Health Dentistry, 2004. 64(3): p. 127-35.
86. Petersen, P.E. and T. Yamamoto, *Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme*. Community Dent Oral Epidemiol, 2005. 33(2): p. 81-92.

24 Evaluación neuropsicológica del deterioro cognitivo y la demencia Alzheimer en el adulto mayor

Irma E. Velázquez Brizuela¹, Genaro Gabriel Ortiz² y Elva Dolores Arias Merino³

Resumen

El envejecimiento implica una serie de cambios, físicos, psicológicos, sociales y cognoscitivos. Se acompaña de un declive en la habilidad de procesar nueva información, donde las habilidades cognitivas que más resultan afectadas son la atención, la memoria y el aprendizaje.

El deterioro cognitivo se caracteriza por alteraciones en la memoria, sobre todo en procesos de nuevos aprendizajes, problemas de abstracción y disminución en la fluidez verbal. Aunque estas alteraciones no intervienen en las actividades de la vida diaria, con el tiempo sí pueden llegar a desarrollar una demencia.

La evaluación neuropsicológica en este caso valora las funciones cognoscitivas y los cambios producidos en el individuo, mediante test y técnicas sensibles a estos cambios. La aplicabilidad de la neuropsicología en el diagnóstico del deterioro cognitivo leve es fundamental en la prevención y/o identificación temprana de la demencia.

La evaluación neuropsicológica nos permite el diagnóstico del deterioro cognitivo, pero no es así para la demencia tipo Alzheimer. En este caso, es sólo una

¹ Instituto Jalisciense de Cancerología OPD. Secretaría de Salud y Asistencia, Jalisco, México.

² División de Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO). Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Guadalajara, Jalisco. México. División de Ciencias de la Salud, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey-Campus Guadalajara. Zapopan, Jalisco.

³ Centro Universitario de Ciencias de Salud (CUCS), Universidad de Guadalajara.

herramienta con alcances y limitaciones que debe sumarse a otras para llegar al diagnóstico.

Memoria y edad

Conforme se envejece, existe un gran miedo a presentar deterioro cognitivo y perder la memoria, sobre todo porque ésta se asocia con enfermedades neurodegenerativas. Tal es el caso de la enfermedad de Alzheimer (EA). La memoria es la capacidad del SNC de fijar, organizar, actualizar (evocar) y/o reconocer eventos de nuestro pasado psíquico (ideas, imágenes, acontecimientos, sentimientos, etcétera). Esta evocación permite ubicar a la mayoría de nuestros recuerdos en su contexto espacio-temporal, en tanto otros son evocados en función de sus vinculaciones semánticas o cognitivas

Existe una clasificación de la memoria y ésta va a depender de su duración o de los contenidos y su utilización (tabla 1).

Deterioro cognitivo y memoria

Existen algunas funciones de la memoria se mantienen estables y otras que son sensibles a la edad.

Las funciones de la memoria que se mantienen estables con la edad son:

1. Memoria remota.
2. Habilidades cristalizadas (conocimiento del mundo, vocabulario).
3. Recuerdo de lo substancial de la información.

Las funciones de la memoria que son sensibles a la edad son:

1. Nuevo aprendizaje (el aprendizaje ocurre de una forma mucho más lenta para muchos tipos de información).
2. Profundidad del procesamiento (el anciano tiende a procesar la información a un nivel más superficial).
3. Recuerdo de detalles de información y/o eventos nuevos. (Presentan dificultad para recordar los detalles de una conversación.)
4. Memoria no verbal. (No recordar donde se guardaron algunas cosas.)

TABLA 1. Clasificación de la memoria

<i>En relación con su duración:</i>	
Memoria sensorial	Visual: de escasa duración, menos de medio segundo. Auditiva: también breve, entre uno y dos segundos de duración.
Memoria inmediata (memoria a corto plazo)	Duración de menos de un minuto, limitada a unos pocos objetos.
Memoria reciente	Su duración oscila entre unos minutos y varias semanas. Su capacidad de almacenamiento es mayor que la de la memoria inmediata.
Memoria remota o a largo plazo	Mantiene la información desde semanas hasta toda la vida
<i>En relación a sus contenidos o su utilización:</i>	
Memoria de referencia	Contiene la información reciente y remota obtenida por experiencias previa.
Memoria de trabajo	Se aplica a un proceso activo que está siendo actualizado de manera continua por la experiencia de un momento determinado.
Memoria episódica	Contiene la información relativa a sucesos acontecidos en un momento y lugar determinados
Memoria semántica	Contiene información que no varía, como por ejemplo el número de horas que tiene el día o los meses del año.
Memoria declarativa (o explícita)	Contiene los hechos del mundo y los acontecimientos personales del pasado que es necesario recuperar de manera consciente. Es relacional o asociativa: un recuerdo trae otros a la mente.
Memoria de procedimiento (o implícita)	Aprendizaje y conservación de destrezas y habilidades, como peinarse o montar en bicicleta. Estos procedimientos se automatizan y no precisan de una ejecución consciente.

Es importante saber que no toda pérdida de memoria es demencia, pero el paciente con demencia sí tiene trastornos de memoria.

Deterioro cognitivo leve

Cuando una persona tiene déficit cognitivo en dos o más de las siguientes áreas: memoria, lenguaje, cálculo, orientación y juicio, estamos ante la presencia de un Deterioro Cognitivo Leve (DCL), también llamado Trastorno Cognitivo Leve (TCL). (Especificados en el DSM IV). Además, el déficit ha de ser lo suficientemente importante como para originar incapacidad social o laboral.

Para llegar al diagnóstico se recomienda —además de las manifestaciones clínicas— el uso de pruebas neuropsicológicas. La interpretación de los resultados va a depender de factores como la edad y el nivel educativo. En general, las personas que presentan déficit cognitivo en dos o más áreas suelen obtener una puntuación inferior a 24.

Las personas con un profundo déficit de memoria pero sin otros déficit cognitivos, así como aquellos con pequeños déficit en varias áreas cognitivas pero sin deterioro funcional doméstico ni laboral, no reúnen criterios para poder ser diagnosticados con demencia; simplemente se considera que estas personas padecen deterioro cognitivo leve, que constituye un estado transicional entre el envejecimiento normal y la demencia leve.

Existen varios criterios para el diagnóstico de DCL, pero los más aceptados y utilizados son los de Petersen *et al.* (tabla 2).

TABLA 2. Criterios para el diagnóstico de deterioro cognitivo leve

- Pérdida de memoria, referida por el paciente o por un informador fiable.
- Facultad de memoria inferior en 1.5 SD [desviaciones estándar] o más por debajo de la media para su edad.
- Cognición general normal.
- Normalidad en las actividades de la vida diaria.
- Ausencia de criterios diagnósticos de demencia.

Demencia

La demencia es un síndrome, es decir, un conjunto de signos y síntomas, de etiología orgánica y origen multicausal. Este síndrome conlleva un deterioro global de las facultades intelectuales y de la personalidad, con el estado de conciencia (alerta) conservada. El carácter orgánico de la demencia viene determinado, en la mayoría de los casos, por el daño difuso o multifocal de los hemisferios cerebrales; excepcionalmente, lesiones focales (talámicas, temporales o frontales) que ocasionan un cuadro clínico de demencia.

La demencia produce un declive en el funcionamiento intelectual, así como interferencias en las actividades de la vida diaria, tales como higiene y aseo personal (bañarse, vestirse, comer, evacuación y micción). En la valoración de la pre-

sencia o ausencia de la demencia debe tenerse especial cuidado en evitar falsos positivos: como son los factores motivacionales o emocionales, tal es el caso de la depresión, la ralentización motora y la fragilidad física general.

Existen varias definiciones de uso internacional para llegar al diagnóstico de cualquier tipo de demencia. Desde 1980 se utiliza el criterio establecido por el DSM-III (Asociación de Psiquiatras Americanos) modificada en 1987 en el Manual del DSM-III-R Incluso existe una muy reciente proposición para el 1993, año en que apareció el DSM-IV (tabla 3). Existe otro código de diagnóstico internacional propiciado por la OMS, y es el CIE-10 (tabla 4), que define a la demencia con un criterio neuropsicológico más amplio que el DSM-III, e incluye la necesidad de una cierta cronicidad para esta categoría diagnóstica (6 meses).

El diagnóstico de demencia debe reunir unos criterios para poder establecerse. Los más utilizados son los del DSM-IV (cuarta edición del manual diagnóstico y estadístico de la Asociación Americana de Psiquiatría). A continuación se describen los criterios diagnósticos antes mencionados.

TABLA 3. Criterios del DSM-IV para el diagnóstico de demencia*

<p>1. Deterioro de la memoria, y alguna de las siguientes alteraciones</p> <ul style="list-style-type: none"> a. afasia b. apraxia c. agnosia d. deficiencia en funciones ejecutivas
<p>2. Las alteraciones previas tienen una intensidad suficiente como para repercutir en el desarrollo de las actividades ocupacionales y/o sociales, y representan un deterioro con respecto a la capacidad previa en esas funciones</p>
<p>3. Las alteraciones no aparecen exclusivamente durante un síndrome confusional agudo</p>
<p>4. Evidencia clínica, o por pruebas complementarias, de que no se debe a una causa orgánica o al efecto de una sustancia tóxica.</p>

*American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th edition. Washington, D.C., 1994.

TABLA 4. Criterio de demencia según el CIE-10*

1. Presencia de cada una de las siguientes premisas: a. Deterioro de memoria b. Deterioro de las capacidades intelectuales
2. Ausencia de alteración de la conciencia (alerta)
3. Deterioro en la conducta social, control emocional o motivación
Duración de la sintomatología por lo menos de seis meses. (Esto es para evitar la confusión con estados reversibles con idéntico trastorno conductual, tal como hematoma subdural, hidrocefalia de presión normal y trauma cerebral focal o difuso.)

*World Health Organization. The CIE-10 Classification of mental and behavioural disorders. World Health Organization, Geneva 1992.

Neuropsicología

La neuropsicología es una nueva rama del conocimiento científico y de la praxis clínica que surgió de la neurología clásica y que se ha desarrollado con el aporte de las neurociencias y de la psicología contemporáneas. Su objetivo esencial es estudiar las relaciones existentes entre la actividad cerebral y las funciones psicológicas superiores (gnosias, praxias, lenguaje, memoria, etcétera). Como aborda las funciones corticales superiores humanas, una de sus principales fuentes de conocimiento proviene del estudio minucioso de la desorganización de esas funciones complejas cuando el cerebro es afectado por lesiones orgánicas de distinta etiología (traumatismos encéfalo-craneanos, accidentes cerebro vasculares, etcétera). De lo antedicho se desprende que la neuropsicología es un método interdisciplinario por excelencia, al estudiar tanto la organización cerebral como la estructura psicológica de las funciones mentales humanas. En consecuencia, la aplicación de cualquier batería de tests neuropsicológicos es el complemento indispensable de la indagación del cerebro por métodos tales como la tomografía axial computarizada, electroencefalografía, potenciales evocados, resonancia magnética nuclear, entre otros.

Evaluación neuropsicológica: deterioro cognitivo y demencia

En el caso del deterioro cognitivo leve, o deterioro cognoscitivo leve (más conocido por sus siglas en inglés, MCI, por Mild Cognitive Impairment), se recomienda el uso de tests neuropsicológicos e instrumentos de tamizado para evaluación básica de la función cognitiva, como el MMSE (Mini Mental State Examination) de Folstein, para detectar y seguir la evolución del deterioro cognitivo. Puntúa como máximo un total de 30 puntos y los ítems están agrupados en cinco apartados que comprueban orientación, memoria inmediata, atención y cálculo, recuerdo diferido, y lenguaje y construcción. Es cierto que la interpretación de sus resultados depende de factores como la edad y el nivel educativo, pero en general los pacientes que presentan déficit cognitivo en dos o más áreas suelen obtener una puntuación inferior a 24.

Se considera que en los pacientes que padecen deterioro cognitivo leve, esto constituye un estado transicional entre el envejecimiento normal y la demencia leve. Estos pacientes suelen obtener en el MMSE entre 24 y 28 puntos, pero frecuentemente su puntaje menor es en el apartado relativo a la memoria. Cuando se lleva a cabo un seguimiento evolutivo longitudinal de estos pacientes, encontramos que aproximadamente 15% de ellos atraviesa cada año la barrera que supone ya el paso a la demencia, generalmente de tipo Alzheimer.

En otros casos puede estar afectada otra área, como por ejemplo el lenguaje o la función ejecutiva; entonces estamos hablando de deterioro cognitivo leve de dominio único distinto de la memoria. Cuando hay más de un área afectada, hablamos de deterioro cognitivo leve de múltiples dominios.

En cualquiera de los casos, es indispensable un seguimiento longitudinal de los pacientes en el transcurso del tiempo para verificar cambios en el deterioro cognitivo.

Las escalas recomendadas para hacer el seguimiento que se establece entre el envejecimiento normal y determinar el nivel de deterioro en los diversos estadios de demencia son:

- Índice de Barthel: el IB es una medida genérica que valora el nivel de independencia del paciente con respecto a la realización de algunas actividades básicas de la vida diaria (AVD), mediante la cual se asignan diferentes puntuaciones y ponderaciones según la capacidad del sujeto examinado para llevar a cabo estas actividades. El grado de dependencia puede ser total, grave, moderada, leve e independiente.

- Escala de depresión geriátrica de Yesavage: prueba de tamizado para la depresión la cual evalúa los parámetros: normal o depresión.
- CDR (Clinical Dementia Rating) de Hughes. Útil para conocer la gradación del síndrome demencial de la enfermedad de Alzheimer. Esta escala evalúa memoria, orientación, juicio y resolución de problemas, vida social, el hogar y las aficiones y el cuidado personal. Permite evaluar ese continuum desde el sujeto normal (CDR 0) y la demencia cuestionable (CDR 0.5) hasta la demencia leve (CDR 1), moderada (CDR 2) y severa o grave (CDR 3). En esta escala, algunos investigadores interpretan que el deterioro cognitivo leve se correspondería con un CDR 0.5, mientras que otros consideran que el CDR 0.5 englobaría también al Alzheimer incipiente.
- GDS (Global Deterioration Scale) de Reisberg. Útil para la clasificación clínica de las demencias. Clasifica a los pacientes desde un GDS 1 (normalidad), pasando por GDS 2 (sujeto normal con deterioro subjetivo de su memoria), GDS 3 (demencia leve) y GDS 4 a GDS 7 (estadios de demencia más graves). Dentro de esta escala, el deterioro cognitivo leve se correspondería a un estadio entre el GDS 2 y el GDS 3.
- Escala de Demencia de Mattis (Mattis Dementia Rating Scale). Es un instrumento breve, de mayor efectividad que el MMSE. Esta escala arroja un valor global con un máximo de 144 puntos y valores parciales para las distintas funciones cognitivas: atención, iniciación/perseveración, construcción, conceptualización y memoria. Fue diseñada para poder evaluar y cuantificar la progresión de la declinación cognitiva de los sujetos con demencia, incluso al lado de la cama del paciente. Tiene un índice de confiabilidad test-retest de 0.9716. El punto de corte es de 123; por debajo de esta cifra no queda incluido ningún sujeto con trastorno depresivo mayor.
- El ADAS (Alzheimer's disease assessment scales) o Escala de Evaluación para Enfermedad de Alzheimer es también un test breve que evalúa la disfunción cognitiva y conductual. El ADAS cognitivo incluye la evaluación de memoria (evocación libre y reconocimiento), lenguaje (denominación de objetos y de dedos, comprensión de órdenes, expresión), orientación, praxias y visuo-construcción. Es altamente efectivo para discriminar pacientes con enfermedad de Alzheimer de sujetos controles, y es considerablemente más sensible que el MMSE para las demencias leves.

- Escala de Inteligencia para adultos de Wechsler es la más utilizada para conocer el nivel intelectual premórbido del sujeto a fin de poder compararlo con su rendimiento actual. Algunas de las subpruebas del WAIS19 son particularmente útiles.

En la tabla 5 se muestra una serie de baterías útiles para la evaluación neuropsicológica de la demencia Alzheimer

TABLA 5. Baterías y test de evaluación neuropsicológica

<i>Área cognitiva</i>	<i>Test o batería</i>
Diagnóstico general	Estado mental mínimo Escala de evaluación para enf. de Alzheimer Escala de Demencia de Mattis Test de Inteligencia de Wechsler -revisado
Atención	Span de dígitos directo e inverso Span visuo-espacial directo e inverso
Distribución espacial de la atención	Test de cancelación
Memoria	
Baterías globales	Batería de memoria de Signoret Escala de Memoria de
Episódica verbal (serial)	Wechsler revisada
Episódica visual	Test de Recuerdo Selectivo
De trabajo	Figura Compleja de Rey
Semántica	Test de Adición Auditiva Serial Test de Vocabulario de Boston Vocabulario
Procedural	Fluencia verbal Torre de Toronto (modif.)
Lenguaje	Batería de evaluación de afasia Token test
Habilidades visuoespaciales	Figura Compleja de Rey Diseños con Cubos
Flexibilidad mental	Test de Wisconsin Trail Making Test Stroop Test
Razonamiento y abstracción	Test de Comprensión Test de Analogías

La neuropsicología permite el diagnóstico del deterioro cognitivo así como de los perfiles característicos. Pero para la enfermedad de Alzheimer es sólo una herramienta más que debe ser sumada a las otras necesarias, como son las neuroimágenes, el laboratorio y la irrenunciable entrevista clínica.

Referencias

- Allegri RF. Estudios complementarios para el diagnóstico de las demencias. En *Enfermedad de Alzheimer: enfoque actual*. Mangone CA, Allegri RF, Arizaga L *et al.* Argentum Editora, Buenos Aires, 1995.
- Allegri RF, Mangone CA, Rymberg S, Fernandez A, Taragano FE. Spanish version of the Boston naming Test in Buenos Aires. *The Clinical Neuropsychologist (USA)* 1997; 11, 4, 416-420.
- Buschke H, Fuld PA. Evaluating storage, retention and retrieval in disordered memory and learning. *Neurology*, 1974; 11: 1019-1025
- Coblentz JM, Mattis S, Zingesser L, *et al.* Presenile dementia: Clinical aspects and evaluation of cerebrospinal fluid dynamics. *Archives of Neurology*, 1973; 29: 299-308
- Consortium Argentino para el Estudio de la Demencia, (CAED) En *Demencia Enfoque multidisciplinario*. De Mangone CA, Allegri RF, Ollari JA, y Arizaga RL. Sagitario, Buenos Aires, 1997
- Cummings JL, Benson DF. Subcortical Dementia. *Arch Neurol* 1984; 41: 874-879.
- Dastoor D, and Mohr E. Neuropsychological assessment. In *Clinical diagnosis and management of Alzheimer's disease*. S.Gauthier. Martin Dunitz Ltd, London 1996
- De Renzi E and Vignolo L. The token Test. *Brain*, 1962; 85, 665-678.
- DSM IV. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Edition of the American Psychiatric Association, 1994.
- Flicker C, Ferris SH, Reisberg B. Mild Cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* 1991; 41: 867-872.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. «Mini-mental state» A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*, 1975; 12: 189-198
- Grant DA, Berg EA. *The Wisconsin Card Sort Test random Layout*. Wells Printing Co, Inc, Madison, Wisconsin, 1980
- Grupo de Neuropsicología de la Sociedad Neurológica Argentina. El Mini Mental State en la Argentina: Instrucciones para su administración. *Rev Neurol Arg*, 1999; 24(1): 31-35

- Hughes CP, Berg L, Danziger WL *et al.* A new clinical scale for staging of dementia. *B J Psychiatry*, 1982; 140: 566-572.
- Kaplan E, Goodglass H, Weintraub S. Test de Vocabulariade Boston. In: La Evaluación de la Afasia. Goodglass H y Kaplan E, Panamericana Ed, 1986.
- Lezak M. *Neuropsychologic Assessment*. 2nd ed. New York. Oxford University Press, 1983
- Mangone C *et al.* Escala de Evaluación para Enfermedad de Alzheimer. (ADAS) *Rev Neurol Argentina*, 1995, 20 (2)31-41.
- Mattis S. Mental Status examination for organic mental syndrome in the elderly patient. In: Bellack L, Karasu TB, (Eds. *Geriatric Psychiatry*. New York: Grune and Strattn; 77-121, 1976
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, *et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of the Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology*,1984; 34: 939-944.
- Mesulam MM. *Principles of Behavioral Neurology*. FA Davis Company. Philadelphia, 1985.
- Orgogozo JM, Fabrigoule C and Dartigues JF. Early diagnosis of Alzheimer's disease with simple neuropsychological tests. In *Alzheimer's disease and related disorders*. Iqbal K, Swaab DF, Winblad B and Wisnieski HM ed. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, 1999.
- Reisberg B, Ferris SH, DeLeon MJ *et al.* The global deterioration scale of assessment of primary degenerative dementia. *Br J Psychiatry*, 1982: 139: 1136-1139.
- Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an indication of organic brain damage. *Percept Mot Skills* 1958; 8: 271
- Rosen GW, Mohs R, Davis JL. A new rating scale for Alzheimer's Disease. *Am J Psychiatry* 1984; 141 (11): 1356-1360
- Signoret JL, Whiteley A. Memory battery scale. *Intern Neuropsych Soc Bull*, 1979; 2-26
- Stroop JR. Studies of interference in serial verbal reaction. *Journal of Experimental Psychology*, 1935; 18: 643-662
- Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. Assessment: Neuropsychological testing of adults. *Neurology*,1996; 47: 592-599.
- Wechsler D. Test de inteligencia para adultos (WAIS) Paidós, Buenos Aires, 1988
- Wechsler D. *Wechsler Memory Scale-revised*. New York: Harcourt Brace Jovanivich Publishers, 1987.

25 El “*mini-mental state examination*”.

El efecto de la edad, género y nivel educativo en una población mexicana

*Elva Dolores Arias Merino,¹ Genaro Gabriel Ortiz,²
Neyda Ma. Mendoza Ruvalcaba,¹ Martha Judith Arias Merino,¹
Irma E. Velázquez Brizuela,³ Adriana Elizabeth Morales Sánchez⁴
y Rosa Martha Meda Lara⁵*

Resumen

El MMSE es un instrumento de cribaje de uso generalizado. Está documentado que la edad y bajo nivel educativo, entre otros factores, están asociados a una mala ejecución del MMSE. En este capítulo presentamos los valores normativos con relación a la edad, género y nivel educativo de las puntuaciones del MMSE de una población adulta mayor (AM) mexicana, con base en el estudio de Prevalencia de Demencia en Jalisco (CONACYT-9997). Se utilizó una versión en español del MMSE adaptada a la población mexicana (Arias-Merino *et al.*, 2003). Se excluyeron las personas con diagnóstico de demencia, enfermedad vascular cerebral y problemas sensoriales graves. En la distribución de las puntuaciones del MMSE se calcularon los percentiles por grupos de edad, nivel educativo y género. El estudio incluyó a 2,409 personas, de 60 a 110 años de edad, 61.1% fueron mujeres, 26.6% analfabetas. Las correlaciones entre las puntuaciones del MMSE fueron:

¹ Gerontología. Departamento de Salud Pública, CUCS, UDG.

² Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS. Guadalajara, Jalisco, México.

³ OPD. Instituto Jalisciense de Cancerología. S.S.A. Jalisco. Guadalajara, Jalisco, México.

⁴ Coordinación Carrera de Psicología, Centro Universitario del Norte, UDG.

⁵ Psicogerontología y Salud. CUCS, UDG.

edad ($r = 0.345$, $p = 0.01$), género ($r = 0.043$, $p = 0.05$) y años de escolaridad ($r = 0.536$, $p = 0.01$). Se observó que las puntuaciones del MMSE disminuyen al avanzar la edad, se elevan al aumentar el nivel educativo y los hombres presentan generalmente puntuaciones más altas que las mujeres en nivel de escolaridad bajo o nulo. Estos parámetros poblacionales son útiles en la práctica clínica como referencia normativa para deterioro cognitivo; sin embargo, para establecer demencia es necesario tomar en cuenta criterios diagnósticos.

Introducción

El Mini-Mental State Examination (MMSE) (Folstein *et al.*, 1975) fue diseñado para evaluar el estado cognitivo en pacientes geriátricos. Es el instrumento de tamizaje, cribaje o “*screening*” más utilizado tanto en estudios de investigación, observacionales y experimentales, en la práctica clínica como prueba de detección de deterioro cognitivo o posible demencia, y para el seguimiento del paciente en tratamiento (Tambaugh & McIntyre, 1992; Ishizaki *et al.*, 1998).

El MMSE consta de 11 ítems, divididos en dos secciones: la primera requiere respuestas verbales a la orientación, la memoria y la atención de las preguntas. La segunda sección requiere la lectura y la escritura y abarca la capacidad para nombrar, seguir instrucciones verbales y escritas, escribir una oración y copiar un polígono (Folstein *et al.*, 1975). Así mismo, las preguntas están divididas en siete categorías que representan diferentes dominios de la función cognitiva: orientación en el tiempo y en el espacio, registro de tres palabras, atención y cálculo, recuerdo de las tres palabras, lenguaje y construcción visual. El punto de corte más aceptado como un indicador de deterioro cognitivo es de 23 o menos, tal como lo recomiendan Folstein *et al.* (1975) en su artículo original. Posteriormente, se clasificó la severidad del deterioro en tres niveles: 0-17 severo deterioro cognitivo, 18-23 moderado y 24-30 sin deterioro cognitivo (George, Landerman, & Blazer, 1991).

La brevedad del MMSE y la facilidad de administración han generalizado su uso a nivel internacional (regularmente el tiempo de aplicación es de 5 a 10 minutos). Se ha traducido a diferentes idiomas (Klimidis & Tokgoz, 2007), en español existen varias traducciones (Ramirez *et al.*, 2006).

Diversos estudios han comprobado su fiabilidad dada la consistencia interna y test-retest, su validez para identificar correctamente las personas con y sin deterioro cognitivo (sensibilidad y especificidad), y su correlación con otros exámenes de evaluación de la función cognitiva (Tambaugh & McIntyre, 1992). Sin embargo, es conocida la influencia que tienen algunas variables demográficas y sociales tales como el nivel educativo, la edad, género, raza y etnia entre otras, que influyen en la validez del MMSE, y que específicamente nos competen por las características de la población adulta mayor mexicana.

Algunos autores refieren que el MMSE produce sesgos en los resultados cuando las personas tienen menos de 8 años de educación (Anthony *et al.*, 1982; Murden *et al.*, 1991), más aún cuando la prueba es aplicada en poblaciones con bajo nivel de educación o porcentajes altos de analfabetas (Prince, 2001; Laks *et al.*, 2007). La edad avanzada y bajos niveles de escolaridad se han asociado con pobre ejecución del MMSE (Crum *et al.*, 1993; Tognoni *et al.*, 2005; Mungas, 1996; Jones & Gallo, 2002; Ramirez *et al.*, 2006; Shadlen *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2007).

Diversos autores han estudiado la asociación entre etnicidad y ejecución cognitiva y han encontrado diferencias entre los grupos (Shadlen *et al.*, 2001, Tze-Pin *et al.*, 2007; Hyman, *et al.*, 1991, Sink, *et al.*, 2004). Asimismo, se han explorado las diferencias étnicas, de idioma (inglés y español), edad y educación en la ejecución del MMSE (Escobar *et al.*, 1986; Teresi *et al.*, 1995). Por otra parte, se ha investigado el diferencial del funcionamiento de las preguntas del MMSE en adultos mayores de habla inglesa y española, explorando los sesgos potenciales por el idioma (Marshall *et al.*, 1997; Ramírez *et al.*, 2006; Jones, 2006). Otros autores, una vez analizados los sesgos, han sugerido bajar el puntaje del punto de corte para identificar deterioro (Gurland *et al.*, 1992; Escobar *et al.*, 1986). Incluso, para medir deterioro cognitivo en hispanos de baja educación, Mungas *et al.* (1996) realizaron un ajuste estadístico (MMSAdj) para eliminar este sesgo en el MMSE.

El problema del nivel educacional bajo, y mayor edad, radica en que estas personas con los puntos de corte tradicionales son mal clasificadas al considerarlas con deterioro cognitivo (falsos positivos), lo cual influye en la especificidad de la prueba, como mencionan Ostrosky-Solis, Lopez-Arango & Ardila, (2000) en su estudio: la especificidad del MMSE fue de 50% para la detección de demencia en personas mexicanas con menos de cuatro años de escolaridad. Así mismo, Reyes de Beaman *et al.*, (2004) y Mejia, Gutierrez, Villa & Ostrosky-Solis (2004) pre-

sentan puntajes ajustados en personas con nivel de educación bajo; al contrario, las personas con altos niveles de educación son favorecidas en el puntaje y es más difícil detectar deterioro cognitivo leve, entonces la sensibilidad baja al no detectarlos (falsos negativos) (Crum *et al.*, 1993; Mejía *et al.*, 2004; Franco-Marina *et al.*, 2010).

Por lo general, el uso del MMSE tiende a tener su base en los puntos de corte, pero hay pocas tentativas para proporcionar normas basadas en estudios poblacionales. Los puntos percentilares proporcionan un acercamiento que puede ser utilizado por los clínicos para evaluar el puntaje del MMSE con relación a la edad, escolaridad, género y etnicidad. La técnica de percentiles es la más apropiada para los datos con distribuciones de frecuencias no normales, como encontramos en los puntajes del MMSE. Incluso se han publicado algunas normas para el MMSE basadas en estudios poblacionales en otros países (Crum *et al.*, 1993; Measso *et al.*, 1993; Johnson *et al.*, 1997; Ishizaki *et al.*, 1998; Manubens *et al.*, 1998; Grigoletto *et al.*, 1999; Dufouil *et al.*, 2000; Stewart *et al.*, 2002; Jones & Gallo 2006; Laks *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2007; Hudon *et al.*, 2009).

En nuestro ámbito no se cuenta con valores específicos de referencia poblacionales para el tamizaje de deterioro cognitivo en adultos mayores. Por lo que en este capítulo presentamos los datos de normalidad con relación a la edad, género y nivel educacional del puntaje del MMSE en una muestra representativa de personas de 60 y más años del estado de Jalisco, lo que permite un acercamiento importante a una mejor clasificación de la función cognitiva en adultos mayores mexicanos.

Metodología y procedimiento

Dentro del marco del Proyecto Interinstitucional de Estudio de las Demencia en Jalisco, se condujo una encuesta en personas de 60 y más años de edad (adultos mayores) ambos géneros, en el estado de Jalisco, México, del 1º de enero al 31 de diciembre de 2005 (Arias-Merino *et al.*, 2006). La población total en Jalisco en el año 2005 era de 6'814,808 de los cuales 8.9% eran adultos mayores (INEGI, 2005).

Se diseñó un estudio transversal que incluyó 2,639 adultos mayores que residían en comunidad, seleccionados a través de un muestreo multietápico, pro-

porcional y aleatorio, que incluyó la zona metropolitana de Guadalajara y seis municipios del estado de Jalisco. Se utilizaron las Áreas Geoestadísticas Básicas (AGEBs). Fueron invitadas a participar las personas de 60 y más años de edad que en el momento de la entrevista tuvieran al menos un año de residir en el estado de Jalisco y desearan participar en el estudio. Si la persona no podía dar información, se solicitó la participación a un informante (esposo, hijo o cuidador primario) para realizar la entrevista. Un total de 2,571 personas respondieron para completar la encuesta (en 68 de ellas los datos fueron insuficientes). Específicamente en este estudio se excluyeron 162 sujetos con diagnóstico de demencia, enfermedad vascular cerebral y graves problemas de visión y audición.

La encuesta incluyó: características socio-demográficas, función cognitiva (Mini-Mental State Examination, Folstein *et al.*, 1975), depresión (Geriatric Depression Scale, Yesavage *et al.*, 1983), actividades básicas de la vida diaria (Katz, Ford & Moskowitz, 1963) e instrumentales (Lawton & Brody, 1969), utilización de servicios médicos, auto-reporte de enfermedad y disfunción sensorial. Cada participante ejecutó el MMSE como parte de la encuesta que fue aplicada en su domicilio, por licenciados en psicología y por estudiantes de la maestría en gerontología de la Universidad de Guadalajara, capacitados específicamente para este propósito.

El MMSE utilizado fue una versión en español (Arias-Merino *et al.*, 2003) que presenta un cambio respecto al original: en la ejecución de la serie de sietes (secuencial substracción de 7 de 100), los participantes fueron invitados a ejecutar una serie de 3s (substracción secuencial de 3 de 30) y también a deletrear la palabra “mundo” al revés. El puntaje del MMSE fue calculado para sumar las respuestas correctas. El puntaje del MMSE tiene un rango de 0 a 30 puntos.

Para este estudio, la variable edad fue categorizada para su análisis en intervalos de 10 años: 60-69, 70-79, 80 y más; el nivel educativo por años de escolaridad completos en intervalos de: 0, 1-4, 5-8, 9 y más.

Análisis de datos

Los datos no mostraron una distribución normal. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para medir la relación entre los puntajes del MMSE y las variables de edad, género y años de escolaridad. Se utilizó un análisis de varianza

(ANOVA) no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar los efectos de la edad y nivel educativo, y la prueba de U Mann-Whitney para examinar los efectos del género, en el total de los resultados del MMSE. La muestra fue estratificada en un primer paso a través de percentiles de los puntajes del MMSE de acuerdo al grupo de edad y nivel de escolaridad. Luego, según cada intervalo de escolaridad con los grupos de edad. La ponderación de los puntos percentilares se obtuvo a través de un procedimiento univariado (SPSS-18). Se presentan los datos en percentiles (Pc5, Pc10, Pc25, Pc75, Pc90, Pc95). Los valores en decimales fueron redondeados.

Resultados

En este estudio se incluyeron 2,409 adultos mayores residentes del estado de Jalisco, de 60 a 110 años con un promedio de 71.2 ± 8.4 años de edad, 61.1% fueron mujeres. El nivel de escolaridad es baja, 26.6% de los entrevistados eran analfabetas. Se encontró correlación entre el puntaje del MMSE y edad ($r = -0.345$ $p = 0.01$), género ($r = 0.043$ $p = 0.05$) y años de escolaridad ($r = 0.536$ $p = 0.01$). Se encontró que el total del puntaje del MMSE declina conforme se avanza en edad. El puntaje del MMSE también varía con el nivel de educación pues conforme se accede a escolaridades más altas el puntaje del MMSE aumenta. Los adultos mayores que reportaron nula educación formal mostraron los puntajes más bajos. Cuando combinamos los puntajes del MMSE con cada intervalo de años de escolaridad y grupos de edad, persisten las diferencias. En los puntajes del MMSE al ser analizados por género encontramos diferencias claramente establecidas entre los hombres y mujeres analfabetas (figuras 1 y 2); y entre los de 1 a 4 años de escolaridad (figuras 3 y 4), no así en los grupos de 5 a 8 (figura 5) y 9 y más años de escolaridad (figura 6).

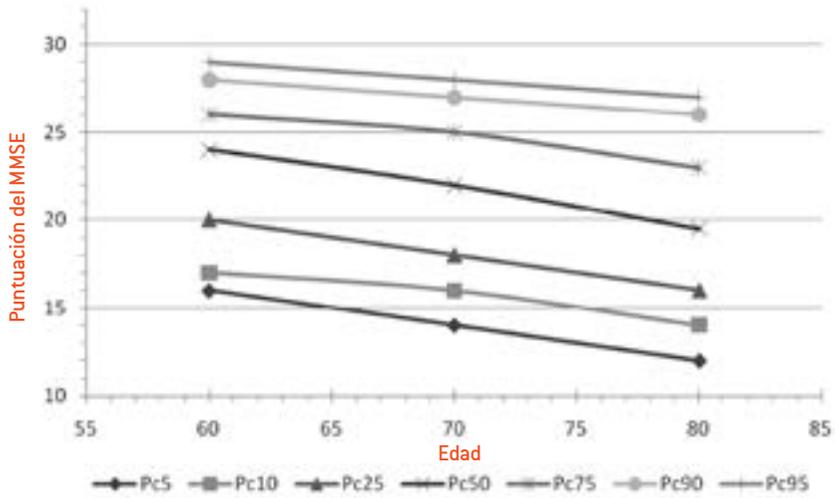


FIGURA 1. Percentiles según la edad en mujeres analfabetas.

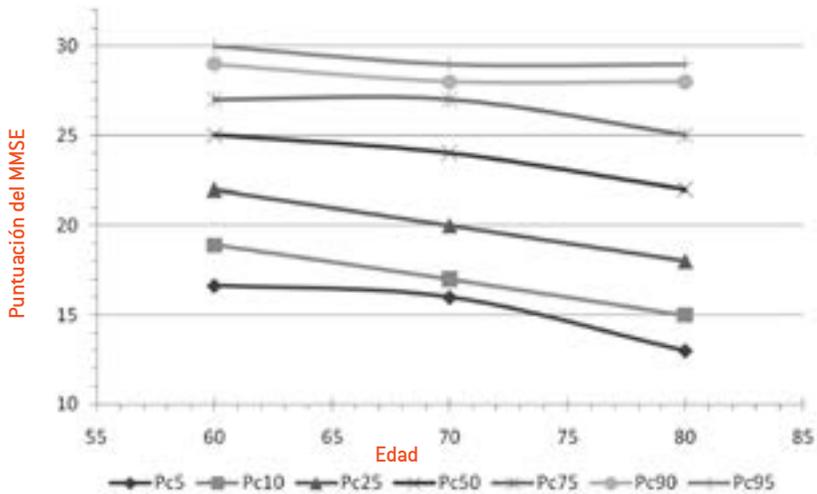


FIGURA 2. Percentiles según la edad en hombres analfabetas.

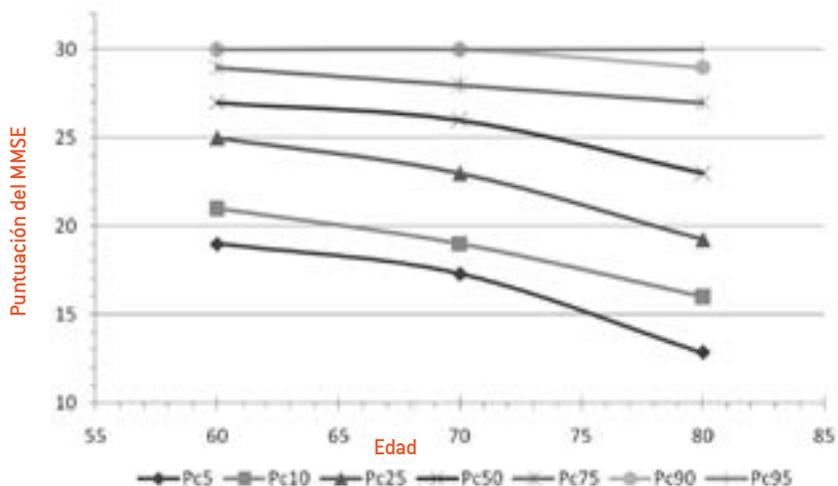


FIGURA 3. Percentiles según la edad en mujeres con 1 a 4 años de escolaridad.

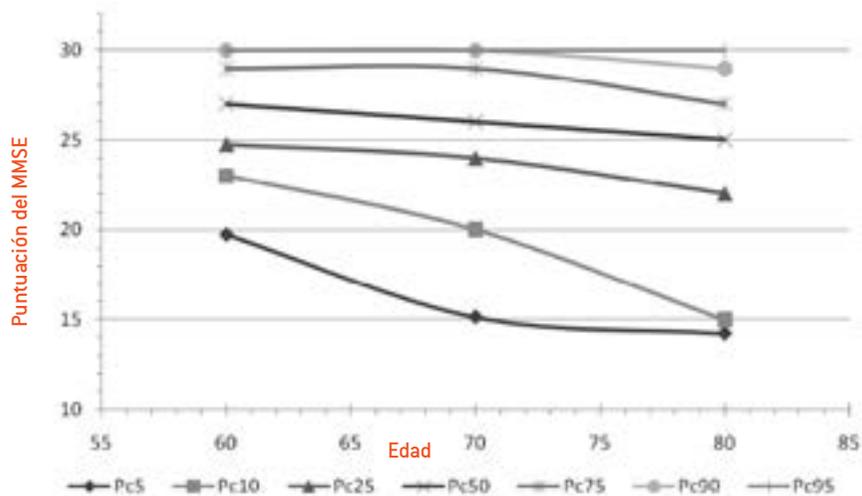


FIGURA 4. Percentiles según la edad en hombres con 1 a 4 años de escolaridad.

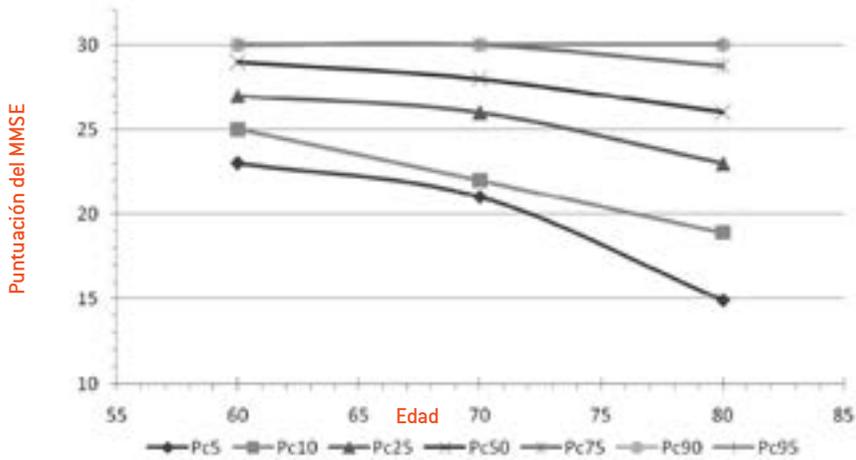


FIGURA 5. Percentiles según la edad, ambos géneros con 5 a 8 años de escolaridad.

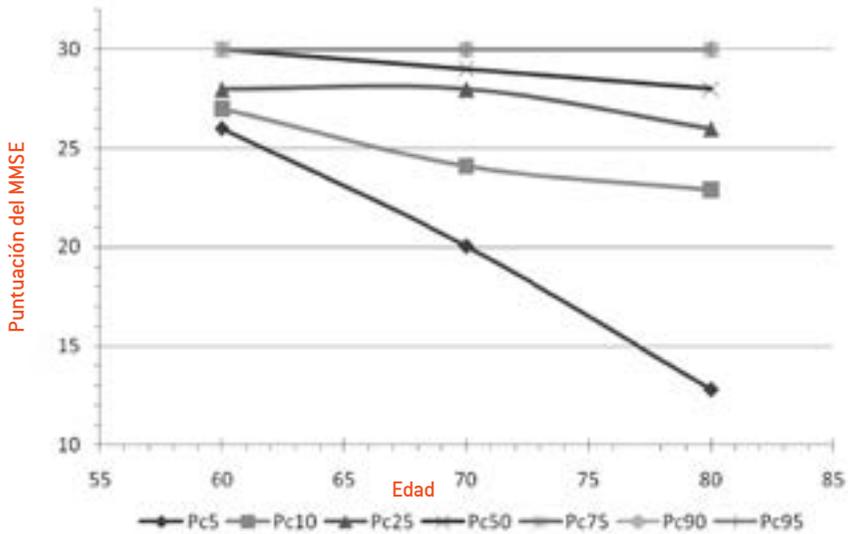


FIGURA 6. Percentiles según la edad, ambos géneros con 9 o más años de escolaridad.

TABLA 1. Percentiles del MMSE según edad, género y nivel educativo.

Analfabeta						
Grupo de Edad / Género	Pc10		Pc50		Pc90	
	H	M	H	M	H	M
60-69	19	17	25	24	29	28
70-79	17	16	24	22	28	27
80-110	15	14	22	20	28	26
Nivel educativo: 1- 4 años						
60-69	23	21	27	27	30	30
70-79	20	19	26	26	30	30
80-110	15	16	25	23	29	29
Nivel educativo: 5-8 años						
60-69	25		29		30	
70-79	22		28		30	
80-110	19		26		30	
Nivel educativo: 9 y más años						
60-69	27		30		30	
70-79	24		29		30	
80-110	23		28		30	

H= hombres M= mujeres

La tabla 1 muestra los percentiles en general. Se puede observar que en los grupos de baja escolaridad existen diferencias de género (analfabetas y de 1 a 4 años de escolaridad), a partir de 5 años de escolaridad no se observaron diferencias entre los valores percentilares según género.

Conclusiones

En este estudio se presentan los puntajes del MMSE de una muestra de 2,409 adultos mayores que viven en la comunidad del estado de Jalisco, México. Los puntajes del MMSE no tienen una distribución normal, por lo cual no es adecuado emplear promedio y desviación estándar para asumir la normalidad (Castilla-Serna & Cravioto, 1991). Se observó que la edad y el nivel de educación están

asociados con los puntajes de MMSE en población que vive en la comunidad. Esto es similar a otros estudios (Crum *et al.*, 1993; Measso *et al.*, 1993; Johnson *et al.*, 1997; Ishizaki *et al.*, 1998; Manubens *et al.*, 1998; Grigoletto *et al.*, 1999; Dufouil *et al.*, 2000; Stewart *et al.*, 2002; Jones, 2006; Laks *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2007; Hudon *et al.*, 2009).

Estos resultados reafirman que la educación es un sesgo importante cuando se designa un punto de corte para evaluar la función cognitiva, aún más cuando se aplica en poblaciones con bajo nivel de educación o porcentajes altos de analfabetas (Prince, 2001; Laks *et al.*, 2007), como lo es nuestra población. En México, nuestra población adulta mayor presenta altos niveles de analfabetismo, 30.1% no saben leer un recado y conforme avanza la edad este rezago es mayor, los de 85 y más años de edad alcanzan cifras de 44.4%; así mismo, los adultos mayores presentan el menor grado de instrucción, ya que 55.2% tienen 6 o menos años de escolaridad. Cabe resaltar además las diferencias marcadas entre hombres y mujeres, que dan cuenta de la carencia de oportunidades educativas y la exclusión social que vivieron nuestros adultos mayores cuando eran niños y jóvenes, y de ellos en mayor medida las mujeres (INEGI, 2005). El estado de Jalisco no está fuera de este contexto, sólo difiere aproximadamente en menos de 3% de las cifras nacionales.

Algunos aspectos importantes que se deben considerar sobre la ejecución del MMSE de la población adulta mayor actual es con relación a la variable género. En México, cuando este grupo de población pasó por la etapa de la niñez y juventud, existían diferentes oportunidades económicas, sociales y culturales. Por una parte, en el área urbana se podía acceder a mayores grados de escolaridad que en el área rural, donde la educación primaria en la mayoría de las comunidades llegaba hasta tercer año. Por otra parte, los hombres debían prepararse para la vida laboral; en cambio, el destino de las mujeres era ser ama de casa, por lo que la educación pasaba a un segundo término. Actualmente, como resultado del proceso de industrialización a mediados del siglo pasado y la incorporación de la mujer al trabajo, el promedio de escolaridad de la mujer ha aumentado considerablemente. Esto se verá reflejado en las futuras generaciones de adultos mayores donde probablemente se minimice la relación sesgada entre género-educación y ejecución del MMSE. Esto es similar a lo encontrado por Grigoletto *et al.* (1999), donde refieren que la normalidad en el puntaje del MMSE disminuye conforme se avanza en edad, especialmente en las mujeres con menor instrucción.

Estudios como los de Crum *et al.* (1993), Laks *et al.* (2007), Manubens *et al.* (1998), Ishizaki *et al.* (1998) se basan en la diferenciación de edad y educación en la ejecución del MMSE. La normalidad presentada en este artículo nos sugiere que edad, género y escolaridad son factores importantes por considerar en la evaluación de la ejecución del MMSE en la población anciana en nuestro medio, tal como se muestra en Hudon *et al.* (2009).

En la toma de decisiones clínicas es indispensable la determinación de los límites de lo normal y lo patológico, pues de esto depende un buen diagnóstico, tratamiento y pronóstico. La mayor contribución del presente trabajo es el establecimiento de una norma para evaluar a este grupo poblacional, lo que nos permite realizar una clasificación más adecuada de funcionalidad cognitiva y evitar evaluaciones erróneas en la práctica clínica al designar a una persona con deterioro cognitivo cuando en realidad no lo tiene. Con lo anterior se ahorran tiempo y recursos económicos, además se disminuye el desgaste emocional para el adulto mayor y sus familiares, así como el mayor costo en los servicios de salud. Así mismo, en los estudios de investigación, permite una mejor clasificación para los estudios de prevalencia y la búsqueda de asociaciones causales para deterioro cognitivo y demencia.

Referencias

- Anderson TM., Sachdev PS., Brodaty H., Trollor JM., Andrews G. Effects of sociodemographic and health variables on Mini-Mental State Exam scores in older Australians. *Am J Geriatric Psychiatry*, 2007;15:467-76.
- Anthony JC, LeResche L, Niaz U, Von Korff MR, Folstein ML, Limits of the "Mini-Mental State" as a screening test for dementia and delirium among hospital patients. *Psychol Med*, 1982;12:397-408.
- Arias Merino, E., Orozco Mares, I., Garabito Esparza, L., Fernandez Cruz, L., Arias Merino, M., Celis de la Rosa, A., *et al.* Correlates of Cognitive Impairment in Elderly Residents of Long Term Care Institutions in the Metropolitan Area of Guadalajara, Mexico. *JNHA*, 2003;7:97-101.
- Arias-Merino ED., Ortiz GG., Flores-Saiffe ME., Morales-Sánchez A., Maynard W., Velázquez-Brizuela IE., Macías-Islas MA., Arias-Merino MJ., Sánchez-González VJ., and Vázquez-Camacho G. Prevalence of Cognitive Impairment in Mexican Elderly. In W.

- B. Iqbal K, *Alzheimer's Disease: New Advances*. Bologna: MEDIMOND, 2006: 667-671
- Castilla Serna, L., & Cravioto, J. estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud. México DF: Trillas, 1991
- Crum R.M., Anthony J.C., Bassett S.S., Folstein M.F. Population-Based Norms for the Mini-Mental State Examination by Age and Educational Level. *JAMA*, 1993;269:2386-2391.
- Dufouil C, Clayton D, Brayne C, Chi L.Y., Dening T.R., Paykel E.S., O'Connor D.W., Ahmed A., McGee M.A., and Huppert F.A. Population norms for the MMSE in the very old. *Neurology*, 2000;55:1609-1613.
- Escobar JI, Burnam A, Karno M, *et al*. Use of the Mini-Mental State Examination (MMSE) in a community population of mixed ethnicity. Cultural and linguistic artifacts. *J Nerv Ment Dis*. 1986;174:607– 614.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-Mental State": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-98.
- Franco-Marina, F, García-González, J.J., Wagner-Echeagaray, F., Gallo, J., Ugalde, O., Sánchez-García, S, *et al*. The Mini-mental State Examination revisited: ceiling and floor effects after score adjustment for educational level in an aging Mexican population. *International Psychogeriatrics*, 2010;22:72-81.
- George, L., Landerman, R., % Blazer, D. Cognitive impairment. En L Robbins, % D. Regier, *Psychiatric Disorders in America*. New York: Free Press, 1991:291-327.
- Grigoletto F, Zappalà G., Anderson D., Lebowitz B., Norms for the Mini-Mental State Examination in a healthy population. *Neurology*, 1999;53:315-320.
- Gurland B.J., Wilder D.E., Cross P., Teresi J., & Barrett V.W. Screening scales for dementia: Toward reconciliation of conflicting cross-cultural finding. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 1992;7:105-113.
- Hudon, C., Potvin, O., Turcotte, M.C., D'Ánjou, C., Dubé, M., Prévile, M., *et al*. Normalisation du Mini-Mental State Examination (MMSE) chez les Québécois francophones ages de 65 ans et plus et resident dans la communauté. *Canadian Journal on Aging*, 2009;28:347-357.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Los adultos mayores en México. Perfil sociodemográfico al inicio del siglo XXI. México: INEGI, 2005
- Ishizaki J., Meguro K., Ambo H., Shimada M., Yamaguchi S., Hayasaka C., Komatsu H., Sekita Y., and Yamadori A. A normative, community-base study of Mini-Mental State in elderly adults: the effect of age and educational level. *J Gerontol Psychol Sci*, 1998;53B:P359-P363.

- Johnson CC, Rybicki B.A, Brown G., D'Hondt, Herpolsheimer B., Roth D., and Jackson C.E. Cognitive Impairment in the Amish: a Four Country Survey. *International Journal of Epidemiology*, 1997;26:387-394.
- Jones R.N. and Gallo J.J. Education and Sex Differences in the Mini-Mental State Examination: Effects of Differential Item Functioning. *The Journal of Gerontology*, 2002;57B:P548-P558.
- Jones RN. Identification of measurement differences between English and Spanish language versions of the Mini-Mental State Examination, detecting differential item functioning using MIMIC modeling. *Med Care*, 2006;44:S124-S133.
- Katz, S., Ford, A., & Moskowitz, R. The index of ADL, a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA*, 1963;18:914-919.
- Klimidis S., and Tokgoz, A. Bibliography: Research Using the MMSE in Languages Other than English. Victorian Transcultural Psychiatry Unit & Centre for International Mental Health. Available at: <http://www.vtputi.org.au/resources/translatedinstruments/mmse/> Accessed may 17 2011.
- Laks J, Rubin-Baptista EM, Barros-Contino AL, Oliveira de Paula E, Engelhardt E, Mini-Mental State Examination norms in a community-dwelling sample of elderly with low schooling in Brazil. *Cas Saúde Pública*, 2007;23:315-319.
- Lawton MP, Brody EM. Assessment of older persons: self-monitoring and instrumental activities of daily living. *Gerontologist*, 1969;9:179-186.
- Manubens J, Martínez-Lage P, Martínez-Lage JM., Larumbe K., Muruzábal J., Martínez-González MA., Guarch C., Urrutia T., Sarrasqueta P., Lacruz F., Variation of Mini-Mental-State examination scores due to age and educational level. Normalized data in the population over 70 years of age in Pamplona. *Neurologia*, 1998;13:111-119.
- Marshall SC, Mungas D, Weldon M, *et al*. Differential item functioning in the Mini-Mental State Examination in English- and Spanish-speaking older adults. *Psychol Aging*, 1997;12:718-725.
- Measso G, Cavarzeran F, Zappalà G., *et al* The Mini-Mental State Examination: normative study of an Italian random sample. *Dev Neuropsychol*, 1993; 9:77-85.
- Mejía S., Gutiérrez L., Villa A., & Ostrosky-Solis F., Cognition, Functional Status, Education and the Diagnosis of Dementia and Mild Cognitive Impairment in Spanish-Speaking Elderly. *Applied Neuropsychology*, 2004;11;:196-203.
- Mungas D, Marshall S. C., Weldon M., Haan M., & Reed B. Age and education correction of Mini Mental State Examination for English and Spanish speaking elderly. *Neurology*, 1996;46:700-706.
- Murden R.A., McRae T.D., Kaner S., & Buckman M.E. Mini-Mental State Exam scores vary with education in Blacks and Whites. *Journal of the American Geriatric Society*. 1991;39:149-155.

- Ostrosky-Solis F, López-Arango G., & Ardila A. Sensitivity and specificity of the Mini-Mental State Examination in a Spanish-speaking population. *Applied Neuropsychology*, 2000;7:25-31.
- Prince M. Dementia in developing countries. *Int Psychogeriatric* 2001; 13:389-93.
- Ramírez M., Teresi JA., Holmes D., *et al.* Differential Item Functioning (DIF) and the Mini-Mental State Examination (MMSE): overview, sample, and issues of translation. *Med Care*. 2006;44(Suppl 3):S95–S106.
- Reyes de Beaman S., Beaman P.E., García-Peña C., Villa M.A., Heres J., Córova A., *et al.* Validation of a Modified Version of the Mini-Mental State Examination (MMSE) in Spanish. *Aging, Neuropsychology and Cognition*, 2004;1:1-11.
- Shadlen M.F., Larson E.B., Gibbons L.E., Murguía-Rice M., McCormick W.C., Bowen J., McCurry S.M, and Graves A.B. Ethnicity and Cognitive Performance among older African Americans, Japanese Americans, and Caucasians: The Role of Education. *J Am Geriatr Soc*, 2001;49:1371-1378.
- Sink K., Covinsky K., Newcomer R., & Yaffe K. Ethnic Differences in the Prevalence and Pattern of Dementia-Related Behaviors. *J Am Geriatr Soc*, 2004;52:1277-1283.
- Stewart R., Johnson J., Richards M., Brayne C., Mann A., Medical Council Cognitive Function and Ageing Study. The distribution of Mini-Mental State Examination scores in an older UK African-Caribbean population compared to MRC CFA study norms. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2002;17:745-51.
- Teresi, J.A., Golden R.R., Cross P., Gurland B., Kleinman M., & Wilder D. Item bias in cognitive screening measures: Comparisons of elderly white, Afro-American, Hispanic, and high and low education subgroups. *Journal of Clinical Epidemiology*, 1995;48:473-483.
- Tognoni G., Ceravolo R., Nucciarone B., Bianchi F., Dell'Agnello G., Ghicopulos I., Siciliano G., Murri L. From mild cognitive impairment to dementia: a prevalence study in a district of Tuscany, Italy. *Acta Neurol Scand* 2005;112:65-71.
- Tombaugh T.N., & McIntyre N.J. The Mini-Mental State Examination: A comprehensive review. *Journal of the American Geriatrics Society* 1992;40:922-935.
- Tze-Pin N., Niti M., Chiam P-Ch., Kua E-H. Ethnic and educational differences in cognitive Test performance on Mini-Mental State Examination in Am J Geriatr Psychiatry 2007;15:130–139 Asians.
- Yesavage J., Brink T., Rose T., Lum O., Huang V., Adey M., *et al.* Development and validation of a geriatric depression screening scale; A preliminary report. *Journal of Psychiatric Research*, 1983;17:37-49.

Acerca de los autores

Elva Dolores Arias Merino

elvadolores@yahoo.com

Doctora en Ciencias de de la Salud con orientación Socio-médica, por la Universidad de Guadalajara, Profesor Investigador Titular “C” y Coordinadora de la Maestría en Gerontología, adscrita al Departamento de Salud Pública, del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guadalajara. Investigador Nacional Nivel I, en Ciencias de la Conducta, Línea de investigación: Psicogeriatría, Envejecimiento. Con reconocimiento Perfil deseable PROMEP, SEP. Reconocida con la Medalla “Dra Matilde Petra Montoya” Federación Asociación Médicas Mexicanas A.C. 2011. Galardón en Salud. IV Reconocimiento de Jalisco a las Mujeres 2011, del Gobierno de Jalisco a través del Instituto Jalisciense de las Mujeres. Marzo 2011 y Premio Jalisco a la Mujer en la Medicina, Medalla Jacitanta de la Luz Curiel Ávalos. 2010 Asociación Jalisciense de Médicas, A.C. Guadalajara, Jalisco, México. Forma parte de los siguientes grupos de investigación: Grupo Interinstitucional e Interdisciplinario de Estudio de las Demencias, 10/66 Dementia Research Group, Psico-gerontología y Salud, Grupo De Investigación Evaluación Y Envejecimiento (EVEN) representado por la Universidad Autónoma de Madrid. Académicos de España, Portugal, Italia, Cuba y México y CONSORCIO CASOENAC. Cambio Socio demográfico y Envejecimiento Activo,. Contribución Científica para Políticas Públicas Previsoras. SS-COL, CONACYT-UE FONCICYT. Ha publicado 6 libros, 24 capítulos de libro y 57 artículos en revistas indexadas y de difusión científica. Ha participado en diferentes evento científicos como congresos, simposium, seminarios, talleres y radio. Actualmente participa como docente en los programas de Doctorado en Ciencias de la Salud Pública. (PNP-CONACYT), Maestría en Gerontología y Licenciaturas de Ciencias de la Salud. Ha participado como directora de tesis en Licenciatura (6), Maestría (22) y Doctorado (4).

Carme Auladell

cauladell@ub.edu

En los últimos años, nuestro grupo se ha interesado en el estudio de mecanismos de neuroprotección frente a estados neurodegenerativos como el generado por los estados epilépticos. En concreto, hemos optimizado un modelo neuroprotector basado en inyecciones de taurina (ácido 2-amino-etano-sulfónico) antes del tratamiento con ácido kaínico, agente inductor de estados epilépticos. En este modelo se observa una reducción e incluso una supresión de los efectos fenotípicos y moleculares derivados

de la acción del ácido kaínico (J. of Neuroscience Res. 2009; 87(6): 1500-1508). En la misma línea, disponemos de otro modelo neuroprotector, knock-outs de Jnk3, resistentes a la excitabilidad inducida por la acción del ácido kaínico. Con la utilización de ambos modelos, pretendemos identificar los mecanismos celulares que actúan como neuroprotectores, bien sea por la acción de la taurina o por la modulación de la vía de JNK, directamente implicada en procesos de muerte neuronal. Nuestro trabajo se centra en el análisis de la actividad transcripcional y de los niveles proteicos asociados que puedan ser claves en las respuestas excitotóxicas. Con este objetivo, estamos desarrollando diferentes técnicas, muchas de ellas complementarias, que incluyen perfiles de expresión mediante microarrays, cuantificaciones y purificaciones por HPLC, que se combinan con la utilización de taurina tritiada y de cultivos primarios conjuntamente con técnicas inmunohistoquímicas, inmunocitoquímicas y de transferencia Western blot.

Sergi Bayod Gimeno

Licenciado (2008) en Farmacia y Máster en Investigación, Desarrollo y Control de Medicamentos (2010). Actualmente disfruta de una beca de Ayudas de Personal Investigador en Formación (APIF) de la Universidad de Barcelona y está realizando su trabajo de Tesis Doctoral sobre el estudio de diferentes vías implicadas en el envejecimiento y la neurodegeneración en el modelo murino de senescencia SAMP8, y el efecto neuroprotector del tratamiento con resveratrol y del ejercicio físico voluntario, incluyendo las vías de la sirtuina 1 y de la Wnt.

Antonio Camins

camins@ub.edu

Es licenciado (1987) y doctor (1992) en Farmacia por la Universidad de Barcelona. Profesor de esta Universidad desde 1989. El primer encargo docente fue como profesor asociado en el Departamento de Farmacología y Química Terapéutica de la Facultad de farmacia. En 1995 ganó una plaza por concurso-oposición de profesor Titular en farmacología adscribiéndose al mismo departamento. Actualmente, aparte de la docencia de la Farmacología en la licenciatura de Farmacia de la Universidad de Barcelona, imparte una asignatura optativa en la misma licenciatura de Neurofarmacología. Asimismo participa en Programas de Postgrado oficiales de de “Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments (UB)”, de “Biomedicina (UB)” i de “Neurociències (interuniversitari)”. Ha impartido cursos de formación continuada en colegios profesionales de farmacéuticos desde el año 1997, y además coordina

y participa en cursos de verano de la UB (“Els Juliols”) desde el año 2000. Realizó una estancia post-doctoral en los laboratorios Novartis (Suiza, 1992-1993) y, actualmente, su actividad investigadora se ha centrado en los mecanismos moleculares de la muerte neuronal y estudios de senescencia, tanto en modelos celulares como en animales de experimentación.

Anna Maria Canudas

canudas@ub.edu

Doctora en Farmacia por la Universidad de Barcelona desde el año 2001. Actualmente está contratada por la Universidad de Barcelona como profesora Agregada (Departamento de Farmacología y Química Terapéutica). Participa en cursos de verano de la UB (“Els Juliols”) desde el año 2005. En el año 2003 realizó una estancia post-doctoral en Departamento de Farmacología y Fisiología Humana de la Universidad de la Sapienza a Roma con el Profesor Ferdinando Nicoletti. La investigación que lleva a cabo se centra en el estudio de los mecanismos intracelulares implicados en la muerte neuronal en varios modelos *in vivo* e *in vitro* de neurotoxicidad.

Juan E. Castillo

Estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM), Campus Ciudad de México. Realizó una estancia de verano en el Departamento de Investigación y Desarrollo de Probiomed, México, en donde trabajó en un proyecto de resolubilización de interferón recombinante. Obtuvo la Beca de Excelencia Académica de la División de Ciencias de la Salud del ITESM, Campus Ciudad de México en 2008. Ha impartido clases y asesorías de Matlab en la misma institución. Actualmente forma parte del grupo de investigación de la Dra. Shaday Michán del Instituto de Geriátrica en donde realiza estudios sobre los mecanismos moleculares de envejecimiento. Es coautor de la publicación Genética Molecular y Biogerontología en la Era Posgenómica: un enfoque en las sirtuinas, el cual formará parte del volumen especial “Todo lo que usted quiere saber de genética y nunca se atrevió a preguntar” de la revista con arbitraje Acta Biológica Colombiana.

Roberto Carlos Castrejón Pérez

roberto.castrejon@salud.gob.mx

Nacionalidad: mexicana. Formación académica. Profesional: Cirujano Dentista. Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México. 1996-2001. Maestría: Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud; Universidad Nacional Autónoma de México. 2006-2008. Nombramiento: Investigador en Epidemiología Geriátrica, Instituto de Geriátria. Investigación: Miembro de la International Association for Dental Research (IADR) desde 2006. Asistente y expositor de 20 congresos nacionales e internacionales. Cuenta con tres publicaciones cortas en congresos nacionales y cinco publicaciones en congresos internacionales. Publicaciones: artículos publicados con resultados de investigación en revistas arbitradas de circulación internacional : 2. Artículos publicados con resultados de investigación en revistas nacionales: 1. Capítulos de libros: 1. Revisión de artículos internacionales: 1. Experiencia docente: Bioestadística (2008 - 2011). Epidemiología bucal (2008 - 2011). Participación en congresos (autor principal): internacionales (presentación oral): 3. Internacionales (presentación en cartel): 3. Nacionales (presentación oral): 7. Nacionales (presentación cartel): 8. Participación en congresos (colaboración): Internacionales (presentación en cartel): 2. Nacionales (presentación oral): 6. Nacionales (presentación cartel): 12.

Manola Cuéllar Herrera

manolacuellar@yahoo.com.mx

Q.F.B. por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Maestra en Ciencias y Doctora en Ciencias por parte del Depto. de Farmacobiología del Cinvestav. Actualmente es Investigadora en Ciencias Médicas "C": Ha publicado 6 artículos en revistas indizadas y 5 capítulos en libros. Ha participado en varios congresos nacionales e internacionales. Su línea de investigación es el estudio de cambios en receptores en tejido cerebral de pacientes con epilepsia farmacorresistente.

Jaume del Valle

jaume.delvalle@gmail.com

Licenciado en Farmacia (2005) en la Universidad de Barcelona (UB), Máster experimental en Ciencias farmacéuticas (2006, UB), Máster en Neurociencias (2008, UB) y Doctor en Farmacia (2010, UB) es ahora post-doc en el departamento de Farmacología de la facultad de Farmacia en la Universidad de Barcelona. Ha impartido además diversas asignaturas de la licenciatura de Farmacia (UB) y del Grado de Enfermería de la Escuela Universitaria de la Cruz Roja (EUCR). Sus áreas de trabajo han incluido el campo del dolor neuropático, la barrera hematoencefálica, la esclerosis múltiple, en su estancia en la Universidad alemana de Münster, la senescencia y el estudio de los diferentes mecanismos implicados en diversas enfermedades neurodegenerativas, especialmente el Alzheimer.

Jaume Folch i López

jaume.folch@urv.cat

Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular en el Departamento de Bioquímica y Biotecnología de la Universidad *Rovira i Virgili* de Tarragona. Forma parte del grupo formado por el Dr. Francesc Sureda y por el Sr. Ignacio Pedrós, y trabajan conjuntamente en la Facultad de Medicina de la citada universidad. Actualmente también colabora con el grupo de investigación en Neurofarmacología de la Facultad de Farmacia (Universidad de Barcelona, UB), con el Departamento de Biología celular (UB) y con el grupo del Dr. Carlos Beas en Guadalajara (México). Su trabajo está dirigido al estudio de los mecanismos de muerte neuronal en modelos experimentales que reproducen procesos neurodegenerativos como el Parkinson o el Alzheimer, y se ha especializado en el estudio de la expresión genética. Más recientemente, el grupo de investigación se está dedicando a trabajar en el papel neuroprotector de la leptina en las enfermedades neurodegenerativas, constituyendo el tema de la presente comunicación.

María de Guadalupe Guerra Silla

lupina_guerra@hotmail.com

Estudios profesionales en la Escuela Mexicana de Medicina de la Universidad La Salle, obteniendo el título de Médico Cirujano con mención honorífica (1975-

80). Diplomado en Gerontología por la Universidad Iberoamericana en la ciudad de México (1992). Maestría en Bioética por la Universidad Anáhuac de la ciudad de México (2003). Profesora de Salud en el Anciano de la Licenciatura en Medicina en la Universidad Nacional Autónoma de México (1997-2004). Colaboradora voluntaria de la Clínica de Cognición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (desde 1996). Trabajo de investigación: “Validación al español del instrumento de sobrecarga del cuidador de pacientes con demencia” (2006-2009). Médico voluntario en el Dispensario “Obra Social DAR” (desde 2005). Miembro externo del Comité de Ética e Investigación del Instituto de Geriátrica (INGER) en ciudad de México (desde 2010).

Andrés Jiménez

andresjimenez@ub.edu

Doctor en Farmacia por la Universidad de Barcelona en el año 2000. Actualmente es profesor asociado de Farmacología a la Facultad de Farmacia y responsable del Servicio de Radioisótopos de la misma facultad. Ha impartido cursos de formación continuada en la Universidad de Barcelona, y además participa en cursos de verano de la UB (“Els Juliols”) desde el año 2000. Su investigación se basa en el estudio de los mecanismos de muerte neuronal después de tratamiento con neurotoxinas que reproducen enfermedades neurodegenerativas.

Fèlix Junyent Herena

felixjunyent@ub.edu

Ees licenciado (2004) y doctor (2008) en Biología por la Universidad de Barcelona. Actualmente es profesor asociado en el departamento de Bioquímica y Biotecnología de la Universidad Rovira i Virgili, e investigador post-doctoral en el departamento de Farmacología y Química Terapéutica de la Universidad de Barcelona contratado por el Centro de Investigaciones Biomédicas en Red en Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED). Durante el periodo pre-doctoral realizó sus investigaciones acerca del papel neuroprotector de la taurina en epilepsia. Como investigador post-doctoral su investigación se centra en el estudio del papel de la proteína JNK en la muerte neuronal en distintos modelos de neurodegeneración. Como docente ha impartido clases de Citología y Biología Celular en la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona; Bioquímica y Patología Molecular en la Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud de la Universidad Rovira I Virgili.

Eunice López Muñoz

astridkaryme2001@yahoo.com.mx

Médico Cirujano (Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, 1999). Un año de Especialidad en Medicina Interna (Universidad Nacional Autónoma de México-Hospital General de México, O.D. 2001). Especialista en Genética Médica (Universidad Nacional Autónoma de México-IMSS, 2005). Maestra en Ciencias Médicas (Universidad Nacional Autónoma de México-IMSS, 2007). Candidata al Doctorado en Ciencias Médicas (Universidad Nacional Autónoma de México-IMSS, 2010). Candidata al Premio Nacional de la Juventud en 1995 y 1996. Ganadora de la medalla al mérito universitario, UAM en 1999. Ganadora del Primer Lugar del Premio Héctor Márquez Monter otorgado por la Asociación Mexicana de Genética S.A de C.V a la mejor investigación en el área de genética, 2009. Profesor ayudante del Curso de Especialización en Genética Médica (2005- a la fecha). Participación en múltiples congresos nacionales e internacionales. Obtención de financiamiento para realización de diversos proyectos de investigación. Asesora metodológica y directora de diversas tesis de especialidad y maestría. Revisora, comentarista y sinodal en congresos, eventos académicos y exámenes de especialidad médica. Colaboradora en proyectos de investigación de la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Actual Jefa del Departamento de Investigación Básica del Instituto de Geriátrica desde octubre de 2010. Líneas de investigación: Expresión génica y marcadores moleculares en cáncer de mama. Expresión génica y marcadores moleculares en envejecimiento. Genética de poblaciones y Bioestadística.

Marta López Querol

Realizó su Tesis Doctoral bajo la dirección del Dr. Sureda, en la Unidad de Farmacología y Ciencias de la Salud de Reus. Durante sus estudios de doctorado, investigó la actividad de numerosos compuestos de nueva síntesis sobre receptores glutamatergicos, así como los modelos experimentales más adecuados para el *screening* de actividad neuroprotectora *in vitro*. Además, participó también en estudios de neurotoxicología y cursó estudios de Máster en Salud Mental.

Agustín Lugo Radillo

gutylugo@gmail.com

Médico Cirujano por la Universidad de Colima, México. Estudios de maestría y doctorado en Medicina Genética y Molecular en la Universidad de Sheffield, Reino Unido. Curso de Biología Molecular del Envejecimiento en el MBL, USA, con beca completa de la Ellison Medical Foundation. Actualmente en el Laboratorio de Gerontología Biomédica —el cual dirijo— realizamos investigación científica encaminada a desarrollar terapias para tratar enfermedades relacionadas con el proceso de envejecimiento. Algunas de nuestras líneas de investigación son: aterosclerosis, enfermedad de Parkinson, mecanismos de reparación de ácidos nucleicos, terapia génica y *drug screening*.

Armando Luna López

allbioexp@yahoo.com

Licenciado, Maestro y Doctor en Biología Experimental en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Ganador de la Medalla al Mérito Universitario, otorgada por la Universidad Autónoma Metropolitana. Estancia en el Medical College of Georgia. Publicaciones: 5 internacionales indexadas y 1 nacional de divulgación. Participación en congresos: 30 nacionales y 10 internacionales. Cursos de actualización en Cromatografía de líquidos de alta resolución, PCR en tiempo real, Entrenamiento y Reentrenamiento en Protección radiológica. Impartición de cursos de licenciatura y Posgrado en La Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Dirección de 2 tesis de Licenciatura y dirección de 2 servicios Sociales. Asesor de un alumno de Posgrado. Áreas de Investigación: Participación de Bcl-2 en la supervivencia celular en respuesta al estrés oxidante. Respuesta celular antioxidante. La participación de la proteostasis en el envejecimiento. Estrés oxidativo y fragilidad en adultos mayores. La hormésis en el envejecimiento.

Alfonso Martín del Campo Laurents

alfonso.martindelcampo@gmail.com

Carrera de Médico Cirujano-UNAM (1983). Servicio Social en Investigación con el Dr. Dionisio Nieto Inst. Nac. Neurol (1983). Residencia Rotatoria- Hosp. Gral. Mex (1985). Residencia en Psiquiatría- Hospt. Clinic y Provincial- Barcelona (1985-6).

Doctorado en Psiquiatría Biológica- Univ. Cambridge, Inglaterra (1987-1993). Post Doctorado y Residencia en Psiquiatría- Univ. Manchester, Inglaterra (1991-1993). Investigador Repatriado por CONACYT al Inst. Mex. Psiquiatría y Jefe del Laboratorio del Psiconeuroendocrinología (1993 a 1998). Jefe Clínica del Sueño, UNAM-1998 a 1999 (Prof. Tit. A TC). Coordinador Médico, Coordinación de Salud Mental, SSA (2000). Investigador: Servicio de Farmacología, Hospital General de México (2000-2002). Coordinador de Investigación, Servicio de Salud Mental- Hosp. Gral Méx (2002-2011). Miembro del SNI- nivel 1-(1993-2004). Actual: Investigador del Instituto de Geriatria (2011-Hasta La Fecha). Publicaciones y Presentaciones: 19 publicaciones nacionales e internacionales en revistas con comité científico. Mas de cien Presentaciones en Congresos Nacionales e Internacionales. Membreías: Miembro de la Intemational Society of Psychoneuroendocrinology. Miembro de la British Association of Psychopharmacology. Miembro de la British Neuroendocrine Group. Fellow of the Cambridge Phylosofical Society. Miembro de la Sociedad Mexicana de Psiquiatría Biológica. Miembro de la European Neuroendocrine Association. Miembro y ex-Tesorero de la Asociación Mexicana de Farmacología. Miembro de la Asociación Mexicana de Psiquiatría Miembro de la Westem Pharmacology Society.

Shaday Michán

shaday.michan@salud.gob.mx

Licenciatura en Biología por la Facultad de Ciencias, UNAM. Doctorado en Ciencias Biomédicas en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Posdoctorado de un año en el Instituto de Biotecnología, UNAM. Cinco años de posdoctorado en la Escuela de medicina de Harvard en el laboratorio del Profesor David A. Sinclair. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores. Obtuvo en dos ocasiones la medalla Gabino Barreda de la UNAM. Reconocida como “La mejor estudiante de México 1996”. Fue profesora en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM de 1995-2001. Becaria del Molecular Biology of Aging Course, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Massachusetts. Ha participado en numerosos seminarios y congresos nacionales e internacionales. Estancias de investigación en Texas A&M University, Laboratory of Experimental Gerontology, NIA, NIH; y Ottawa Health Research Institute, Canadá. Publicaciones principales en Cell, Journal of Neuroscience, PLoS One, Free Rad Biol Med y Aging. Más de 500 citas. Actualmente es investigadora en Ciencias Médicas del Instituto de Geriatria. Líneas de investigación: Biogerontología, Genética Molecular del Envejecimiento. Estudio de los mecanismos moleculares de envejecimiento,

la dinámica y la función del acetiloma celular en el envejecimiento y el papel de las sirtuinas, gerontogenes que codifican para deacetilasas dependientes de NAD⁺, en el mantenimiento de la homeostasis del acetiloma, en la regulación del envejecimiento y en el desarrollo de las enfermedades relacionadas con este proceso.

Lilia Maria Morales Chacón

lilia.morales@infomed.sld.cu

Jefe Servicio Neurofisiología Clínica. Responsable del Programa de Cirugía de Epilepsia. Centro Internacional de Restauración Neurológica (Habana. Cuba). Doctor en Medicina. Graduada de Instituto Superior de Ciencias Medicas de la Habana. Cuba .Agosto 1989. Titulo de Oro. Medico Especialista Primer Grado Fisiología Normal y Patológica. Noviembre 1994. Medico Especialista Segundo Grado Fisiología Normal y Patológica. Mayo 1999. Doctor en Ciencias Médicas 2004. Categoría Científica: Investigador Titular 2006. Categoría Docente: Profesor Titular 2007. Tesorera Sociedad de Neurociencias de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba 2009. Miembro del Ejecutivo Sociedad de Neurofisiología Clínica. Miembro at Large del Ejecutivo del CLA (Capitulo Latinoamericano de Neurofisiología Clínica) de la IFCN (Federación Internacional de Neurofisiología Clínica). Miembro del Ejecutivo Sociedad Cubana de Neurofisiología Clínica. Lider Grupo Cuba Proyecto Internacional CYTED. RED Temática 61oRT0405 Grupo de Estudio en Neurociencias iberoamericano en RED. 81 Publicaciones y 18 Premios Nacionales e Internacionales. Últimas publicaciones: Seizure induced by sub-threshold 10-Hz rTMS in a patient with multiple risk factors. *Clin. Neurophysiol.* (2010). Gomez, L., Morales L *et al.* Innovative evaluation of visual field defects in epileptic patients after standard anterior temporal lobectomy, using partial field visual evoked potentials. *Epilepsy Research*, 2010; 90: 68-74. Margarita Minou Báez-Martín, Yamila del Carmen Pérez-Téllez, Lilia María Morales-Chacón *et al.* Microscopic mild focal cortical dysplasia in temporal lobe dual pathology: An electrocorticography study. *Seizure: Eur J Epilepsy* (18) 2009,593-600. Morales Chacón L, *et al* Estrategia para la evaluación neurofuncional prequirúrgica de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal. Lilia María Morales Chacón. *MEDICC Review*. Winter 2009, Vol11, No 1, 29-35. Pathological neocortical findings in patients with medication-resistant medial temporal lobe epilepsy submitted to surgery. Estupiñán-Díaz B, Morales-Chacón LM, *et al.* . *Rev Neurol.* 2008 Feb 16-29; 46(4):203-9. Volumetric measurement and digital electroencephalography in patients with medication-resistant medial temporal lobe epi-

lepsy submitted to surgery. Trápaga-Quincoses O, Morales-Chacon LM. Rev Neurol. 2008 Jan 16-31;46(2):77-83.

Delia Magdalena Namihira Guerrero

namihira@hotmail.com

Bióloga de la Facultad de Ciencias UNAM, MSc en Parasitología Médica de la London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of London. MISP Maestría Investigación en Salud Pública. Medalla al Mérito Universitario en el posgrado de la UAM-Izt. Exbecaria del Consejo Británico y de JICA en Okinawa Japón. Fellowship of the Medical Research Council in St Bartholomew's Hospital. Especialidad en Epidemiología Ambiental en el Departamento de Salud Pública de la Universidad de North Carolina en Chapel Hill. Catedrática de la UAM, y de la Universidad Veracruzana. Autora de varios libros con énfasis en Metodología de la Investigación y Epidemiología, autora de 20 artículos científicos y ponentes en múltiples congresos nacionales e internacionales. Miembro fundador de la Sociedad Mexicana de Toxicología y de la Sociedad de exbecarios del Consejo Británico. Actualmente es profesora de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa y funge como Subdirectora de Investigación Biomédica del Instituto de Geriatria (INGER).

Genaro Gabriel Ortiz

genarogabriel@yahoo.com

Investigador Titular "D" MED CIBO-IMSS. Miembro del SNI Nivel III. Profesor de Cátedra Tec de Monterrey-Campus Guadalajara. 1) Médico Cirujano, Universidad de Guadalajara. Maestro en Ciencias Biomédicas (Biología Celular), Universidad de Guadalajara. Doctor en Ciencias Biomédicas, UNAM & University of Texas. Postdoctoral in Cellular and Structural Biology, University of Texas Health Science Center at San Antonio. 2) 2.1 Profesor invitado de la Universidad de Texas, Health Science Center. TX. USA. 2.2 Profesor invitado de la Universidad de Sevilla, Facultad de Medicina. Sevilla, España. 2.3 Profesor de Posgrado en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, Miembro del Comité tutorial de la maestría en Morfología y miembro del comité de diseño de este posgrado. 2.4 Profesor y Coordinador de la Materia: Biología Celular y Genética del Tec de Monterrey División Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, Campus Guadalajara. 3) Publicaciones. Se tienen 80 artículos publicados en revistas indexadas, 20 no indexadas, cinco libros (con ISBN)

y 22 capítulos en libros. 4) Tesis de posgrado dirigidas y terminadas con la obtención del grado 34; 10 de Doctorado, 22 de Maestría y 2 de Especialidad. 5) Responsable de los laboratorios de Desarrollo-Envejecimiento/ Enfermedades Neurodegenerativas y Mitocondria-Estrés Oxidativo & Patología, en la división de Neurociencias del CIBO-IMSS. 6) Miembro de la Academia Nacional de Ciencias, Miembro de la Academia de Ciencias de Nueva York, Miembro de la Sociedad Europea de glándula pineal, Miembro de la Sociedad Internacional de Neurociencias del Desarrollo, Premio Jalisco Ciencias de la Salud 2008 Área Medicina (Neurociencias), Reconocimiento Estado de Jalisco Presea Valentín Gómez Farías (Trayectoria) 2010, Premio Funsalud Salvador López Chávez (Diabetes) 1993. Tengo más de 2,500 citaciones a mis trabajos.

Daniel Ortuño Sahagún

dortuno@cucba.udg.mx

Es Investigador Titular de la Universidad de Guadalajara y miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1. Biólogo por la Universidad de Guadalajara, con Maestría en Ciencias en Biología Celular (U de G – IMSS) y Doctorado en Ciencias en Biología Molecular por la Universidad Autónoma de Madrid. Ha realizado dos posdoctorados en el Instituto Cajal de Neurociencias, en Madrid España, investigando el desarrollo del sistema nervioso de invertebrados y vertebrados. Es miembro fundador y actualmente Coordinador en el CUCBA del Doctorado en Ciencias Biomédicas de la U de G. Es profesor invitado de la Universidad de Barcelona, de la Universidad Pablo de Olavide en Sevilla y de la Universidad Complutense de Madrid. Ha impartido las materias de: Biología Celular, Biología Molecular y Biología del Desarrollo, tanto en licenciatura como en Doctorado. Ha impartido conferencias en España; Madrid, Barcelona, Sevilla y Alicante, y en Leipzig, Alemania. Ha sido Presidente del Colegio de Biólogos de Jalisco, Director del Instituto de Fisiología Celular y Jefe del Departamento de Biología Celular y Molecular del CUCBA. Ha publicado los libros: “El desarrollo de la Biología en Jalisco”, “Tópicos de actualización en neurobiología. Biología molecular del desarrollo, neurodegeneración y medicina genómica” y “Biología Molecular: Fundamentos y Aplicaciones”, publicado por McGraw-Hill. Actualmente en la Universidad de Guadalajara investiga los mecanismos moleculares de la diferenciación de células madre en el sistema nervioso central, así como los mecanismos moleculares involucrados en la neurodegeneración, además de trabajar en el desarrollo de vacunas mediante ingeniería genética.

Mercè Pallàs Lliberia

pallas@ub.edu

Licenciada (1987) y Doctora (1991) en Farmacia por la Universidad de Barcelona. Profesora del Departamento de Farmacología y Química Terapéutica de esta Universidad desde 1989. Además de impartir docencia en la licenciatura de farmacia de la Universidad de Barcelona, participa en Programas de postgrado oficiales de “Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments (UB)”, de “Biomedicina (UB)” i de “Neurociències (interuniversitari)”. Ha impartido cursos de formación continuada en colegios profesionales de farmacéuticos desde el año 1997, y además coordina y participa en cursos de verano de la UB (“Els Juliols”) desde el año 2000. Realizó una estancia post-doctoral en el Instituto Mario Negri de Italia y, actualmente, su actividad investigadora se ha centrado en modelos de muerte neuronal y de senescencia, tanto en modelos celulares como en animales de experimentación.

Mario Ulises Pérez Zepeda

ulises.perez@salud.gob.mx

Licenciado (2009) en Biología por la Universidad de Barcelona (UB). Posteriormente cursó el Máster de Neurociencias (2010). Actualmente disfruta de una beca FPI y realiza su tesis doctoral en el Departamento de Farmacología y Química Terapéutica de la Facultad de Farmacia (UB), estudiando la modulación farmacológica de SIRT1 aplicada a la prevención de enfermedades neurodegenerativas asociadas a la edad.

David Porquet

david.porquet@gmail.com

Licenciado (2009) en Biología por la Universidad de Barcelona (UB). Posteriormente cursó el Máster de Neurociencias (2010). Actualmente disfruta de una beca FPI y realiza su tesis doctoral en el Departamento de Farmacología y Química Terapéutica de la Facultad de Farmacia (UB), estudiando la modulación farmacológica de SIRT1 aplicada a la prevención de enfermedades neurodegenerativas asociadas a la edad.

Ricardo David Quiroz Baez

logosibb@yahoo.com

Licenciado en Investigación Biomédica Básica y Doctor en Ciencias por la Universidad Nacional Autónoma de México. Ha trabajado en laboratorios de investigación básica en los Institutos de Investigaciones Biomédicas y de Fisiología Celular de la UNAM. Se ha interesado en el estudio en los procesos celulares y moleculares asociados con la enfermedad de Alzheimer centrándose en el papel del estrés oxidante sobre el metabolismo de la proteína precursora del amiloide. También ha trabajado en el desarrollo de modelos de muerte neuronal en enfermedades neurodegenerativas, basándose en el uso de líneas celulares humanas. Actualmente es investigador en Ciencias Médicas del Instituto de Geriátría, Secretaría de Salud.

Luisa L. Rocha Arrieta

lrocha@cinvestav.mx

Estudió medicina en la Universidad Nacional Autónoma de México. Es Maestra en Ciencias con la especialidad en Fisiología, por parte del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Obtuvo el título de Doctora en Ciencias con la especialidad en Farmacología por parte del Depto. de Farmacología del Cinvestav. Realizó una estancia postdoctoral en la Universidad de California, Los Angeles. Ha publicado más de 60 artículos en revistas indizadas y 16 capítulo de libros. Ha dirigido 7 tesis de doctorado y 8 de maestría. Actualmente es nivel II en el Sistema Nacional de Investigadores y Profesora 3D del Cinvestav. Su línea de investigación es el estudio de neurotransmisores en modelos animales de epilepsia y tejido cerebral de pacientes con epilepsia farmacorresistente.

Argelia E. Rojas Mayorquín

argelia.rojas@gmail.com

Médico Cirujano y Doctora en Ciencias Biomédicas (Neurociencias) por la Universidad de Guadalajara, México. Miembro titular colegiado de la Asociación Médica de Jalisco (AMJ) Colegio Médico A.C. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde el 2009. Socia activa de diversas sociedades médicas y científicas nacionales e internacionales, entre las que figuran la Centenaria Sociedad Médica de Guada-

lajara Colegio Médico A.C., la Société des Neurosciences (SDN, Francia), Society for Developmental Biology (SDB), la Sociedad Mexicana de Biología del Desarrollo (SMBD) y la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas (SMCF). Se ha desempeñado como médico clínico y realizado estancias de investigación en el Instituto Cajal (Madrid, España), Universidad de Leipzig (Alemania), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM - Paris, Francia), en la Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona (España) y dos años de estancia posdoctoral en el Hospital de la Salpêtrière (Paris, Francia). Ha sido evaluadora de proyectos para universidades nacionales y asesora de tesis de licenciatura. Ha publicado 6 artículos de investigación en revistas internacionales con arbitraje. Diversos capítulos de libros (uno de ellos por la editorial McGraw-Hill), un manual de prácticas en biología del desarrollo y resúmenes de investigación de congresos nacionales e internacionales. De entre sus contribuciones se encuentra el reporte de una nueva secuencia en Gene-Bank (DQ916292 *Rattus norvegicus*, tenascin C mRNA, partial cds.) Actualmente es investigadora del INGER y sus líneas de investigación se enfocan en los mecanismos moleculares involucrados en los procesos de diferenciación de células neurales, el papel de las proteínas solubles en los procesos de neurogénesis en el cerebro de mamíferos adultos, así como los mecanismos moleculares que subyacen en los procesos de neurodegeneración y envejecimiento.

Oscar Rosas Carrasco

oscar_rosas_c@hotmail.com

Estudios profesionales como Médico-Cirujano en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México con mención honorífica. Estudios de postgrado como especialista en Medicina Interna en el hospital general de México y Geriatria por el Centro gerontológico "Arturo Mundet", ambos avalados por la facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Certificado por el Consejo Mexicano de Geriatria. Profesor titular de la materia Salud en el Anciano, en la Facultad de Medicina de la UNAM. Miembro de la Sociedad de Médicos del Hospital Ángeles Mocol. Investigador en Ciencias Médicas B. Adscrito al Instituto de Geriatria (INGER). Maestro en Ciencias Médicas por la UNAM. Actualmente tiene: tres publicaciones en revistas internacionales, siete publicaciones de artículos publicados a nivel nacional. Un capítulo de libro a nivel internacional y 12 capítulos en libros nacionales. Sus líneas de investigación son: calidad de vida en el adulto mayor, calidad de vida en demencias, factores asociados al maltrato en el adulto

mayor, sobrecarga del cuidador del paciente con demencia, polimorfismos génicos en demencias, farmacología geriátrica (calidad de la prescripción, interacciones farmacológicas, efectos adversos)

José Sánchez Corona

josancomx@yahoo.com.mx

Egresado de la Facultad de Medicina de la UNAM con especialidad en Genética Médica de la misma. Maestro y doctor en ciencias por la UDG. Es Investigador Titular D. en la división de Medicina Molecular, así como el Director del Centro de Investigación Biomédica de Occidente del IMSS. Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores en el Nivel III. Ha dirigido 13 tesis de Licenciatura, 11 de Maestría y 11 de Doctorado. Es profesor de posgrado de la UDG. Ha publicado más de 121 artículos internacionales indizados y cerca de 52 artículos nacionales y capítulos en libros. Sus trabajos han sido citados en más de 1200 ocasiones. Cuenta con más de 25 premios y distinciones entre los que destaca el Premio Afore XXI /Fundación IMSS al Mérito Médico 2008.

Francesc X. Sureda Batle

francesc.sureda@urv.cat

Es Profesor Titular de la Unidad de Farmacología de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universitat Rovira i Virgili (URV), la universidad pública de la provincia de Tarragona, España. Desarrolla su actividad docente en estudios de Medicina, en Biotecnología y en Nutrición Humana y Dietética. Además, participa en los estudios Interuniversitarios de Máster en Neurociencias, Máster en Salud Mental y Máster en Nutrición y Metabolismo. En investigación, desde sus estudios de doctorado ha profundizado en el estudio de la neurotransmisión glutamatérgica y el proceso excitotóxico y la neuroprotección. Antes de incorporarse a la URV, desarrolló su actividad tanto en la Universidad de Barcelona, como en el Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y en el IRCSS Neuromed (Italia). Ha participado en numerosos proyectos de investigación tanto nacionales como europeos, en los ámbitos de la neurodegeneración, el envejecimiento y la neurotoxicología. Su producción científica se ha difundido a través de más de 50 artículos científicos en publicaciones internacionales. Además, ha participado en diferentes textos docentes

y de referencia en farmacología y es revisor de varias revistas científicas periódicas, así como miembro evaluador para diferentes agencias gubernamentales.

Irma E. Velázquez Brizuela

irmapnl@yahoo.com.mx

Tiene Doctorado en Ciencias de la Salud Pública, Maestría en Ciencias de la Salud Pública con orientación en Gerontología, es Lic. en Psicóloga y Lic. en Enfermería egresada de la Universidad de Guadalajara, México. Perteneció al Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1. Autora de 5 Libros. Ha escrito 16 capítulos para libros y 15 artículos publicados en revistas científicas de impacto. Ha dirigido tesis de Maestría y Doctorado, 70 Cursos, talleres y conferencias impartidas, 55 participaciones en congresos. Pionera en el área de cuidadores de pacientes con demencia. Perteneció al grupo 10/66 para el estudio de las demencias. Actualmente es Investigador del Instituto Jalisciense de Cancerología. Realiza investigación Científica en dicha institución y en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente IMSS. Distinciones especiales: Certificado como ponente internacional (Brasil 2001). Actualmente: Presidenta de la Asociación Jalisciense de Alzheimer A.C.

Ester Verdaguer Cardona

everdaguer@ub.edu

Licenciada en Farmacia por la Universidad de Barcelona (UB) (1999), Máster experimental en el departamento de Farmacología y Química Terapéutica (2000), Diploma de Estudios Avanzados (DEA) en Medicamentos, Alimentación y Salud. (2002). Doctora en Farmacia por la UB (2004). Postdoc en el Rudolf Böehm Institut, Leipzig, Alemania (2004-2006), Contrato Juan de la Cierva en el Instituto de Investigaciones Biomédicas Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS) de Barcelona (2006-2008). Contrato Beatriu de Pinós en la UB, Facultad de Farmacia, Departamento de Farmacología y Química Terapéutica. Participa en la docencia de Farmacología, neurofarmacología y Farmacología y Toxicología prácticas, Máster de neurociencias de la UB, curso internacional del DIMI (Diagnostic Molecular Imaging), curso de verano els Juliols. Actualmente profesora lectora en la Facultad de Biología de la UB impartiendo las clases de Elementos de Anatomía y Citología e Histología prácticas,

su actividad investigadora se ha centrado en modelos de muerte neuronal in vitro de enfermedades neurodegenerativas e isquemia cerebral.

Talia Wegman Ostrosky

taliaw@gmail.com

Egresada de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en el programa de excelencia Núcleos Universitarios de Calidad Educativa (NUCE). Actualmente se encuentra cursando el Doctorado en Ciencias en la Universidad de Guadalajara y es residente de Genética Humana en el Centro de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS. Cursó el diplomado en Educación en Salud en el Centro de Investigación Educativa y Formación Docente del IMSS. Cuenta con 3 publicaciones internacionales, 2 publicaciones nacionales, un capítulo de libro y 81 citas a sus trabajos. Ha dirigido 2 tesis de especialidad.

Tópicos de actualización en neurobiología
Envejecimiento y Neurodegeneración

se terminó de imprimir en junio de 2011
en los talleres de Ediciones de la Noche
Madero 687, col. Centro
Guadalajara, Jalisco
El tiraje fue de 500 ejemplares