

**FRONTERAS EN LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

FRONTERAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Coordinadores

ANTONIO G. GARCÍA
LUIS GANDÍA

Farmaindustria

Serie Científica

En colaboración con el Instituto y Fundación
Teófilo Hernando
Universidad Autónoma de Madrid

Madrid, 2002

ÍNDICE

- 7 **Introducción**
Antonio G. García
- 11 **Neurotransmisión, señales de calcio y enfermedad de Alzheimer**
Marcos Aldea, Mónica Sobrado, Jorge Fuentealba, Gloria Arroyo
y Antonio G. García
- 33 **Factores de riesgo y de protección de enfermedad de Alzheimer**
José Manuel Martínez Lage
- 69 **Las proteínas implicadas en la enfermedad de Alzheimer**
Jesús Avila de Grado
- 79 **Disección genética de la enfermedad de Alzheimer**
Fernando Valdivieso y María Jesús Bullido
- 101 **Anomalías lisosomales y filamentos en ratones transgénicos de tau con mutaciones de FTDP-17**
Filip Lim, Félix Hernández, José J. Lucas, Pilar Gómez Ramos,
M.Asunción Morán y Jesús Avila
- 111 **Ratones transgénicos condicionales de GSK-3 β como modelo animal de la enfermedad de Alzheimer**
José J. Lucas, Tobías Engel, Cristina Plata, Elena Langa,
Jesús Avila y Félix Hernández
- 119 **Dianas terapéuticas colinérgicas en la enfermedad de Alzheimer**
Luis Gandía, Jonathan Rojo, Juana M. González-Rubio,
Laura Tapia, Ricardo de Pascual y Jesús M. Hernández-Guijo
- 141 **Inhibidores clásicos y nuevos inhibidores de la acetilcolinesterasa para tratar la enfermedad de Alzheimer**
José Luis Marco

- 157 **Galantamina para la enfermedad de Alzheimer: historia, farmacocinética y farmacodinámica**
Guillermo García Ribas
- 167 **Receptores nicotínicos, neuroprotección y galantamina**
Esperanza Arias, Camilo Orozco y Manuela García López
- 187 **Galantamina, un nuevo tratamiento para la enfermedad de Alzheimer**
Rafael Blesa
- 201 **Neuroprotección y demencias: receptor nicotínico versus receptor NMDA**
Camilo Orozco, Cristóbal de los Rios y Antonio G. García
- 231 **Alteración cognitiva leve. Una revisión de la clínica y epidemiología con datos del estudio NEDICES**
Félix Bermejo Pareja
- 255 **Tratamiento del deterioro cognitivo leve**
Sonia Gallego Sandín, Jesús Novalbos y Antonio G. García
- 269 **Eficacia clínica de la citicolina en el deterioro cognitivo leve**
Francisco Abad Santos, Jesús Novalbos, Sonia Gallego, Esther Martínez Sancho y M. Angeles Gálvez Múgica
- 279 **El paciente de Alzheimer y su entorno familiar**
M. Angeles Díaz Domínguez
- 291 **Relevancia Socio-Sanitaria de la investigación farmacoterápica en la enfermedad de Alzheimer.**
Antonio Fernández

INTRODUCCIÓN

ANTONIO G. GARCÍA

Instituto Teófilo Hernando

Departamento de Farmacología y Terapéutica

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

En 1995, el recién nombrado Rector de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP), profesor José Luis García Delgado, me propuso crear y dirigir una Escuela de Farmacología, en el marco de los cursos de verano de Santander. Pensé en nuestra recién nacida Fundación “Teófilo Hernando” y se me ocurrió la idea de bautizar la Escuela con el nombre de este ilustre farmacólogo español. Así pues, la Escuela de Farmacología “Teófilo Hernando” de la UIMP nació en el verano de 1996 para honrar la figura de quien fuera pionero e introductor en España de la farmacología como materia académica y científica a principios del siglo XX. En el verano de 1996, la Escuela se estrenó con el tema “Fármacos y sus receptores”. En años sucesivos se trataron temas frontera, a saber, “Fármacos para el cerebro” (1997), “El ensayo clínico en España” (2000), y “Medicamentos biotecnológicos” (2001). En el año 2002 tratamos el tema de la “Enfermedad de Alzheimer”, cuyas ponencias recogemos en este libro de la serie científica de publicaciones de Farmaindustria, que ha apoyado esta Escuela desde su creación en 1996. También se publicaron en esta serie las ponencias del curso “El ensayo clínico en España”. Con anterioridad, esta serie acogió también las ponencias de un curso organizado por el profesor José María Segovia de Arana en los cursos de verano de La Granda (Asturias), sobre “Nuevos medicamentos”, de cuya edición nos encargamos el profesor Luis Gandía y yo, con la dirección del profesor Segovia de Arana.

Desde su creación, la Escuela se ha erigido en un foro de discusión y análisis multidisciplinario de temas farmacoterápicos de candente actualidad. En ella se dan cita profesores y alumnos de las más variadas ramas de las ciencias médicas, biólogos moleculares, químicos, bioquímicos, farmacéuticos, bioestadísticos, veterinarios y médicos. En la búsqueda, investigación y

desarrollo de un nuevo medicamento están implicados todos estos especialistas y saberes. De ahí el interés de estos cursos desde la óptica I+D+i de fármacos; en ellos se dan cita entre 50 y 100 alumnos y profesores de la Industria Farmacéutica, la Universidad, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, los Hospitales y la Administración Sanitaria.

Esta enriquecedora multidisciplinariedad es especialmente patente en el campo de las enfermedades neurodegenerativas y, particularmente, en la enfermedad de Alzheimer, un tema de creciente interés social, dado el envejecimiento de la población y el constante aumento de su incidencia y prevalencia. Por ello, a los especialistas científicos y médicos mencionados con anterioridad, debemos añadir los especialistas en cuidados de los pacientes y los que se dedican al estudio de los aspectos sociales y familiares de los pacientes que sufren esta incapacitante enfermedad.

La secuencia de capítulos del libro sigue aproximadamente el programa del curso celebrado en la UIMP en agosto de 2002. La enfermedad de Alzheimer es un problema de neurotransmisión y por ello se inicia con un capítulo que versa sobre aspectos generales del tema, haciendo énfasis en los neurotransmisores y receptores que se modifican más en la EA, por ejemplo, la acetilcolina y el glutamato. También era apropiado analizar al principio los factores de riesgo y de protección en la EA (José Manuel Martínez Lage).

Jesús Ávila expuso las características de las proteínas patológicas en la EA (tau y beta amiloide), corriendo a cargo de Fernando Valdivieso el análisis de los factores genéticos asociados a la enfermedad, un tema difícil y todavía poco claro. No podían faltar los ratones transgénicos como modelos de la EA; así, Filip Lim se refirió a ratones transgénicos de tau con mutaciones de TDP-17 y José J. Lucas a los ratones transgénicos condicionales de GSK-3 β . Este es un tema también conflictivo ya que, según pude constatar en el Congreso Internacional de Alzheimer celebrado en Estocolmo en Julio de 2002, hay ya varias decenas de ratones transgénicos, producidos en otros tantos laboratorios de todo el mundo; todos reclaman ser el modelo ideal de EA pero algunos que hiperfosforilan la proteína tau, no reproducen la sintomatología de la enfermedad, y otros que expresan abundancia de proteína beta amiloide tampoco. De todas formas, para buscar dianas terapéuticas necesitamos de esto modelos, y también de líneas celulares que remeden alguna alteración patogénica de la enfermedad.

A propósito de dianas terapéuticas, Luis Gandía se refirió a las dianas colinérgicas, dejando abierto el camino para analizar los inhibidores clásicos y los nuevos inhibidores de la acetilcolinesterasa (José Luis Marco). Al inhibidor de la acetilcolinesterasa galantamina se le dedicó una sesión con cuatro ponencias. Una estuvo dedicada a su curiosa historia, su farmacocinética y

su farmacodinamia (modelos animales de aprendizaje y memoria), que expuso Guillermo García Ribas, otra al mecanismo dual de acción de la galantamina, y a su mecanismo neuroprotector, que expuso Manuela García López, y una tercera sobre la eficacia clínica de la galantamina en el Alzheimer y otras demencias (Rafael Blesa). Luego, yo hice un análisis comparativo entre la galantamina (triple efecto inhibidor de la acetilcolinesterasa, potenciación alostérica del receptor nicotínico y neuroprotección) y el nuevo medicamento memantina (antagonista no competitivo del receptor NMDA y neuroprotección). También la vía glutamatérgica comienza a mostrar importancia terapéutica con la aparición de la memantina.

También dedicamos un esfuerzo especial al tema peliagudo del deterioro cognitivo leve, tan difícil de etiquetar clínicamente; parece ser que con frecuencia, el paciente que lo sufre acaba con una enfermedad de Alzheimer (Félix Bermejo), de ahí el creciente interés que despierta. Mereció atención su tratamiento a base de programas de entrenamiento de memoria o de medicaciones todavía en fases de ensayos clínicos (nootropos, inhibidores de la acetilcolinesterasa, antioxidantes, antiinflamatorios no esteroideos, estrógenos), tema del que me ocupé yo. Por su parte, Francisco Abad se centró más en la citicolina y en el análisis de los datos clínicos disponibles para demostrar su eficacia en el tratamiento del deterioro cognitivo.

Finalmente, dado el grave problema social que constituye la creciente incidencia y prevalencia de viejos con enfermedad de Alzheimer, Julián Zabala moderó una sesión para tratar los problemas familiares y sociales que plantea la enfermedad. Entre otros, Paloma Ramos analizó el entorno familiar del paciente de Alzheimer y Antonio Fernández abordó la relevancia socio-sanitaria de la investigación farmacoterápica en esta enfermedad.

En este libro hemos recogido las ponencias tal como las redactaron y expusieron sus autores. Estos profesores del curso son reconocidos expertos internacionales que realizan trabajos punteros en la enfermedad de Alzheimer. Este alto nivel de exigencia ha sido la tónica en las cinco ediciones de la Escuela de Farmacología "Teófilo Hernando" de la UIMP. Solo me queda agradecer a Farmaindustria su apoyo generoso y decidido a esta Escuela y al libro que emana de ella. Mi colaborador, el profesor Luis Gandía, secretario de la Escuela y coeditor conmigo de este libro, y yo, esperamos que su contenido sea útil para los numerosos estudiosos de una enfermedad que, aunque descubierta hace casi un siglo por Alois Alzheimer, solo ahora comenzamos a conocer sus devastadoras consecuencias para el paciente, para sus familiares y para la sociedad; y a encontrar posibles soluciones profilácticas y terapéuticas.

CAPÍTULO 1

NEUROTRANSMISIÓN, SEÑALES DE CALCIO Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

MARCOS ALDEA, MÓNICA SOBRADO,
JORGE FUENTEALBA, GLORIA ARROYO
y ANTONIO G. GARCÍA
Instituto Teófilo Hernando
Departamento de Farmacología y Terapéutica
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Madrid

Introducción

Los cincuenta mil millones de neuronas de nuestra corteza cerebral ofrecen una cantidad astronómica de posibilidades de formación de complejas redes de comunicación. Las áreas de asociación corticales reciben información de áreas sensoriales cuya elaboración genera, seguramente, actividades tan importantes como el pensamiento abstracto, la memoria y la conciencia. También se supervisan en la corteza cerebral aquellas funciones reguladas por el sistema nervioso autónomo, integrando funciones somáticas y vegetativas, incluyendo el control de los sistemas gastrointestinal y cardiovascular.

La combinación de poderosas técnicas electrofisiológicas y de imagen con otras de biología molecular, y el uso de potentes neurofármacos y neurotoxinas altamente selectivas, ha permitido un avance espectacular en la comprensión de la química, la fisiología y la morfología del sistema nervioso, así como de las enfermedades neuropsiquiátricas. Desde que Ramón y Cajal descubriera que el cerebro no era una red continua, sino que cada neurona era un elemento individual con vida propia, que se comunicaba con otras neuronas por contacto en las zonas denominadas por Sherrington sinapsis, gran parte de los esfuerzos investigadores se han canalizado hacia la comprensión de las bases moleculares en las que se sustenta la transmisión de información a través de esas uniones interneuronales.

En este artículo nos proponemos actualizar los aspectos relacionados con los neurotransmisores monoaminérgicos y peptidérgicos y con el neuromodulador óxido nítrico. También haremos hincapié en facetas relacionadas

con la homeostasia neuronal del catión calcio (Ca^{2+}) y el proceso excitotóxico que conduce a la rápida liberación de neurotransmisores, base del lenguaje químico y eléctrico que permite al sistema nervioso controlar el funcionamiento armónico de nuestro organismo y la comunicación física, emocional e intelectual con nuestro entorno. Finalmente, tomando como fondo este esquema sináptico, definiremos las dianas que podrían servir para desarrollar nuevas medicaciones con utilidad terapéutica en la enfermedad de Alzheimer y en otras enfermedades neurodegenerativas.

Monoaminas y sus receptores

La primera monoamina que se ganó el puesto de neurotransmisor, de la mano de Otto Loewi, en 1921, fue la acetilcolina. A ella le siguió la noradrenalina y a ésta la dopamina, adrenalina, histamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina), glicina, glutamato, aspartato, GABA y otras más dudosas (por ejemplo, la octopamina, el ATP o la feniletilamina). Los criterios de Sir Henry Dale, para atribuir una acción como neurotransmisor a una determinada molécula, se cumplen para la mayoría de ellas. Así, las monoaminas se han localizado en distintos núcleos cerebrales y en tejidos periféricos invadidos por neuronas colinérgicas, adrenérgicas o purinérgicas. También se han identificado las enzimas responsables de su síntesis y degradación, así como distintos tipos de vesículas sinápticas (de núcleo denso, de núcleo claro) que almacenan los diferentes neurotransmisores, en compañía de otros posibles co-transmisores (ATP, neuropéptidos). Por otra parte, se han caracterizado y clonado transportadores específicos para noradrenalina, dopamina, 5-HT y otros neurotransmisores, que permiten la recaptación rápida de las monoaminas bien en las terminaciones nerviosas presinápticas, bien en células postsinápticas, o incluso en la glía (Fig. 1). Se ha demostrado hasta la saciedad, tanto *in vitro* (sinaptosomas, rodajas de cerebro, células catecolaminérgicas como las cromafines de la suprarrenal, neuronas en cultivo) como *in vivo* (dializado intracerebroventricular de líquido cefalorraquídeo, microperfusión de núcleos cerebrales, implantación de microelectrodos de carbono y voltametría cíclica) que distintos estímulos despolarizantes (estimulación eléctrica, elevación de la concentración extracelular de K^+) desencadenan la liberación de los distintos neurotransmisores y co-transmisores por exocitosis (Fig. 2). Este mecanismo consiste en la fusión de las membranas vesicular y plasmática, y posee un requisito obligatorio, la entrada de Ca^{2+} desde la hendidura sináptica a la terminación nerviosa vía canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. Con ello se logra la brusca elevación de la concentración cito-

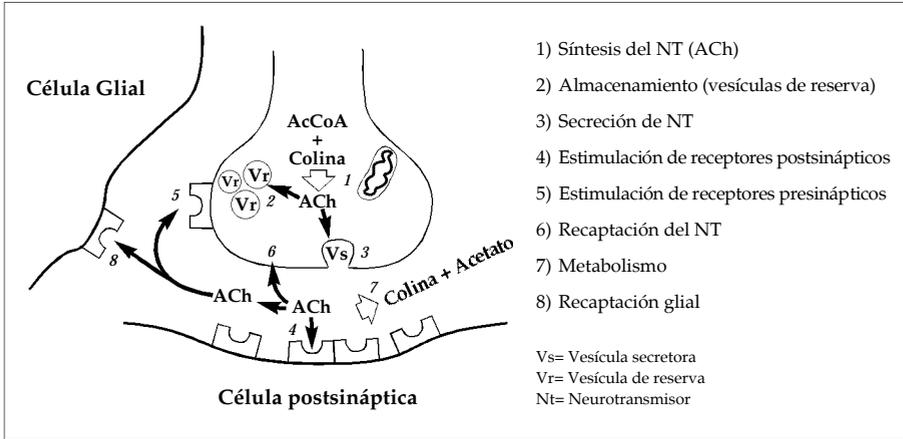


Figura 1

Esquema de una sinapsis en la que pueden apreciarse los elementos estructurales y moleculares que participan en el proceso de transmisión de información entre los elementos pre- y postsinápticos. En la terminación presináptica se representan los elementos de transporte axoplásmico de vesículas sinápticas (1), las vesículas que almacenan el neurotransmisor (2), el proceso de su liberación (3), y su recaptación posterior tanto en el elemento presináptico (4) como en la glía (5). Aparecen también representado los receptores pre- (6) y postsinápticos (7) sobre los que actúa el neurotransmisor.

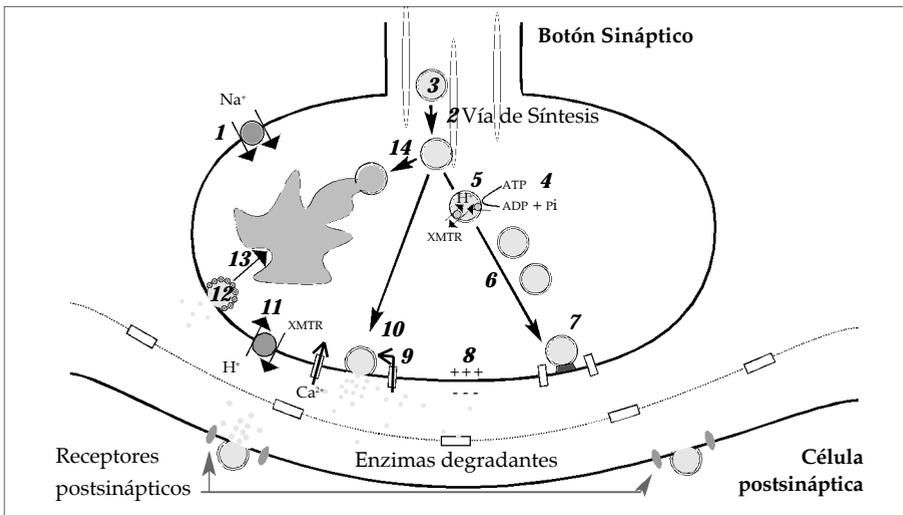


Figura 2

Esquema que representa la liberación de neurotransmisores por excitación, y su exquisita dependencia de la entrada de Ca²⁺ extracelular, al espacio intraneuronal, vía canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje.

sólida del catión en lugares inmediatamente adyacentes a los sitios activos en los que acontece el proceso secretor. Los neurotransmisores liberados en la hendidura sináptica transmiten la información de que son portadores uniéndose con afinidad elevada a receptores pre- y postsinápticos, cuya diversidad creciente constituye uno de los hechos más llamativos de la química y farmacología del cerebro de la última década. La combinación de técnicas de genética molecular, de unión de radioligandos, de "patch-clamp", unido al uso creciente de fármacos agonistas y antagonistas cada vez más selectivos, ha permitido identificar con claridad subtipos de receptores para noradrenalina (a_1 , a_2 , b_1 , b_2), acetilcolina (muscarínicos M_1 , M_2 , M_3 , M_4 , M_5 ; nicotínicos neuronales y neuromusculares), dopamina (D_1 , D_2 , D_3 , D_4 , D_5), GABA ($GABA_A$, $GABA_B$), glutamato (N-metil-D-aspartato o NMDA, Kainato) o serotonina. Para este último neurotransmisor se habían clonado a finales de 1994 hasta 16 tipos diferentes de receptores. La mayoría de ellos (familias 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇) pertenecen a la macrofamilia de receptores acoplados a proteínas G; el receptor 5-HT₃ es el único subtipo que se encuentra asociado a un canal iónico (Peroutka, 1995).

Neuropéptidos y sus receptores

Tras la euforia que siguió al descubrimiento en los años 70 de las encefalinas, hoy ya son 50 los neuropéptidos candidatos para servir de neurotransmisores o neuromoduladores (Iversen, 1995). En realidad, esta diversidad se produce por el hecho de la existencia de familias de péptidos, por ejemplo, el caso de encefalinas, endorfinas y dinorfinas (familia de opiáceos), del péptido intestinal vasoactivo (VIP; familia de las secretinas), o de la sustancia P (familia de las neuroquininas).

El descubrimiento de nuevos péptidos condujo al de los receptores que los reconocen. Por ejemplo, los opiáceos reconocen los receptores μ , δ y κ , la sustancia P y otras neuroquininas los NK₁, NK₂ y NK₃. La genética molecular llevó a la confirmación de esta heterogeneidad receptorial, establecida previamente siguiendo criterios farmacológicos. Es más, pronto se constató que la diversidad receptorial era impresionante; como prueba de ello basta reseñar la identificación de hasta cinco subtipos de receptores para la somatostatina. En los últimos años se han clonado y secuenciado al menos una veintena de genes que expresan receptores para distintos neuropéptidos.

Un aspecto interesante de los neuropéptidos es que conviven con frecuencia con neurotransmisores monoaminérgicos (Hökfelt y col., 1980). También se ha demostrado la coexistencia de varios neuropéptidos entre sí; el caso

extremo lo representan ciertas neuronas entéricas en las que la acetilcolina coexiste con seis o más neuropéptidos distintos. Son clásicas ya la coexistencia en el sistema nervioso autónomo de noradrenalina y neuropéptido Y, y de acetilcolina con VIP.

Por otra parte, los sistemas peptidérgicos se han relacionado con mecanismos que controlan la respuesta al estrés, la conducta sexual, la ingesta, el dolor, el aprendizaje y la memoria (Terenius, 1992; Glue y col., 1993; Kovacs y De Wied, 1994). Desde la óptica farmacoterápica cabe destacar el descubrimiento de moléculas no peptídicas de bajo peso molecular, que se comportan como antagonistas selectivos de receptores para neuropéptidos. Tal ocurrió con moléculas que bloquean selectivamente los receptores de la familia colecistoquinina-gastrina, y otras para los receptores de neuroquininas, neurotensina, vasopresina, oxitocina, endotelina y angiotensina. El hecho de que muchas de estas moléculas atraviesen la barrera hematoencefálica las convierte en herramientas útiles para explorar las funciones de distintos neuropéptidos a nivel cerebral. Sin embargo, los resultados obtenidos no son alentadores. Por ejemplo, el antagonista opiáceo naloxona posee escasos efectos en animales o en el hombre sano. Tampoco se observan efectos claros de los antagonistas de neuroquininas o colecistoquinina cuando se administran a animales de laboratorio aunque, obviamente, bloquean las respuestas producidas por los neuropéptidos agonistas. Así, los antagonistas de receptores para colecistoquinina bloquean los efectos sobre saciedad de la colecistoquinina y el cuadro de pánico que inducen en el hombre la inyección de colecistoquinina o pentagastrina. Por otra parte, los antagonistas de receptores para neuroquininas bloquean la salivación inducida por la sustancia P o la hipermotilidad producida por la administración central de neuroquininas. Quizás los mecanismos de control por neuropéptidos poseen un tono basal bajo, y solo se activen en situaciones especiales. Los laboratorios farmacéuticos continúan buscando aplicaciones terapéuticas para algunos de los antagonistas y agonistas de receptores neuropeptídicos.

Aún quedan muchas incógnitas por despejar en este campo. Por ejemplo ¿cuántos neuropéptidos y cuántos receptores quedan por descubrir? ¿Cuál es el papel fisiológico de cada uno de ellos? ¿Cuál su mecanismo de acción?. En el caso de la sustancia P, todavía está por definir si actúa como un neurotransmisor o más bien como un neuromodulador a nivel de neuronas sensoriales primarias en la médula espinal. Lo que sí se sabe es que todos los receptores para neuropéptidos descritos hasta el momento son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Ello sugiere que los neuropéptidos no activan o inhiben, directamente, la excitabilidad neuronal sino que más bien alteran la sensibilidad de las neuronas a otras aferencias; es decir, actuarían como moduladores de la transmisión sináptica.

Oxido nítrico

A raíz de un hallazgo accidental en 1978, a saber, que las preparaciones de aorta torácica de conejo, cuyo endotelio había sido dañado casualmente, perdían su respuesta relajante a la acetilcolina, Robert F. Furchgott descubrió el EDRF ("Endothelium-Derived Relaxing Factor") (Furchgott y Zawadski, 1980). Otros hallazgos adicionales le llevaron a proponer en 1986 que el EDRF es el óxido nítrico (NO), idea que se demostró por el grupo de Salvador Moncada en 1988, que descubrió la síntesis de NO por células endoteliales vasculares que utilizaban la L-arginina como sustrato de su NO-sintasa (NOS) (Palmer y col., 1988). Existen dos formas de NOS, la constitutiva (cNOS) y la inducible (iNOS). La cNOS se encuentra presente en células endoteliales, en donde se conoce como eNOS, y en el sistema nervioso central y periférico, conocida como nNOS. La enzima ha sido clonada a partir de cerebro de rata y humano, y su máxima concentración se encuentra en cerebelo, seguido del hipotálamo, estriado e hipocampo. José Rodrigo y col. (1994) han elaborado un detallado mapa sobre la localización de la enzima en cerebro de rata, que se encuentra ampliamente distribuida.

Dada su elevada lipofiliidad, el NO es un gas muy difusible que posee las propiedades de un radical libre. Esta difusibilidad le permite actuar sobre células vecinas a las que lo producen, y servir así como regulador paracrino capaz de modular distintas funciones cerebrales a través de la activación de una guanilato ciclasa soluble y de la síntesis de GMP cíclico. El NO se comporta así como un mensajero transináptico retrógrado y como una potente toxina capaz de destruir neuronas en situaciones patológicas diversas. En este sentido, el NO escapa a la ley de la polarización dinámica de Cajal, ya que la transferencia de información no se realiza unidireccionalmente en las sinapsis, sino tridimensionalmente en todas direcciones. Por ello han surgido dudas sobre su especificidad como mensajero a nivel de una sinapsis particular. De hecho, se ha calculado que la emisión de NO en un determinado punto del cerebro durante pocos segundos podría generar concentraciones relevantes del gas en un área de 100 μm ; esta esfera de influencia abarcaría alrededor de 2 millones de sinapsis (Garthwaite, 1995). Una posibilidad en favor de su especificidad es que el NO actuara en función de la actividad sináptica de un determinado núcleo cerebral. El hecho es que se dispone de análogos de L-arginina que inhiben la nNOS, de moléculas donadoras de NO y de secuestradoras de NO, cuyo uso ha permitido explorar las posibles funciones en las que puede estar implicado el NO. Se ha sabido de esta manera que el NO regula fenómenos de plasticidad sináptica como la potenciación y depresión perdurables, sinaptogénesis y desarrollo, tolerancia y dependencia a drogas,

hiperalgesia, así como la regulación de vías sensoriales y motoras. También se ha relacionado con la regulación del flujo sanguíneo cerebral, regulación neuroendocrina, aprendizaje y memoria y conducta sexual y de ingesta. Desde la óptica patológica, se piensa que la producción excesiva de NO puede ocasionar la muerte neuronal, contribuyendo así al estado de neurodegeneración observado en situaciones de isquemia cerebral. Son demasiadas funciones para un gas tan simple; pero en años venideros sabremos qué hay de cierto en toda esta variada gama de funciones que se están adjudicando al NO, prácticamente en cada tejido de nuestro organismo.

La maquinaria de la exocitosis

La liberación de neurotransmisores se lleva a cabo por el denominado proceso de exocitosis, consistente en la fusión de la membrana de la vesícula sináptica que almacena el neurotransmisor con la membrana plasmática de la terminación nerviosa presináptica (Fig. 3). Antaño se creía que éste era un proceso simple de fusión de los lípidos de ambas membranas, favorecido por el catión Ca^{2+} , que acontecía al azar. Hoy sabemos que es un proceso muy organizado y regulado, en el que participan varias proteínas y estructuras del citoesqueleto

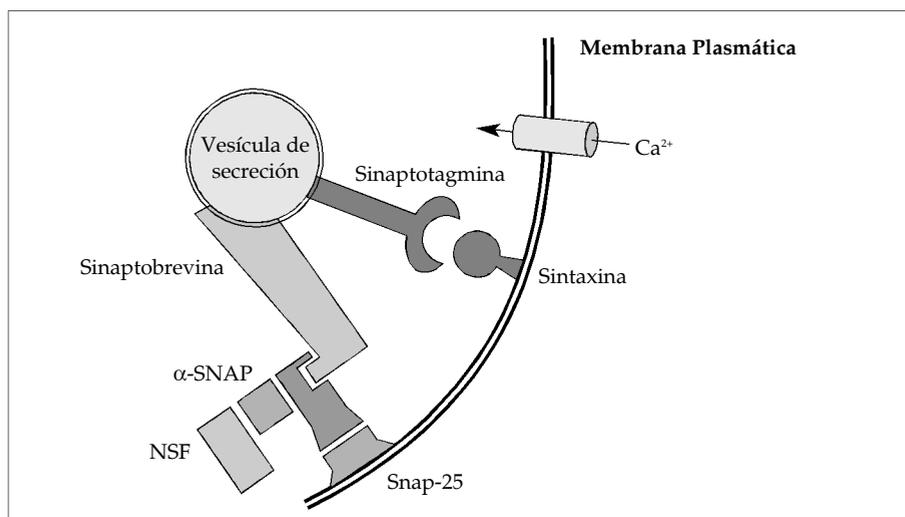


Figura 3

Esquema sobre las etapas implicadas en el atraque de vesículas sinápticas a los sitios activos de la membrana presináptica y su posterior fusión con la misma y liberación por exocitosis del neurotransmisor (ver texto para más detalles).

(filamentos de actina) para transportar las vesículas desde depósitos de reserva hasta su lugar de atraque en aquellos sitios activos del plasmalema en donde acontecerá más tarde, cuando llegue un potencial de acción, el proceso de fusión y la apertura de un poro (el poro de fusión) por el que el neurotransmisor se abrirá camino hacia el espacio sináptico (Scheller, 1995). Lo curioso es que gran parte de esta maquinaria secretora es muy similar a la maquinaria encargada del tráfico intracelular de membranas, cuya estructura y proteínas que la forman se ha esclarecido en gran parte en la levadura.

Al microscopio electrónico, las vesículas aparecen en la sinapsis organizadas en filas cerca de las zonas activas del plasmalema. Las vesículas atracadas son aquellas cuya membrana está muy cercana al plasmalema, dispuestas para participar en el proceso de exocitosis (figura 3). De experimentos realizados durante los 2 últimos años, se cree que las vesículas se dirigen a su "aceptor" específico en la membrana mediante la formación de un complejo denominado 7S, compuesto de dos proteínas vesiculares, la VAMP o sinaptobrevina (V-SNARE) y la sinaptotagmina, y de otras dos proteínas del plasmalema, SNAP-25 y syntaxina (t-SNARES). Se sabe que las proteínas VAMP, SNAP-25 y syntaxina se unen específicamente entre sí, y que este complejo puede formarse en sinapsis en reposo. La toxina tetánica, que inhibe el proceso de exocitosis, lo hace por ocasionar la proteólisis de la sinaptobrevina (VAMP). Estas proteínas interactúan a su vez con otras (por ejemplo, sinaptofisina) que sirven de moduladoras, probablemente para mantenerlas inactivas y prevenir la formación del complejo 7S y el atraque vesicular. En la iniciación de la formación del complejo 7S participan otras proteínas citosólicas como aSNAP y NSF que se unen bien a VAMP, syntaxina o SNAP-25, seguida de la hidrólisis de ATP. Una vez unidas aSNAP y NSF al complejo trimérico, se forma una partícula, 20S, más pesada. Antes de que la fusión tenga lugar, es plausible que existan otras fases intermedias en las que participen otras proteínas aún no identificadas.

Desde que se conociera la importancia del Ca^{2+} en los procesos de acoplamiento estímulo-secreción (Douglas y Rubin, 1961) se ha buscado con ahínco el receptor intracelular para dicho catión. Muchas proteínas que fijan Ca^{2+} han sido candidatas, siendo la más destacada la calmodulina. Sin embargo, todas han pasado al anonimato tras un protagonismo fugaz. La protagonista del momento es la sinaptotagmina, una proteína ubicada en la membrana de la vesícula sináptica. Al unirse a ella el Ca^{2+} , la proteína cambia su conformación, dando lugar al proceso de exocitosis. Por otra parte, se sabe que la mutación o la delección del gen para sinaptotagmina produce una drástica disminución de la liberación de neurotransmisores, lo que sugiere que esta proteína es el sensor para el Ca^{2+} que dispara la secreción.

Neurotransmisores y patología neuronal: perspectivas terapéuticas

El conocimiento progresivo, a nivel molecular, de la dinámica de los distintos tipos de sinapsis presentes en los sistemas nerviosos central y periférico, está permitiendo de un lado conocer mejor la etiología y patología de las enfermedades que las afectan y de otro, desarrollar nuevos fármacos y estrategias terapéuticas para paliarlas y curarlas. Desde que en los años 50 se descubrieran las potentes acciones sedantes de la reserpina (un fármaco que interfiere con el almacenamiento en vesículas sinápticas de varias monoaminas neurotransmisoras) y las antipsicóticas de la clorpromazina (un neuroléptico que bloquea receptores dopaminérgicos), se tiene clara la idea de que es a nivel de las sinapsis en donde se gestan la mayor parte de las patologías neurológicas y psiquiátricas. En estas sinapsis (ver Fig. 1) residen las dianas biológicas susceptibles de modificarse por fármacos con utilidad clínica para el tratamiento de las enfermedades mentales (ansiedad, depresión, esquizofrenia, manía, crisis de pánico) y neurológicas (Parkinson, Huntington, epilepsias, ictus, migraña, Alzheimer).

Lo interesante de la diversidad bioquímica de las sinapsis es la posibilidad que abre para diseñar fármacos con utilidad clínica en las más diversas patologías neurológicas y psiquiátricas. Por ejemplo, los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (fluoxetina, fluvoxamina, sertralina) han revolucionado la clínica psiquiátrica por su eficacia para tratar la depresión, las crisis de pánico, la distimia y la enfermedad obsesivo-compulsiva. Los bloqueantes selectivos de receptores D_4 tipo clozapina, y los inhibidores mixtos de receptores D_2 5-HT₂, tipo risperidona, suponen una importante aportación a la farmacoterapia de la esquizofrenia. Por su parte, los agonistas selectivos de receptores 5-HT₁ tipo sumatriptan constituyen una interesante innovación en el tratamiento de la migraña, como lo son los bloqueantes de receptores 5-HT₃ tipo ondansetron, para el tratamiento de la emesis en pacientes de cáncer sometidos a quimioterapia. Podríamos pasar lista a otras muchas novedades neuropsicofarmacológicas (los ansiolíticos no benzodiazepínicos tipo buspirona, antihistamínicos sedantes, agonistas dopaminérgicos para el Parkinson, inhibidores de la acetilcolinesterasa tipo rivastigmina, donepezilo y galantamina para el Alzheimer y, también para el Alzheimer, los moduladores alostéricos de receptores nicotínicos tipo galantamina, o el bloqueante competitivo del receptor NMDA para glutamato, memantina, también para el Alzheimer. En las tablas 1 y 2 se recogen algunas de las alteraciones de sinapsis colinérgicas y glutamatérgicas encontradas en el cerebro de pacientes de Alzheimer; esperamos que estas alteraciones puedan sugerir nuevas dianas farmacológicas y nuevos medicamentos para corregirlas.

Tabla 1

Alteraciones en el sistema colinérgico encontradas en cerebros de pacientes con EA

| | | |
|--|---|--|
| Reducción de nAChRs $\alpha 3$ | Córtex temporal | Guan et al., 2000 |
| NSD de $\alpha 3$ nAChRs | Córtex temporal | Martín-Ruiz et al., 1999 Terzano et al., 1998 Hellstrom-Lindahl et al., 1999 |
| Reducción $\alpha 4$ nAChRs | Córtex temporal Córtex frontal | Martín-Ruiz et al., 1999; Guan et al., 2000; Burghaus et al., 2000; Wevers et al., 1999 |
| NSD de $\alpha 4$ nAChRs | Córtex temporal | Hellstrom-Lindahl et al., 1999 |
| Reducción $\alpha 7$ nAChRs | Córtex temporal Giro temporal Córtex frontal | Guan et al., 2000 Burghaus et al., 2000 Wevers et al., 1999 |
| NDE* de nAChRs $\alpha 7$ | Córtex temporal Córtex temporal Hipocampo Cerebelo | Martín-Ruiz et al., 1999; Guan et al., 2000 Hellstrom-Lindahl et al., 1999 |
| Reducción de la actividad de la colina acetiltransferasa | | Perry et al., 1978; Davies, 1979; Tiraboschi et al., 2000 |
| * NDE: no diferencias estadísticas | | |

Tabla 2

Alteraciones en el sistema glutamatérgico encontradas en cerebros de pacientes con EA

| | |
|--|---|
| Reducción de receptores NMDA en hipocampo y giro hipocampal adyacente cuando se comparan sujetos neurológicamente normales con viejos | Cotman et al., 1989; Greenamyre et al., 1987; Jansen et al., 1990; Ulas et al., 1992 |
| Reducción de la expresión de receptores NMDAR1 en hipocampo y regiones corticales adyacentes específicas | Ulas and Cotman, 1997 |
| Reducción de receptores de glutamato de NMDA NR1 córtex cingulado medio, córtex temporal, superior e hipocampo | Hynd et al., 2001 |
| Reducción del transportador de glutamato glial | Lauderback et al., 2001 |
| Reducción de la actividad del transportador de glutamato glial , estrés oxidativo y Ab1-42 | Lauderback et al., 2001 |
| Reducción de la recaptación de glutamato en plaquetas de enfermos EA | Ferrarese et al., 2000 |
| Reducción de glutamato+glutamina (GLX) y N-acetil-aspartato (NAA) en la región cingulada de pacientes EA | Antuono et al., 2001 |

Entrada y redistribución de Ca^{2+} en el interior celular

Como comentamos en la Introducción, las neuronas se comunican entre sí mediante un lenguaje químico y eléctrico. El potencial de acción que invade una terminación nerviosa despolariza su membrana, lo que ocasiona la apertura de canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes, la entrada de Ca^{2+} y la elevación de la concentración citosólica del catión $[\text{Ca}^{2+}]_i$; esta elevación transitoria es la señal que dispara la secreción por exocitosis de los neurotransmisores. La eficacia y precisión de este proceso son enormes, ya que en él descansa el funcionamiento coordinado de todos los tejidos y órganos de nuestro organismo, así como la comunicación entre neuronas, y de éstas con los diversos sistemas efectores y con el medio externo. Por ello está justificado prestar atención al protagonismo que desempeña la entrada y posterior redistribución de Ca^{2+} para la regulación de los procesos de neurotransmisión, plasticidad neuronal y comunicación intercelular.

La combinación de varias metodologías (unión de radioligandos a membranas, genética molecular, "patch-clamp", trasiegos iónicos, sondas fluorescentes para medir cambios de la concentración citosólica de Ca^{2+}) ha puesto de manifiesto la existencia de una elevada heterogeneidad de los distintos subtipos de canales iónicos que participan en el control de la excitabilidad neuronal. Esto es verdad, particularmente, para los canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes.

Con la célula en reposo el calcio citosólico se mantiene muy bajo (0,1 micromolar), gracias a que existen bombas de "achique" que lo expulsan al exterior celular (calcio-ATPasa e intercambiador sodio/calcio del plasmalema) o hacia el retículo endoplásmico (calcio-ATPasa reticular, SERCA, o "Sarco-Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase"). Al activarse la célula, el calcio citosólico se eleva bruscamente hasta 100 y más veces por encima de su concentración basal (1-10 micromolar); la elevación en microdominios subplasmalemales puede alcanzar la enorme cifra de 50-100 micromolar, cerca de la boca interna del canal de calcio. Este aumento se hace a expensas de dos fuentes, extra e intracelular. En células excitables, que sufren grandes cambios de su potencial de membrana y pueden generar ráfagas de potenciales de acción (neuronas, músculo, células endocrinas), el calcio extracelular, arrastrado por un enorme gradiente electroquímico favorable, penetra en la célula por canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje, que se abren al activarse la célula y despolarizarse su plasmalema. En células no excitables (hepatocito, linfocito, plaqueta, macrófago, endotelio, glía) el calcio almacenado en el retículo endoplásmico se libera al citosol por un canal sensible a inositol trifosfato (IP_3). Cuando se activa un receptor del plasmalema, perteneciente a la

gran familia de los acoplados a proteínas G (muscarínico, serotoninérgico, adrenérgico alfa) se sintetiza IP_3 , que acciona el mecanismo de apertura del receptor IP_3 en el retículo endoplásmico.

Pero el sistema de liberación del Ca^{2+} reticular no es patrimonio exclusivo de las células inexcitables; también las células excitables poseen depósitos intracelulares de calcio que sirven funciones muy precisas. Así, en cada latido cardíaco, el potencial de acción abre un canal por el que el Ca^{2+} accede al interior celular. Pero no es este el Ca^{2+} que utiliza la fibra miocárdica para contraerse; esta pequeña cantidad de Ca^{2+} , que procede del exterior, activa un canal del retículo sarcoplásmico, lo que permite la salida hacia el citosol del calcio almacenado. Como el Ca^{2+} , la cafeína también abre este canal, y la rianodina lo bloquea; por ello, este canal de Ca^{2+} intracelular recibió el nombre de canal rianodina. También las neuronas, células endocrinas y otras muchas células excitables o inexcitables expresan canales rianodina que se abren por cafeína o por el propio Ca^{2+} , siguiendo un mecanismo que se denomina CICR (del inglés "Calcium Induced Calcium Release"). Este sistema de almacenamiento y liberación de Ca^{2+} existe también en neuronas y en células cromafines, según hemos podido demostrar utilizando ecuorinas dirigidas al retículo endoplásmico, y microscopía confocal para visualizar las ondas citosólicas de Ca^{2+} que se generan durante la activación celular (Alonso y col., 1999).

La mitocondria es la fábrica que acuña la moneda energética universal, el ATP. La formación de ATP se incrementa durante la activación celular, y el Ca^{2+} tiene mucho que decir en este proceso. La membrana interna posee un uniportador, que se pone en marcha cuando se eleva la concentración citosólica de Ca^{2+} , para bombear el catión al interior mitocondrial. La elevación del Ca^{2+} en la luz mitocondrial ocasiona la activación de deshidrogenasas y la formación de ATP. En otras palabras, el Ca^{2+} acopla la producción de ATP al incremento de la demanda de energía que se produce durante la activación celular. En la última década se ha producido un cambio sutil en ideas muy arraigadas, acerca de la forma en que la mitocondria ve el Ca^{2+} que se libera del retículo, y el calcio que entra por canales de calcio plasmalemales. Hasta 1990 se creía que la circulación del Ca^{2+} por la célula comprendía las siguientes etapas: a) entrada; b) secuestro en depósitos intracelulares (fundamentalmente en retículo); y c) salida por acción de las bombas plasmalemales. En este esquema, la mitocondria captaba Ca^{2+} sobre todo en condiciones de intensa estimulación celular, pero sólo para activar la síntesis de ATP; se excluía la posibilidad de que la mitocondria participara de forma importante en la regulación de la homeostasia del Ca^{2+} citosólico.

Los intentos por descifrar la capacidad de la mitocondria para actuar como sumidero reversible de calcio, en condiciones de estimulación fisiológica de la

célula, tropezaron con la carencia de una sonda que permitiera medir directamente los cambios de la concentración de Ca^{2+} en la luz mitocondrial. Pero en 1993, el grupo de Tullio Pozzan (Universidad de Padua, Italia) encontró la forma de ubicar la fotoproteína ecuorina en la mitocondria, utilizando un plásmido que contiene el gen que la codifica y un gen vector que la dirige específicamente a la mitocondria. Cuando ve calcio, la proteína emite luz, que puede detectarse con un fotomultiplicador. La luz es proporcional a la $[\text{Ca}^{2+}]_m$ alcanzada en la luz mitocondrial (Rizzuto y col., 1993).

Utilizando un ecuorina mitocondrial observamos que tras la despolarización de la célula cromafín con acetilcolina (el estímulo fisiológico) o K^+ , el Ca^{2+} mitocondrial se elevaba hasta concentraciones enormes, de casi milimolar, no sospechadas hasta ahora (en la literatura hay estudios con elevaciones de $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 100-500 veces menores). Lo sorprendente fue que este Ca^{2+} se liberaba de nuevo al citosol en pocos segundos. También se producían estas elevaciones de $[\text{Ca}^{2+}]_m$ al estimularse con cafeína la liberación de Ca^{2+} desde el retículo. Todo ello sugería que el canal de Ca^{2+} , el retículo endoplásmico y la mitocondria parecían estar muy próximos, formando una unidad funcional que controlaría la homeostasia del Ca^{2+} citosólico. El significado fisiológico de esta unidad funcional lo demostramos con experimentos de secreción de catecolaminas. La interrupción de la captación mitocondrial de Ca^{2+} , utilizando el protonóforo CCCP, potenció exageradamente las respuestas secretoras de catecolaminas, en células estimuladas con acetilcolina, K^+ o cafeína. Ello sugiere que la mitocondria controla la disponibilidad de Ca^{2+} en la maquinaria secretora y, por tanto, que regula la exocitosis.

Hasta ahora, la sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} se había asociado a situaciones patológicas de isquemia-reperfusión en corazón y cerebro, a fenómenos de neurotoxicidad y a enfermedades neurodegenerativas en las que la deplección de ATP, la producción en exceso de radicales libres y la liberación de factores apoptóticos conducen a la muerte celular. Sin embargo, los experimentos con ecuorina sugieren que las enormes elevaciones transitorias del Ca^{2+} mitocondrial que hemos detectado con ecuorina están lejos de lo patológico, y revisten también gran interés fisiológico, para la regulación de la entrada y distribución de Ca^{2+} en el interior celular (Montero y col., 2000; Villalobos y col., 2002). Otros experimentos más recientes nos han permitido involucrar también al intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ del plasmalema en este complejo o dominio regulador del Ca^{2+} y de la neurotransmisión.

Recientemente nos hemos servido de un novedoso y selectivo inhibidor del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ del plasmalema para reinvestigar la función de este transportador en el control de la homeostasia del Ca^{2+} y de la exocitosis, en la célula cromafín. Sobre la base de experimentos electrofisiológicos,

radioisotópicos y de neurosecreción hemos incorporado el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial a esa "unidad funcional" que describíamos en la Fig. 4. El papel del intercambiador lo explicamos de la forma siguiente. La observación fundamental que hemos hecho estriba en una aparente inhibición por el KB-R7943, de la secreción de catecolaminas, estimulada por pulsos despolarizantes de K^+ (100 mM de K^+ , 2 mM Ca^{2+}), aplicados durante 1 a 5 s a células cromafines bovinas superfundidas a 37° C; el bloqueo fue sustancialmente mayor con pulsos largos de K^+ (3 a 5 s), en comparación con los cortos (1 a 2 s) (Pintado y col., 2002).

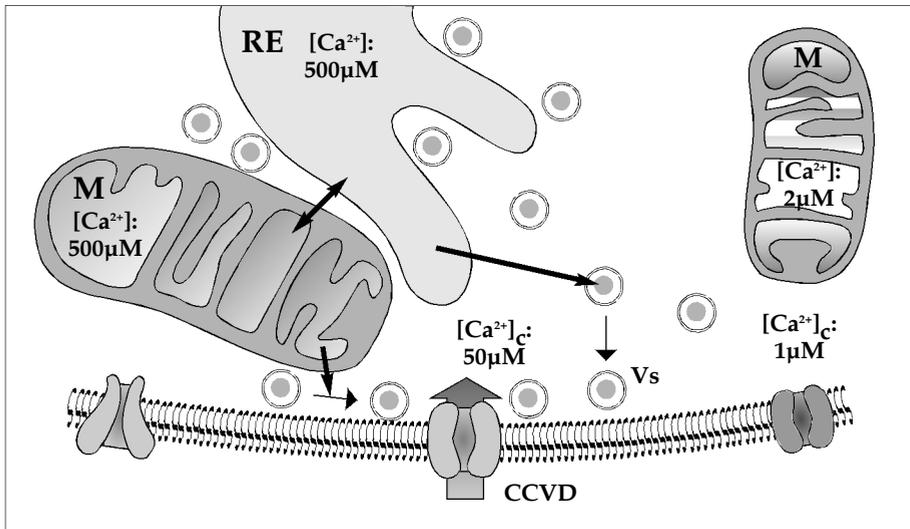


Figura 4

Esquema de la "unidad funcional" que controla la homeostasia intracelular del Ca^{2+} , formada por los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (CCVD), el retículo endoplásmico (R.E.) y la mitocondria (M).

La Fig. 5 explica la interpretación que damos a los movimientos de Ca^{2+} en una célula cromafín despolarizada con K^+ 1 a 5 s, y sus consecuencias para la exocitosis. Hemos separado dichos movimientos de Ca^{2+} en periodos cortos de despolarización (1-2 s, paneles A y C) y largos (3-5 s, paneles B y D); también hemos dividido el citosol en dos dominios de Ca^{2+} , el compartimento subplasmalemal I y el compartimento mitocondrial II. Esta separación se basa en el hecho de que el KB-R7943 bloqueó poco o nada la secreción inducida por pulsos de K^+ de 1-2 s de duración, mientras que el bloqueo fue más pronunciado con pulsos de K^+ de 3 a 5 s de duración. Ello indica que durante

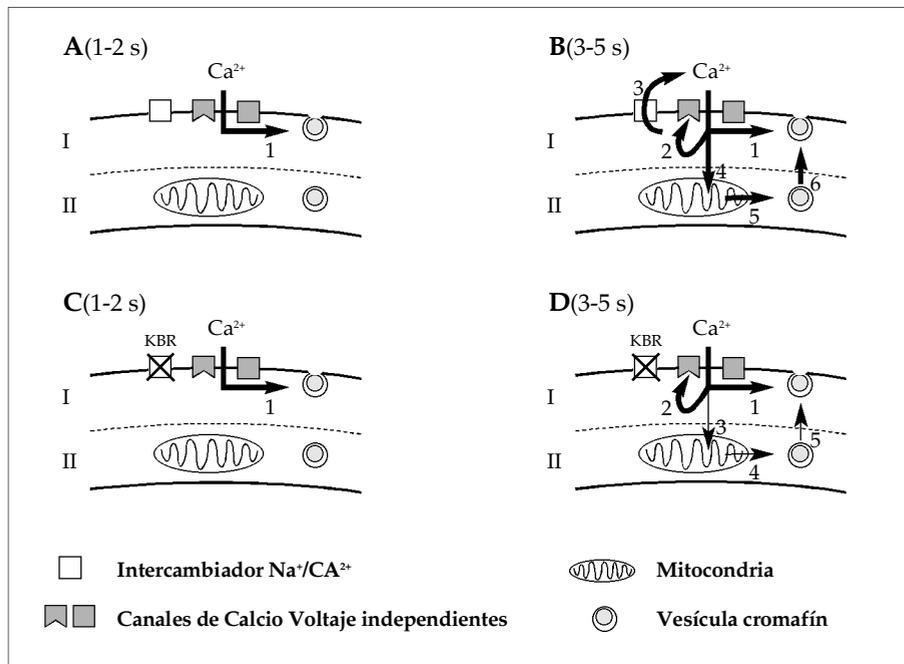


Figura 5

Esquema de trabajo que representa la interrelación de los canales de Ca^{2+} , la mitocondria y el transporte de vesículas a la membrana plasmática, junto con la contribución del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, retirando Ca^{2+} de las proximidades del canal para evitar su inactivación y así poder mantener el proceso secretor, y su bloqueo por KBR-7943. ¿Son los moduladores del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ fármacos con potencial neuroprotector?

los primeros momentos de despolarización el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ y la mitocondria participan poco en la modulación de los gradientes de Ca^{2+} que se crean nada más abrirse los canales de Ca^{2+} . En estos momentos iniciales prevalece la exocitosis rápida desde vesículas secretoras ya atracadas o muy cercanas al plasmalema, lo que se denomina la población de vesículas de liberación rápida (VLR, flecha del panel A). Así, pues, en los periodos cortos de despolarización, los cambios de $[\text{Ca}^{2+}]_c$ y la respuesta excitotóxica que les sigue quedan confinados al compartimento I subplasmalemal.

Con despolarizaciones de K^+ más prolongadas (3 a 5 s), la $[\text{Ca}^{2+}]_c$ que ve el uniportador de Ca^{2+} mitocondrial es de 10 a 50 μM (Montero y col., 2000). Ello proporciona una V_{max} para la captación de Ca^{2+} mitocondrial nada menos que de 1 a 5 mmol/l células/s (Xu y col., 1997; Villalobos y col., 2002). De esta manera, la mayor parte del Ca^{2+} que entra en la célula durante la des-

polarización con K^+ (0.4 mmol/l células/s) se acumulará en la mitocondria. Pero lo interesante es que estas vastas cantidades de Ca^{2+} no se quedan en la mitocondria, ya que hemos demostrado que se liberan a continuación en dominios más profundos del citosol, y que prolonga de esta manera las señales celulares de $[Ca^{2+}]_c$ durante un periodo de tiempo que sobrepasa el de duración del estímulo (Montero y col., 2000). Esta liberación de Ca^{2+} , desde la mitocondria al citosol, se realiza por el intercambiador Na^+/Ca^{2+} mitocondrial. La contribución de la mitocondria a la redistribución intracelular de Ca^{2+} la explicamos así (panel B, Fig. 5): (1°) al elevarse en el compartimento I, el Ca^{2+} se une a un sitio específico en la boca interna del canal de Ca^{2+} (flecha 2) produciendo la inactivación Ca^{2+} -dependiente de dicho canal (Hernández Guijo y col., 2001); (2°) sugerimos la hipótesis de que esta inactivación se enlentece debido al hecho de que, a 37° C, el intercambiador Na^+/Ca^{2+} está ubicado muy próximo al canal de Ca^{2+} ; por ello, puede aclarar con rapidez el Ca^{2+} cercano a la boca interna del canal de Ca^{2+} , manteniendo así en un nivel bajo de $[Ca^{2+}]_c$ local, cerca de la boca interna del canal de Ca^{2+} (flecha 3); (3°) por ello, el Ca^{2+} que entra por los canales de Ca^{2+} no inactivados puede sufrir un proceso de redistribución hacia el compartimento II, en donde es captado por las mitocondrias (flecha 4); (4°) a continuación, el Ca^{2+} mitocondrial se libera en zonas citosólicas alejadas del plasmalema (flecha 5), facilitando así el transporte de vesículas (flecha 6) desde un depósito de vesículas de reserva (VR) hasta el depósito subplasmalemal (VLR); de esta manera, la exocitosis puede mantenerse durante periodos más prolongados de estimulación (3-5 s).

Cuando se enlentece la actividad del intercambiador Na^+/Ca^{2+} del plasmalema con KB-R7943 (también la hemos podido enlentecer descendiendo la temperatura de 37° C a 22° C), cabe esperar que la entrada y redistribución de Ca^{2+} se afectarán de la manera siguiente. Con pulsos breves de K^+ (1-2 s; panel C, Fig. 5), la exocitosis de vesículas VLR dependerá exclusivamente de la entrada rápida de Ca^{2+} vía canales de Ca^{2+} ; el intercambiador Na^+/Ca^{2+} del plasmalema no participará en esta respuesta, según se desprende de la observación de que ni el KB-R7943 ni la baja temperatura (22° C) afectan la respuesta excitotóxica. Sin embargo, con pulsos de K^+ más prolongados y con el intercambiador bloqueado por KB-R7943 o por temperaturas bajas, la $[Ca^{2+}]_c$ se elevan más y más cerca de la boca interna de los canales de Ca^{2+} , lo que ocasionará la inactivación Ca^{2+} -dependiente de dichos canales (flecha 2, panel D). Por ello, la redistribución del Ca^{2+} desde el compartimento I al II será más pequeña, y también será escasa su captación en mitocondrias (flecha delgada 3); así, la subsiguiente liberación mitocondrial de Ca^{2+} será también pequeña (flecha delgada 4) y el transporte de vesículas desde la

población VR a la VLR será nimia (flecha delgada 5). Ello ocasionará una respuesta secretora menor con los estímulos más prolongados de K^+ y el intercambiador inhibido. En suma, estos datos demuestran que la actividad del intercambiador Na^+/Ca^{2+} puede ser fundamental para controlar la homeostasia del Ca^{2+} y la neurosecreción, particularmente en situaciones de actividad neuronal prolongada. Ello puede revestir no sólo interés fisiológico sino también ser relevante en situaciones de sobrecarga celular de Ca^{2+} , una situación que puede llevar a la activación del proceso de muerte neuronal por apoptosis.

Calcio y patología neuronal: perspectivas terapéuticas

La sobrecarga de las células con un exceso de Ca^{2+} es un mecanismo citotóxico que puede causar su muerte. De hecho, se acepta que la excesiva entrada de Ca^{2+} constituye un mecanismo patogénico crucial en varias enfermedades del aparato cardiovascular y del sistema nervioso central, por ejemplo, la hipertensión, la enfermedad isquémica coronaria, el infarto de miocardio o el ictus. La acumulación excesiva de Ca^{2+} en neuronas se ha asociado también a enfermedades neurodegenerativas de evolución crónica tipo Alzheimer o Parkinson. El Ca^{2+} parece desempeñar también un importante protagonismo en patologías tipo epilepsia, que cursan con una hiperexcitabilidad neuronal. Dada esta rica patología, no es extraño que la mayoría de los esfuerzos para la búsqueda y desarrollo de fármacos que interfieran con la homeostasia celular del Ca^{2+} , se hayan canalizado hacia la prevención de la entrada y la sobrecarga celular de Ca^{2+} .

Sin embargo, en los últimos años cobra cuerpo la idea del “estrés reticular” como mecanismo patogénico de muerte neuronal en la enfermedad de Alzheimer (ver la interesante revisión de Paschen, 2001). La disfunción del retículo endoplásmico se manifiesta por una disminución de los niveles intrareticulares de Ca^{2+} . El Ca^{2+} está circulando continuamente entre la luz reticular y el citosol. Escapa hacia el citosol vía receptor de rianodina y vuelve al retículo vía SERCA. De ahí que el bloqueo de la SERCA por tapsigargina ocasione el vaciamiento del Ca^{2+} reticular y la entrada de la célula en apoptosis. Por ello, la tapsigargina se usa con frecuencia como herramienta experimental para hacer entrar en apoptosis a un determinado tipo celular (Wei y col, 1998). Los depósitos de Ca^{2+} , se depletan también cuando se reducen los niveles de la proteína de estrés llamada grp78 (“glucose regulated protein”) que, curiosamente, está disminuida en el cerebro de pacientes de Alzheimer (Katayama y col., 1999). La capacidad tamponadora de Ca^{2+} del

retículo está disminuida en neuronas viejas (Kisischuk y Verkhrastky, 1996), lo que sugiere una mayor vulnerabilidad, un hallazgo relacionado con el hecho de que la edad sea un importante factor de riesgo en la enfermedad de Alzheimer. También se ha observado que la alteración del Ca^{2+} reticular está relacionada con el depósito de β -amiloide (Querfuth y Selkoe, 1994), un péptido implicado en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. El péptido amiloide (1-42), se forma en el retículo endoplásmico (Hartmann y col., 1997), resultado del procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP) por las presenilinas, que también se ubican en el retículo (Kovacs y col., 1996). El amiloide (1-42) podría alterar la homeostasia reticular del Ca^{2+} , dada su capacidad de formar poros permeables a este catión (Engstrom y col., 1995; Pollard y col., 1995). Así pues, la alteración de la capacidad del retículo para mantener la circulación intracelular del Ca^{2+} podría ser un mecanismo patogénico crucial en la lesión neuronal típica del Alzheimer y de otras enfermedades neurodegenerativas.

Resumen, conclusiones y perspectivas

En este capítulo recogemos algunos hallazgos recientes que suponen un importante paso adelante en el conocimiento, a nivel molecular, de la rica dinámica de la sinapsis. Para comunicarse entre sí, y con sus sistemas efectores, las neuronas se valen de un lenguaje que consta de señales eléctricas (potenciales de acción) y químicas (neurotransmisores, neuromoduladores). Se conoce en la actualidad una rica gama de moléculas cuya función neurotransmisora en cerebro y sistema nervioso periférico está fuera de toda duda. Las monoaminas acetilcolina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, histamina, serotonina, glutamato, aspartato, glicina y GABA constituyen buenos ejemplos. Los neuropéptidos opiáceos, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), las neuroquininas (sustancia P), la somatostatina, neurotensina, neuropéptido Y, colecistoquinina, vasopresina, oxitocina, se han relacionado con el control de la respuesta al estrés, la conducta sexual, la ingesta, el dolor, el aprendizaje y la memoria. No se sabe con certidumbre si se comportan como neurotransmisores o neuromoduladores, cosa que también le ocurre al óxido nítrico (NO).

Se conoce gran parte de la estructura molecular de la maquinaria secretora, responsable de la rápida liberación sináptica de neurotransmisores en respuesta a potenciales de acción. Las proteínas sinaptobrevina (ubicada en la membrana de la vesícula sináptica), syntaxina y SNAP-25 (estas dos, ubicadas en la membrana plasmática presináptica) forman un complejo trimérico

que es responsable del atraque de las vesículas en los sitios activos de exocitosis. En esta posición estratégica, las vesículas liberan su neurotransmisor en pocos milisegundos, cuando el potencial de acción invade la terminación nerviosa y activa la apertura de distintos subtipos de canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes (L, N, P, Q, R y T). La distribución geográfica asimétrica de cada canal, en distintos tipos de neuronas, ha dado pie a la hipótesis de que el Ca^{2+} que entra por cada canal está compartimentalizado, lo que favorece la creación de microdominios de Ca^{2+} en el citosol y en el núcleo, que sirven distintas funciones celulares.

Esta rica heterogeneidad bioquímica sináptica da pie a la selección de múltiples dianas biológicas para el diseño y desarrollo de fármacos con potencialidad terapéutica en enfermedades neurodegenerativas, más concretamente en la enfermedad de Alzheimer. Las alteraciones progresivas de la memoria y la conducta del paciente de Alzheimer están asociadas, sin duda, a alteraciones de la neurotransmisión en sinapsis específicas. Hasta ahora, las dianas farmacológicas que han proporcionado medicamentos clínicamente útiles han sido la acetilcolinesterasa (inhibidores tipo rivastigmina, donepezilo y galantamina), los receptores nicotínicos (moduladores alostéricos tipo galantamina) y los receptores NMDA para glutamato (bloqueantes no competitivos tipo memantina). En los cambios conductuales están implicadas, seguramente, la neurotransmisión serotoninérgica, la noradrenérgica y la dopaminérgica. Además, el mejor conocimiento que poseemos de la disfunción reticular proporcionará dianas para el desarrollo de nuevos medicamentos capaces de estabilizar la homeostasia del Ca^{2+} a nivel del retículo endoplásmico neuronal; de hecho, la rianodina y el dantroleno son neuroprotectores. Es plausible que este tipo de medicamentos sean la base de nuevas estrategias neuroprotectoras, quizás las más prometedoras y atractivas.

Bibliografía

- Alonso M.T., Barrero M.J., Michelena P., Carnicero E., Cuchillo I., Garcia A.G., Garcia-Sancho J., Montero M. Alvarez J. (1999) Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in chromaffin cells seen from inside the ER with targeted aequorin. *J Cell Biol.* **144**, 241-54.
- Antuono P.G., Jones J.L., Wang Y., Li S.J. (2001) Decreased glutamate + glutamine in Alzheimer's disease detected in vivo with (1)H-MRS at 0.5 T. *Neurology.* **56**, 737-42.
- Burghaus L., Schutz U., Krempel U., de Vos R.A., Jansen Steur E.N., Wevers A., Lindstrom J., Schroder H. (2000) Quantitative assessment of nicotinic acetylcholine receptor proteins in the cerebral cortex of Alzheimer patients. *Brain Res Mol Brain Res.* **76**, 385-8.
- Cotman C.W., Geddes J.W., Bridges R.J., Monaghan D.T. (1989) N-methyl-D-aspartate receptors and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* **10**, 603-5; discussion 618-20.
- Davies P. (1979) Neurotransmitter-related enzymes in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain Res.* **171**, 319-27.
- Douglas, W.W. and Rubin, R.P. (1961). The role of calcium in the secretory response of the adrenal medulla to acetylcholine. *J. Physiol.* **159**, 40-57.
- Engstrom I., Ronquist G., Pettersson L., Waldenstrom A. (1995) Alzheimer amyloid beta-peptides exhibit ionophore-like properties in human erythrocytes. *Eur J Clin Invest.* **25**, 471-6.
- Ferrarese C., Begni B., Canevari C., Zoia C., Piolti R., Frigo M., Appollonio I., Frattola L. (2000) Glutamate uptake is decreased in platelets from Alzheimer's disease patients. *Ann Neurol.* **47**, 641-3.
- Furchgott, R.F. and Zawadski, J.V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**, 373-376.
- Garthwaite, J. (1995). Neural nitric oxide signalling. *Trends. Neurosci.* **18**, 51-52.
- Glue, P., Nutt, D. and Coupland, N. (1993). Stress and psychiatric disorder: reconciling social and biological approaches. En "Stress: From Synapse to Syndrome", S.C. Stanford and P. Salmon, Eds. (London: Academic Press), pp. 53-75.
- Greenamyre J.T., Penney J.B., D'Amato C.J., Young A.B. (1987) Dementia of the Alzheimer's type: changes in hippocampal L-[3H]glutamate binding. *J Neurochem.* **48**, 543-51.
- Guan Z.Z., Zhang X., Ravid R., Nordberg A. (2000) Decreased protein levels of nicotinic receptor subunits in the hippocampus and temporal cortex of patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem.* **74**, 237-43.
- Hartmann T., Bieger S.C., Bruhl B., Tienari P.J., Ida N., Allsop D., Roberts G.W., Masters C.L., Dotti C.G., Unsicker K., Beyreuther K. (1997) Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. *Nat Med.* **3**, 1016-20.
- Hellstrom-Lindahl E., Mousavi M., Zhang X., Ravid R., Nordberg A. (1999) Regional distribution of nicotinic receptor subunit mRNAs in human brain: comparison between Alzheimer and normal brain. *Brain Res Mol Brain Res.* **66**, 94-103.
- Hernandez-Guijo J.M., Maneu-Flores V.E., Ruiz-Nuno A., Villarroya M., Garcia A.G., Gandia L. (2001) Calcium-dependent inhibition of L, N, and P/Q Ca²⁺ channels in chromaffin cells: role of mitochondria. *J Neurosci.* **15**;21, 2553-60.
- Hynd M.R., Scott H.L., Dodd P.R. (2001) Glutamate(NMDA) receptor NR1 subunit mRNA expression in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* **78**, 175-82.
- Hokfelt T., Lundberg J.M., Schultzberg M., Johansson O., Ljungdahl A., Rehfeld J. (1980) Coexistence of peptides and putative transmitters in neurons. *Adv Biochem Psychopharmacol.* **22**, 1-23.

- Hynd M.R., Scott H.L., Dodd P.R. (2001) Glutamate(NMDA) receptor NR1 subunit mRNA expression in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* **78**, 175-82.
- Iversen, L.L. (1995). Neuropeptides: promise unfulfilled?. *Trends Neurosci.* **18**, 49-50.
- Jansen K.L., Faull R.L., Dragunow M., Synek B.L. (1990) Alzheimer's disease: changes in hippocampal N-methyl-D-aspartate, quisqualate, neurotensin, adenosine, benzodiazepine, serotonin and opioid receptors--an autoradiographic study. *Neuroscience.* **39**, 613-27.
- Katayama T., Imaizumi K., Sato N., Miyoshi K., Kudo T., Hitomi J., Morihara T., Yoneda T., Gomi F., Mori Y., Nakano Y., Takeda J., Tsuda T., Itoyama Y., Murayama O., Takashima A., St George-Hyslop P., Takeda M., Tohyama M. (1999) Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* **1**, 479-85.
- Kirischuk S., Verkhratsky A. (1996) Calcium homeostasis in aged neurons. *Life Sci.* **59**, 451-459.
- Kovacs, G.L. and De Wied, D. (1994). Peptidergic modulation of learning and memory processes. *Pharmacol. Rev.* **46**, 269-291.
- Kovacs D.M., Fausett H.J., Page K.J., Kim T.W., Moir R.D., Merriam D.E., Hollister R.D., Hallmark O.G., Mancini R., Felsenstein K.M., Hyman B.T., Tanzi R.E., Wasco W. (1996) Alzheimer-associated presenilins 1 and 2: neuronal expression in brain and localization to intracellular membranes in mammalian cells. *Nat Med.* **2**, 224-9.
- Lauderback C.M., Hackett J.M., Huang F.F., Keller J.N., Szweda L.I., Markesbery W.R., Butterfield D.A. (2001) The glial glutamate transporter, GLT-1, is oxidatively modified by 4-hydroxy-2-nonenal in the Alzheimer's disease brain: the role of Abeta1-42. *J Neurochem.* **78**, 413-6.
- Martin-Ruiz C.M., Court J.A., Molnar E., Lee M., Gotti C., Mamalaki A., Tsouloufis T., Tzartos S., Ballard C., Perry R.H., Perry E.K. (1999) Alpha4 but not alpha3 and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunits are lost from the temporal cortex in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* **73**, 1635-40.
- Montero M., Alonso M.T., Carnicero E., Cuchillo-Ibanez I., Albillos A., Garcia A.G., Garcia-Sancho J., Alvarez J. (2000) Chromaffin-cell stimulation triggers fast millimolar mitochondrial Ca²⁺ transients that modulate secretion. *Nat Cell Biol.* **2**, 57-61.
- Palmer, R.M.J., Ashton, D.S. and Moncada, S. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* **333**, 664-666.
- Paschen W. (2001) Dependence of vital cell function on endoplasmic reticulum calcium levels: implications for the mechanisms underlying neuronal cell injury in different pathological states. *Cell Calcium* **29**, 1-11.
- Peroutka, S.J. (1995). 5-HT receptors: past, present and future. *Trends Neurosci.* **18**, 68-69.
- Perry E.K., Tomlinson B.E., Blessed G., Bergmann K., Gibson P.H., Perry R.H. (1978) Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br Med J.* **2**, 1457-9.
- Pintado A.J., Olivares R., Ruiz-Nuño A., Aldea M., Arroyo G., Albillos A., Gandía L., Montiel C., García A.G. (2002) Modulation of exocytosis by the Na⁺/Ca²⁺ exchanger of chromaffin cells. *Ann NY Acad Sci* **971**, 174-177.
- Pollard H.B., Arispe N., Rojas E. (1995) Ion channel hypothesis for Alzheimer amyloid peptide neurotoxicity. *Cell Mol Neurobiol.* **15**, 513-26.
- Querfurth H.W., Selkoe D.J. (1994) Calcium ionophore increases amyloid b peptide production by cultured cells. *Biochem.* **33**, 4550-4561.
- Rizzuto R, Brini M, Pozzan T. (1993) Intracellular targeting of the photoprotein aequorin: a new approach for measuring, in living cells, Ca²⁺ concentrations in defined cellular compartments. *Cytotechnology.* **11 Suppl 1**:S44-6.

- Rodrigo, J., Springall, D.R., Uttenthal, O., Bentura, M.L., Abadía-Molina, F., Riveros-Moreno, V., Martínez-Murillo, R., Polak, J.M. and Moncada, S. (1994). Localization of nitric oxide synthase in the adult rat brain. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **345**, 175-221.
- Scheller, R.H. (1995). Membrane trafficking in the presynaptic nerve terminal. *Neuron* **14**, 893-897.
- Terenius, L. (1992). Opioid peptides, pain and stress. *Prog. Brain Res.* **92**, 375-384.
- Terzano S., Court J.A., Fornasari D., Griffiths M., Spurden D.P., Lloyd S., Perry R.H., Perry E.K., Clementi F. (1998) Expression of the alpha3 nicotinic receptor subunit mRNA in aging and Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res.* **63**, 72-8.
- Tiraboschi P., Hansen L.A., Alford M., Masliah E., Thal L.J., Corey-Bloom J. (2000) The decline in synapses and cholinergic activity is asynchronous in Alzheimer's disease. *Neurology.* **55**, 1278-83.
- Ulas J., Brunner L.C., Geddes J.W., Choe W., Cotman C.W.. (1992) N-methyl-D-aspartate receptor complex in the hippocampus of elderly, normal individuals and those with Alzheimer's disease. *Neuroscience.* **49**, 45-61.
- Ulas J., Cotman C.W. (1997) Decreased expression of N-methyl-D-aspartate receptor 1 messenger RNA in select regions of Alzheimer brain. *Neuroscience.* **79**, 973-82.
- Villalobos C., Nunez L., Montero M., Garcia A.G., Alonso M.T., Chamero P., Alvarez J., Garcia-Sancho J. (2002) Redistribution of Ca²⁺ among cytosol and organelle during stimulation of bovine chromaffin cells. *FASEB J.* **16**, 343-53.
- Wei H., Wei W., Bredesen D.E., Perry D.C. (1998) Bcl-2 protects against apoptosis in neuronal cell line caused by thapsigargin-induced depletion of intracellular calcium stores. *J Neurochem.* **70**, 2305-14.
- Wevers A., Monteggia L., Nowacki S., Bloch W., Schutz U., Lindstrom J., Pereira E.F., Eisenberg H., Giacobini E., de Vos R.A., Steur E.N., Maelicke A., Albuquerque E.X., Schroder H. (1999) Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the cerebral cortex in Alzheimer's disease: histotopographical correlation with amyloid plaques and hyperphosphorylated-tau protein. *Eur J Neurosci.* **11**, 2551-65.
- Xu T., Naraghi M., Kang H., Neher E. (1997) Kinetic studies of Ca²⁺ binding and Ca²⁺ clearance in the cytosol of adrenal chromaffin cells. *Biophys J.* **73**, 532-45.

CAPÍTULO 2

FACTORES DE RIESGO Y DE PROTECCIÓN DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JOSÉ MANUEL MARTÍNEZ LAGE

*Profesor y Consultor de Neurología,
Unidad Clínica de Trastornos de Memoria,
Departamento de Neurología y Neurocirugía,
Clínica Universitaria de la Universidad de Navarra*

La fase de inducción de una enfermedad es el período que transcurre entre la exposición a la causa y el inicio de las lesiones en los órganos diana¹. Esta fase depende por completo de la causa del proceso. En el caso de un trastorno genético las lesiones pueden iniciarse en el momento del nacimiento o ya durante la vida intrauterina. El tiempo transcurrido entre la inducción y la detección de la enfermedad corresponde a la fase latente de la misma, que es cuando las lesiones van aumentando en intensidad aún cuando el individuo permanezca libre de síntomas (fase asintomática). En el caso del Alzheimer, tanto la fase de latencia como la de inducción duran varias décadas porque hay mucha influencia genética y existe un largo período asintomático. Es probable que los factores de riesgo que actúan presumiblemente durante la fase de inducción estén relacionados decisivamente con la causa². En cambio, los factores que actúan durante la fase de latencia son, probablemente, circunstancias intermediarias modificadoras del riesgo de enfermedad, aumentándolo o disminuyéndolo, porque tienen un efecto indirecto sobre la verdadera causa. Por eso, lo importante y a su vez lo más difícil es establecer la relación temporal en los estudios de factores de riesgo.

Es importante conocer los factores de riesgo investigados durante la fase de latencia de la enfermedad, llamada también "preclínica", aunque es muy probable que haya que relacionarlos más con la transición de un estado asintomático a una situación de enfermedad diagnosticable. Quizá no represen-

ten factores de riesgo relacionados con la causa sino condiciones precipitantes de la aparición de la enfermedad³.

Ante la interacción tan marcada que en la enfermedad de Alzheimer existe entre genes, ambiente, sociodemografía, historia médica anterior, etc., etc., el estudio de factor por factor puede resultar frustrante, confuso y contradictorio⁴. El camino para avanzar en el conocimiento etiopatogénico de esta enfermedad será el estudio combinado, convenientemente ajustado, de varios factores con los pertinentes análisis estadísticos. Lo que está surgiendo ahora es un nuevo paradigma, con fines diagnósticos y terapéuticos, para definir el riesgo específico que cada persona puede tener a sus 30 o 40 años, momento en que comienza el depósito de amiloide beta en el cerebro, para desarrollar síntomas de Alzheimer después de sus 65 años. Para ello, habrá un modelo matemático informatizado que sintetice datos de historia familiar, análisis de genotipo y biomarcadores licuorales o plasmáticos, resultados de pruebas neuropsicológicas y de pruebas de neuroimagen⁵. A los sujetos que, por propia decisión, se sometan a este test de riesgo y que éste resulte muy elevado, pongamos de un 90-100%, se les ha de ofrecer la posibilidad de ser los primeros candidatos a ensayos clínicos con agentes de prevención del proceso que impidan que aparezca un desequilibrio entre la producción y el aclaramiento de amiloide beta cerebral, base biológica de la enfermedad⁶.

En este capítulo revisaré los factores de riesgo y protección del Alzheimer conforme a la sistemática de Anthony Jorm⁷ y, dado que su contenido refleja la lección impartida en un curso de la Escuela de Farmacología "Téofilo Hernando", fijaré un poco más la atención en la homocisteína, folatos y vitaminas B debido a la importancia que está cobrando su elevación plasmática y su corrección con la administración de ácido fólico, vitaminas B₆ y B₁₂ en el campo de esta patología⁸. Se podría haber elegido también examinar con detalle el papel del colesterol cerebral y su modificación por el uso de estatinas, que están en la cresta de la ola por su relación con el Alzheimer. El primero por su papel en la patogenia del proceso⁹ y las segundas como agentes protectores¹⁰.

FACTORES SOCIODEMOGRÁFICOS

Edad

El envejecimiento personal, el cumplir muchos años no es una enfermedad pero la condición de ser mayor de 65-70 años es un terreno abonado para que surjan las enfermedades neurodegenerativas¹¹. Se habla mucho de que la for-

mación aumentada de superóxido dismutasa puede estar en la base de esta relación debido a mutaciones en los aproximadamente 1000 genes implicados en la biogénesis mitocondrial¹² pero al día de hoy no hay una explicación biogerontológica definitiva de esta conexión. Hay personas mentalmente sanas con edades entre 100 y 104 años cuyo cerebro muestra en la necropsia placas neuríticas y ovillos neurofibrilares en número y localización que cumplen criterios CERAD y NIA- Reagan de enfermedad de Alzheimer¹³. Aparte de que este dato revela la insuficiencia de tales criterios en su redacción actual, el descubrimiento reciente de posibles interacciones entre depósitos de amiloide beta y ovillos tau obliga a incluir en el diagnóstico neuropatológico del Alzheimer la existencia de ovillos prefibrilares iniciales de neurodegeneración y ovillos "secundarios" al depósito de amiloide. Así se aclararán más las bases histopatológicas del envejecimiento cerebral sin enfermedad y de la propia enfermedad de Alzheimer por muy preclínica que sea.

A la luz de los estudios epidemiológicos, la edad es el factor de riesgo más importante para sufrir Alzheimer⁷. Hay unanimidad en que existe un aumento exponencial de las cifras de incidencia y prevalencia a medida que se cumplen años¹⁴. La incidencia en el grupo etario de 60 a 70 años es de un caso en 1000 sexagenarios por año, entre los septagenarios es de uno en 100 por año y entre los octogenarios es de uno en 10 por año. Sin embargo, esta incidencia puede caer después de los 90 años¹⁵. La prevalencia se duplica a intervalos de cinco años según la edad de manera que en la población de 65 a 69 años es del 2%, sube a un 4% entre los de 70 a 74 años, asciende a un 8% entre los de 75 a 79 años, alcanza un 16% entre los de 80 a 84 años y llega a ser un 32% entre los de 85 a 89 años. Walter-Roca resume atinadamente los hallazgos de los estudios de EURODEM entre los que se incluyen los del Estudio Pamplona¹⁶.

Si la incidencia de Alzheimer continuara aumentado exponencialmente en lo nonagerarios y centenarios, cosa que no parece que sea así, entonces toda la población padecería esta enfermedad caso de que viviera los años suficientes. Mientras que, si los niveles de incidencia se estancaran entre los muy viejos, habrá personas con 110-120 años que nunca desarrollarán tal afección⁷. La señora francesa Jeanne Calment murió a los 123 años sin síntomas de demencia¹⁷.

Género

Se admite tradicionalmente que la prevalencia de Alzheimer es mayor en las mujeres que en los hombres. Se achacó esta diferencia a que las mujeres vivían más años una vez desarrollada la enfermedad. Pero los estudios de

incidencia, siempre más válidos y consistentes, han confirmado esta preferencia de la afección por el sexo femenino. Los estudios de EURODEM, basados en 528 casos incidentes entre una cohorte de 28.768 personas seguida longitudinalmente, demostraron fehacientemente que las mujeres tienen un riesgo relativo mayor para sufrir demencia y en particular Alzheimer¹⁸.

El hecho de que las mujeres vivan el último tercio de su existencia en situación de deficiencia estrogénica podría explicar la mayor prevalencia e incidencia en la mismas¹⁹. No son todavía concluyentes las eventuales diferencias clínicas, de historia natural, respuesta a fármacos anticolinesterásicos y neuropatológicas entre mujeres y hombres²⁰. El factor escolarización (educación) no influye en el mayor riesgo femenino aunque sí parece que el status APOE e4 positivo es más frecuente entre las mujeres.

Ahora que el metabolismo del colesterol está cobrando importancia en la patogénia del Alzheimer porque un factor de transcripción del mismo está ligado a proteasas²¹, las diferencias hombre/mujer en cuanto a frecuencia de esta enfermedad podrían también radicar en el distinto metabolismo lipídico que hay entre uno y otro género.

Etnia y nacionalidad

La población de afroamericanos mayores de 65 años está aumentando más rápidamente que el mismo segmento de población de raza blanca. Se creía que la prevalencia de demencia era igual entre ambas etnias o incluso un poco mayor en los afroamericanos²². Los efectos del status APOE e4 entre diferentes etnias no estaba aclarado. Los estudios transculturales (Japón, Hawaii) y migratorios indicaron una interacción dinámica entre genes y ambiente. Hugh Hendrie y col. realizaron el primer estudio que, usando idéntica metodología llevada a cabo por los mismos investigadores, demostró que la incidencia anual de Alzheimer ajustada por edades fue significativa y llamativamente más baja en los habitantes Yoruba, de Ibadán, Nigeria, que en los afroamericanos de Indianápolis, Indiana²³. En Yoruba fue del 1,15% y en los afroamericanos 2,52% con semejantes intervalos de confianza. Si estos datos se confirman en el distrito Nyeri, Kenia, y en otras poblaciones africanas, fortalecerían el argumento de que los factores ambientales y culturales, junto con los de predisposición genética, influyen notablemente en la incidencia de Alzheimer. La frecuencia del alelo APOE e4 es semejante en Indianápolis, Nigeria, Tanzania y Kenia²². Más aún, la asociación e4/Alzheimer es insignificante entre los Yoruba o tanzaniese mientras que el status homocigótico e4/e4 está significativamente asociado con la enfermedad de Alzheimer en los afroamericanos, aunque en menor

proporción que en los blancos. Por tanto, hay que tomar en consideración factores ambientales para explicar la diferente incidencia de Alzheimer en Ibadán con respecto a Indianápolis. La dieta y el ejercicio pueden ser dos de ellos. Se encontró menor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular entre los nigerianos que entre los afroamericanos. Si un factor modificable como es la dieta modula el riesgo, habría que aceptar un mayor peso de los factores ambientales en la aparición de Alzheimer y una mayor influencia de éstos en las complejas interacciones entre predisposición genética y desencadenantes ambientales²². Estos estudios son acicate para seguir buscando factores de riesgo en la aclaración etiológica de la enfermedad, singularmente el papel de la hipertensión arterial, aterosclerosis e ictus de repetición, así como estilo de vida²⁴, teniendo siempre en cuenta que el diagnóstico de demencia y Alzheimer está muy sujeto a sesgos y errores entre los negros americanos^{25, 26}.

Geografía

Los estudios EURODEM señalan diferencias geográficas regionales en la incidencia de demencia en Europa con índices más altos en los países del noroeste que en los del sur²⁷. En los países occidentales del continente europeo la frecuencia del alelo APOE e4 disminuye en sentido norte-sur (28). En España la frecuencia de este alelo es semejante en Cataluña, Madrid y Asturias aunque es mayor en Cantabria²⁹. Hay reservas poblacionales como la de Manitoba en que la prevalencia de Alzheimer es muy baja lo mismo que en la India²⁵.

FACTORES GENÉTICOS Y FAMILIARES

Historia familiar

Es importante definir el significado de antecedentes familiares positivos ante un enfermo concreto que padece enfermedad de Alzheimer. Se refiere a la constatación de un diagnóstico de este tipo, realizado por un especialista, en al menos un familiar en primer grado (padres o hermanos) del paciente en cuestión. No se refiere específicamente a un árbol genealógico con miembros varios afectados en cada generación como es propio de enfermedades monogénicas con herencia mendeliana autosómica dominante.

La historia familiar así entendida es un factor de riesgo importante de Alzheimer⁷. En el 50-60 % del 99% de casos, que constituyen la enfermedad de inicio tardío (después de los 65 años), existe un familiar de primer grado

que también padece o padeció la misma enfermedad⁵. La comprobación de historia familiar positiva depende naturalmente de la edad que alcancen sus miembros puesto que si fallecen antes de los 65 años no habrá margen para desarrollar la enfermedad.

La influencia de historia familiar positiva depende de la edad del paciente. El riesgo es del 5% hasta los 70 años, 16% hasta los 80 y 33% hasta los 90⁷.

Mutaciones causales

En rigor, estas mutaciones causales no deberían considerarse en un capítulo dedicado a los factores de riesgo porque tales mutaciones patogénicas son causa suficiente (con su penetrancia del 100% en prácticamente todos los casos) aunque no necesaria para originar enfermedad en Alzheimer. Un factor de riesgo determinado ni es suficiente ni es necesario para que aparezca esta afección.

Son muy pocos los casos en que se detectan estas mutaciones responsables directas de Alzheimer familiar de presentación autosómica dominante de inicio precoz (antes de los 65 años). Se conocen hasta ahora las del gen de la proteína precursora de la amiloide en el cromosoma 21, descubiertas en 1991; las del gen de la presenilina 1 en el cromosoma 14, dadas a conocer en 1995; y las del gen de la presenilina 2 encontradas en el mismo año. Hay unas 24 familias en el mundo en las que se encontraron mutaciones del gen de la proteína precursora y unas 500 familias en las que se demostraron mutaciones del gen PS1. Sin embargo, el estudio de las mismas, de los productos del gen y de la conversión de estos genotipos en fenotipos neuropatológicos y biológicos (células, moléculas y proteínas) ha significado el hecho más trascendental para desentrañar la génesis, el mecanismo y las dianas terapéuticas del Alzheimer⁵. En la tabla 1 se destacan algunos datos numéricos epidemiológicos sobre las mutaciones causales.

Tabla 1

Genética de la enfermedad de Alzheimer **Autosómica dominante**

- Sólo representa el 1% de todos los casos
- Sólo en el 50% de estos casos se han descubierto hasta el momento mutaciones causales
 - En el 70-80% son mutaciones del gen PS1.
 - En el 10-15% son mutaciones del gen APP.
 - En el 3-5 % son mutaciones del gen PS2
- Es lógico esperar que se descubran nuevas mutaciones causales en familias en las que las conocidas hasta ahora no dan cuenta de esta presentación autosómica dominante

Genotipo APOE

En 1992 el grupo de Allen Roses demostró una marcada asociación entre la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío con historia familiar positiva o sin ella (forma esporádicas) y el status del gen APOE e4 positivo²⁹. En la tabla 2 se resumen los datos esenciales al respecto.

Tabla 2

El alelo APOE e4 es el factor de riesgo genético mayor conocido hasta ahora de enfermedad de Alzheimer de inicio tardío (después de los 65 años)

- El gen se sitúa en el cromosoma 19q.
- Está sobre-representado en los enfermos con Alzheimer.
- Aparece en el 32-58% de los casos. Hay enfermos que no tienen el alelo e4.
- Ser portador de e4 aumenta de dos a cinco veces el riesgo de Alzheimer.
- Anticipa la edad de aparición de los síntomas.
- Se puede ser homocigoto e4/e4 y no padecer Alzheimer.
- El alelo e2 es factor de protección de esta enfermedad

La asociación entre el alelo APOE e4 y la enfermedad de Alzheimer no tiene réplica²⁴. Sin embargo, el alelo e4 por sí solo no explica todo el riesgo de Alzheimer atribuido a este locus. Hay polimorfismos dentro del promotor del gen APOE que afectan su expresión³⁰. Hay una asociación entre el genotipo -491A/A que es independiente del genotipo APOE y, en enfermos mayores de 80 años, también el genotipo -219 se asocia con la enfermedad. Existe correlación en ratones Tg entre el depósito de amiloide beta y el nivel de expresión de APOE⁵.

Nuevos genes de susceptibilidad

El dato de que un 42-68% de enfermos de Alzheimer no son portadores del alelo e4 es indicativo de que otros factores genéticos y ambientales han de estar implicados en la forma de inicio tardío de la enfermedad²⁴.

La búsqueda de estos nuevos genes de susceptibilidad se está realizando mediante estudios de genes candidatos y mediante rastreo del genoma completo. Los resultados aún no son definitivos. Hay investigaciones demostrativas de ligamiento en los cromosomas 6, 9, 10 y 12. También se implica a los

polimorfismos de la interleucina-1, sobre todo la 1-alfa. La secuenciación del genoma humano es un punto de partida muy importante en este terreno.

Mucha gente pregunta a los médicos ¿voy a tener Alzheimer y, en caso afirmativo, cuándo? Para la primera parte de la pregunta todavía no hay respuesta, salvo que se herede una mutación causal conocida, pero para la segunda el genotipo APOE puede orientar sobre el riesgo y la edad de aparición. Recientemente, Prerik-Vance y su grupo encontraron ligamiento entre edad de inicio del Alzheimer y un gen del cromosoma 10 que curiosamente es también riesgo genético para enfermedad de Parkinson³¹.

El estudio REVEAL (Risk Evaluation and Education in Alzheimer's disease) tiene un diseño aleatorizado y controlado de pruebas y consejos genéticos en sujetos con conocido riesgo de padecer la enfermedad por el hecho de que uno de sus padres fue diagnosticado de la misma³². Se va a calcular el riesgo en función de la edad, sexo, historia familiar y genotipo APOE. Intenta este estudio integrar información genética en las decisiones de cada uno para velar por su salud. Va a ser un anticipo de la medicina personalizada que nos espera en la que el conocimiento de nuestro genoma individual nos va ayudar a tomar decisiones de modificar estilos de vida con respecto a las susceptibilidades genéticas que tengamos. Al mismo tiempo, en el REVEAL se van a evaluar los costes de tal información genética, su repercusión sobre la autoestima de cada uno, la dinámica familiar, el concepto de salud y justicia y traerá nueva luz sobre la economía social.

Síndrome de Down

Virtualmente, todas las personas con síndrome de Down presentan en sus cerebros a la edad de 35-40 años lesiones características de Alzheimer. Sin embargo, la prevalencia de demencia en estos sujetos a tales edades no es ni mucho menos del 100%⁷. Se van esclareciendo las razones de esta relación síndrome de Down y enfermedad de Alzheimer. La beta-secretasa BACE2 (pepsina de la familia de las aspartil proteasas que forma amiloide beta a partir de la proteína precursora) se codifica en el cromosoma 21 - extracopiado en el síndrome de Down - lo que levanta la posibilidad que tal proteasa contribuya a la aparición del fenotipo patológico del Alzheimer en los pacientes downianos por producir en los mismos más amiloide beta desde su nacimiento. Pero BACE2 existe en poca cantidad en el cerebro por lo que es más probable que sea la duplicidad del gen APP, también en el cromosoma 21, la responsable de la asociación que hay entre estas dos entidades⁵. Argumenta en este sentido la observación de un paciente con Down por

traslocación en el cual la porción distal del cromosoma 21 estaba duplicada pero el punto de corte era telomérico al gen que codifica la proteína precursora. Su fenotipo era downiano típico pero en su cerebro no había depósito de amiloide.

Por otra parte, se discute aún si una historia familiar de síndrome de Down o las madres de estos sujetos tienen mayor riesgo de padecer Alzheimer⁷.

CONDICIONES PREMÓRBIDAS

Cociente intelectual y capacidad lingüística

Produjo mucho impacto el trabajo de Snowdon y col³³ de correlacionar la capacidad lingüística en la juventud con la aparición de Alzheimer en la vejez. En el Nun Study (comentado en varias ocasiones en este trabajo), Snowdon consiguió que 678 monjas de la orden de Nôtre Dame de Kentucky aceptaran y acordaran someterse a revisiones neurológicas longitudinales y donaran sus cerebros para examen neuropatológico tras su muerte. Todas ellas habían escrito una carta autobiográfica cuando tenían alrededor de 20 años, en el momento de postulación de ingreso al convento. La menor densidad de ideas en tal texto se correlacionaba positivamente con la presencia clínica de enfermedad de Alzheimer y con la carga de ovillos neuro-fibrilares en sus cerebros. Se encontró así una asociación recíproca entre nivel cognitivo-educativo bajo en la juventud y padecimiento de esta enfermedad.

Muy elocuente resultó el estudio de la relación entre la capacidad mental de los niños escoceses de Aberdeen nacidos en 1921. Al iniciar la enseñanza secundaria era obligatorio para ellos realizar el Moray House Test. Se estudiaron las correlaciones entre las puntuaciones en esa prueba y la subsiguiente aparición de demencia en la vejez³⁴. La demencia de inicio antes de los 65 años, la que teóricamente es "más genética", no guardaba relación con las puntuaciones del test de capacidad mental realizado a los 11 años. Sin embargo, las puntuaciones bajas correspondían a las personas que padecieron demencia de inicio tardío, después de los 65 años, la forma "menos genética". La población estudiada tuvo probablemente en su infancia condiciones de vida, alimentación, circunstancias socioeconómicas, oportunidades educativas, nivel de salud etc., bastante semejantes. Estos datos apoyan sólidamente que la capacidad mental en la infancia modifica la propensión a padecer demencia en la edad senil, aun cuando se desconozcan los mecanismos biológicos subyacentes. Quizás una capacidad mental infantil baja configura un estilo de vida en la edad adulta y determina una situación

socioeconómica en la que los factores de riesgo cerebrovascular puedan aparecer más fácilmente.

Mayeux, al comentar este trabajo escocés en el mismo número de la revista en que se publicó, afirma de manera provocadora que, si la etiología del Alzheimer actúa ya en la etapa de la maduración y el desarrollo cerebrales, las puntuaciones bajas en los tests de inteligencia infantil pueden ser reflejo de inicio de la enfermedad en tal momento. Tal eventualidad, a su vez, determinaría un escaso rendimiento escolar, una menor oportunidad de acceder a niveles de enseñanza superior y aun influiría en el estilo de vida adulta. Es decir, un nivel educativo bajo sería la consecuencia de un presunto inicio de enfermedad de Alzheimer en edad infantojuvenil, no su causa en la vejez. Ya se ha comparado la estría lipídica que hay en la pared arterial de algunos niños, origen del desarrollo de la placa de ateroma, con los depósitos preamiloides cerebrales que se ven en adultos jóvenes y que luego van a formar las placas neuríticas⁶.

Nivel educativo (escolarización), reserva cerebral y reserva cognitiva

Hay datos epidemiológicos consistentes a favor de que cuanto mayor sea el nivel educativo que se alcanza en la vida, menor será la probabilidad de sufrir demencia en edades avanzadas, especialmente en las mujeres³⁵. Los mecanismos biológicos implicados en esta beneficiosa asociación pueden ser varios, pero entre ellos destaca que a mejor educación y estado socioeconómico corresponde menor riesgo de padecer otras enfermedades, de disfrutar de mejor salud y tener mejor asistencia médica.

La hipótesis de que un mayor nivel educativo puede proteger frente a la demencia y Alzheimer, preconizada por Mortimer en 1988, es sumamente atractiva³⁶. Se creía en esa fecha que los factores psicosociales actuaban primariamente reduciendo "la reserva intelectual o cognitiva" de manera que una enfermedad cerebral de poca entidad, en presencia de cierta miseria socioeconómica y cultural, daba lugar ya a una franca demencia, y que una inteligencia premórbida baja hacía más evidente el diagnóstico de Alzheimer. Estas predicciones fueron confirmadas parcialmente por estudios epidemiológicos realizados en Appignano (Italia), sur de Francia (PAQUID), Estocolmo, Finlandia y Ashkelon (Israel). Robert Katzman comprobó en un estudio realizado en la población china de Shanghai que los mayores de 75 años sin escolarización alguna, o con muy bajo nivel educativo, tenían demencia con mas frecuencia; la prevalencia se duplicaba entre los analfabetos frente a los que habían recibido enseñanza elemental o media³⁷. Para Katzman, el efecto

protector de la instrucción y educación cumplía los criterios de consistencia, solidez y dosis-respuesta exigidos para tal catalogación, llegando a afirmar que los “hallazgos recientes de que los cambios cognitivos en la enfermedad de Alzheimer son ampliamente dependientes de la densidad sináptica neocortical proporcionan una base específica para el concepto de “reserva cerebral”. “Proponemos –añadía– que la educación en la escuela secundaria aumenta la reserva cognitiva y con ella la reserva cerebral al incrementar la densidad sináptica en la corteza de asociación, lo que conduce a retrasar los síntomas entre 4 y 5 años en los sujetos con Alzheimer (y probablemente otras demencias) y, por consiguiente, a reducir la prevalencia a la mitad”.

Han sido estudiadas más rigurosamente desde entonces las nociones de reserva cerebral y cognitiva premórbida. Del Ser y col., estudiando una serie de 87 enfermos con demencia y confirmación necrópsica del diagnóstico específico, propusieron lo que llamaron hipótesis brain battering como alternativa a la de reserva cerebral³⁸. Ellos asumieron que las personas con niveles educativos más altos y posición socioeconómica más elevada están expuestas a menos agresiones repetidas de toda índole contra la salud, gozan de un estilo de vida más saludable y reciben cuidados médicos de mejor calidad. Todo ello consigue que sus cerebros sean más sanos, especialmente con menos lesiones de pequeño vaso que tanto contribuyen a la aparición de demencia³⁹.

Volumen cerebral, inteligencia y demencia

Se le ha querido dar nuevo ímpetu recurriendo a los estudios de imagen cerebral a la hipótesis que sostiene la existencia de una relación educación/demencia y Alzheimer. Ya se había dicho que los sujetos con menor perímetro cefálico tenían mayor riesgo de presentar la enfermedad y tendían a iniciar los síntomas más tempranamente⁴⁰. Se quería ver en el tamaño craneal un índice indirecto del desarrollo cerebral hasta la adolescencia y en él un factor de susceptibilidad. Era muy chocante porque todos conocemos personas muy inteligentes que, sin ser microcéfalas, tienen un tamaño craneal pequeño. Ahora se ha matizado que el perímetro cefálico escaso, eso sí en presencia de un alelo e4, adelanta la edad de aparición del Alzheimer, dato a favor de la reserva cerebral⁴¹ y se propone una explicación alternativa al comprobar que el tamaño craneal pequeño puede estar asociado con una menor disponibilidad de insulina o de IGF-1 desde el nacimiento⁴².

Se recurrió al estudio mediante resonancia magnética (RM) cuantitativa y se encontró una relación entre el nivel educativo y el grado de atrofia

cerebral asociado a la edad compatible con la hipótesis de la reserva^{43,44}. Sin embargo, cuando en lugar de tomar en consideración el grado de atrofia cortical se estimó el volumen intracraneal total (que es independiente del grado de atrofia) mediante RM semiautomática, no se apreció diferencia entre los enfermos y los controles⁴⁵. Aunque algunos han encontrado una relación significativa entre capacidad intracraneal, volúmenes cerebrales y estado cognitivo en viejos sanos⁴⁶, otros no pudieron llegar a las mismas conclusiones⁴⁷. Todo ello está en contra de que un mayor volumen cerebral conseguido por una mejor y mayor educación signifique una mayor reserva cerebral protectora de Alzheimer. En definitiva, la hipótesis de la reserva cerebral o cognitiva entendida como condicionada por factores genéticos y ambientales, tal como la explican Cummings y col.⁴⁸, ha de tomarse en consideración en la enfermedades cerebrales, pero no como una mecanismo específico de una enfermedad concreta sino como un umbral que cada uno tiene para que ante una lesión/disfunción cerebral aparezcan o no síntomas o sean más o menos intensos. Los genes gobiernan la densidad sináptica, capacidad intelectual congénita, tamaño y peso cerebrales, eficiencia neuronal, etc. El ambiente, a través de la educación recibida, el medio en el que se vive, las infecciones de la infancia, las condiciones de nutrición, la riqueza o deprivación sensorial y emocional, etc., interactúan decisivamente con los genes. Puede decirse que ni todo es genoma ni nada está fuera de su alcance. Con gracia tituló David Drachman un editorial para *Neurology*⁴⁹ para señalar que la volumetría y la morfometría cerebrales informan poco sobre la función cerebral, integridad neuronal o resistencia a una enfermedad. Ciertamente que la atrofia entorrinal-hipocámpica es diagnóstica de Alzheimer pero de aquí a pensar que el tamaño de nuestras cabezas condiciona nuestro riesgo para sufrir Alzheimer hay un abismo. Máxime cuando ya se sabe que tanto el volumen cerebral como la inteligencia y el volumen de la sustancia gris cortical están marcadamente condicionados por factores genéticos como se demostró en estudios con gemelos⁵⁰.

Otros factores

La enfermedad de Alzheimer puede estar condicionada por factores ambientales que actúan durante la infancia y aún en el momento de la concepción. Sorprendentemente, el número y el orden de nacimiento en la fratría aumentan el riesgo de Alzheimer en un 8% para cada hijo que va naciendo, mientras que vivir hasta la adolescencia en un lugar suburbano (teóricamente

más sano) protege frente a este proceso patológico⁵¹. Esta bien documentado el mayor riesgo de demencia y de Alzheimer en el medio rural^{52,53}.

Los estudios de cohortes de base poblacional proporcionan datos singulares, por ejemplo, en el estudio PAQUID la condición de soltero, diferenciada de la de casado o cohabitante, aumenta el riesgo de Alzheimer o demencia⁵⁴. Las explicaciones a este hecho pueden ser varias pero, para estos autores franceses, la más verosímil sería la de que los individuos que no se casan tienen menos lazos sociales y estados nutritivos menos satisfactorios. En Suecia se ha comprobado también que entre las personas mayores que, aun viviendo solas, tienen amplias relaciones sociales y frecuentes visitas de o a familiares, la incidencia de demencia es menor que en aquellas otras que, viviendo también en solitario, carecen de relaciones familiares y están socialmente aisladas⁵⁵.

Personalidad premórbida, estrés y depresión

La personalidad premórbida, más que influir sobre el riesgo de Alzheimer, predice el curso sintomático conductual y psicológico de la misma⁵⁶. ¿Cabe admitir que hay factores de riesgo no-biológicos para esta enfermedad? Hay familiares de pacientes que, en una entrevista adecuada y ante un cuestionario pertinente, aseguran fehacientemente que lo que le sucede al enfermo con Alzheimer en su manera de ser ya estaba presente en él muchos años antes del inicio abierto y completo de su afección. Todos apuntaban hacia una cierta fragilidad de la personalidad. Algunos datos sugieren que las personas con menor capacidad para afrontar dificultades en la vida, mayor dependencia de su pareja y menor dotación o interés para las relaciones sociales son más propensas a padecer Alzheimer⁵⁷.

A pesar de la relación entre liberación de glucocorticoides y envejecimiento, no hay pruebas claras en favor de que estrés, acontecimientos vitales adversos, estrés post-traumático, prisión o participación en guerras, etc. predispongan para padecer esta enfermedad⁷.

Se dedicó bastante atención al estudio de la posible asociación depresión/Alzheimer. Aparte de que la depresión puede ser síntoma prodromático del proceso, hay consenso general de que existe asociación positiva entre historia anterior de depresión que requirió tratamiento médico y ulterior desarrollo de Alzheimer⁷. Esto da especial relieve al deterioro cognitivo inducido por trastornos depresivos, incluidos los cuadros bipolares⁵⁸. Lo más probable es que la depresión sea en realidad manifestación inicial de Alzheimer, aún años antes de la aparición de déficit cognitivo, como expresión de una neuropatología con placas inmaduras o preamiloides⁷.

HISTORIA MÉDICA ANTERIOR

Traumatismo craneal

En un meta-análisis publicado en 1991 de estudios caso-control se encontró una asociación entre antecedentes de traumatismo cráneo-encefálico con pérdida de conciencia y Alzheimer. Nada menos que tal antecedente incrementaba el riesgo en un 80%⁷. El riesgo era tanto mayor cuanto más cercano estaba el traumatismo al inicio de los síntomas de la enfermedad. En la misma época se publicaron trabajos indicando que tras una contusión cerebral se producía depósito de amiloide beta. Sin embargo, las investigaciones más objetivas, revisando historias clínicas y no actuando sobre respuestas retrospectivas de familiares de los enfermos, no han confirmado la asociación trauma craneal/Alzheimer^{18,59}. Se descarta además que el genotipo APOE interactúe con este no probado factor de riesgo que se creyó era el antecedente de lesión traumática encefálica.

Uso de anti-inflamatorios

La hipótesis elaborada en 1990 por el grupo de Patric Edith McGeer aseguraron ya en 1990 que en el Alzheimer hay una intensa reacción inmune-inflamatoria crónica en torno a las placas neuríticas. Los estudios neuropatológicos pertinentes han revelado la importancia de esta "artritis cerebral" en la patogenia de la enfermedad⁶⁰. La activación microglial puede verse in vivo mediante PET usando ligandos apropiados puesto que tal activación aumenta la expresión de ciertos receptores periféricos de unión a benzodiazepinas⁶¹.

Enseguida se realizaron estudios epidemiológicos para ver si el uso crónico de anti-inflamatorios, por ejemplo en enfermos con artritis reumatoide, retrasaba el inicio y quizá la progresión de la enfermedad. La mayoría de estos trabajos han usado la metodología de tipo corte transversal o de tipo caso-control. En un trabajo prospectivo el riesgo relativo de padecer Alzheimer caía con el uso de AINES especialmente si su toma se había prolongado dos o más años⁶².

No obstante, la eficacia clínica del tratamiento de la afección con agentes anti-inflamatorios o en su prevención no se ha visto demostrada en un ensayo multicéntrico ni con rofecoxib ni con naproseno⁶³.

Hormonas sexuales

Las hormonas ováricas foliculares tienen efectos pleiotrópicas en el cerebro⁶⁴. Participan en todos los procesos que mantienen la fisiología neuronal: aporte

y consumo de oxígeno y glucosa, síntesis y degradación de proteínas y comunicación interneuronal. Los esteroides gonadales son neuroprotectores por su acción estimuladora de supervivencia neuronal, crecimiento dendrítico-axonal y neuroplasticidad. Hay una selectividad regional en la existencia de receptores de estrógeno en las neuronas. Además de estar en las áreas neuroendocrinas, la máxima concentración ocurre en las células colinérgicas del sistema límbico (amígdala, corteza entorrinal y zona CA 1 del hipocampo), así como en todo el manto neocortical que son asientos iniciales de las lesiones de la enfermedad de Alzheimer -. Se ha encontrado asociación entre esta enfermedad y los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del gen del receptor estrogénico α , pero este hallazgo no ha sido confirmado posteriormente al estudiar la actividad de transcripción de este gen⁶⁵.

La edad de la menarquia se correlaciona negativamente con la de inicio del Alzheimer. Al contrario la edad de la menopausia se correlaciona en el tiempo con el inicio antes o después de los primeros síntomas de la enfermedad. Había aquí un argumento indirecto de que el momento de producción o privación estrogénica puede influir la expresión clínica del proceso. La edad de la menarquia y sobre todo de la menopausia podrían ser marcadores clínicos de la influencia de los esteroides ováricos sobre la función cerebral. El estudio británico de una cohorte nacida en 1946 reveló que las puntuaciones en los tests cognitivos en edades juveniles eran tanto más altas cuanto más tarde ocurría la menopausia⁷. La menopausia quirúrgica disminuye la función cognitiva⁶⁶.

Desde 1994 se han publicado diversos trabajos que abogan a favor de que la THS reduce el riesgo de padecer Alzheimer al tiempo que insisten en que la mayor incidencia de esta enfermedad en las mujeres puede ser debido a la deficiencia estrogénica posmenopáusica⁶⁷⁻⁶⁹. Todos ellos son criticables metodológicamente por su diseño y hay que tener en cautela en la interpretación de estos resultados⁷⁰⁻⁷². Se han realizado otros estudios longitudinales que, en gran parte, corrigen los defectos metodológicos de los anteriores al recoger más correctamente los datos concernientes al uso de THS y hacer un seguimiento prospectivo de la muestra antes del desarrollo de la enfermedad y tras la aparición de la misma⁷³. En el estudio italiano se defiende la hipótesis de que la THS reduce la prevalencia en mujeres posmenopáusicas⁷⁴ lo mismo que en el estudio epidemiológico de Rochester, Minnesota⁷⁵. El estudio holandés defiende el papel neuroprotector de la THS⁷⁶.

La investigación futura será la clave para encontrar respuestas inequívocas a la cuestión. El Congreso de los EE.UU había indicado que se iniciara un ensayo clínico a gran escala sobre la prevención primaria de osteoporosis, enfermedad cardiovascular y deficiencias vitamínicas en mujeres posmeno-

páusicas mayores de 64 años. Era la Women's Health Initiative (WHI), auspiciada por los NIH desde 1993, que debería tener una duración de 8 a 12 años y cuyos resultados se esperaban conocer después del 2005. El reclutamiento de 164.500 mujeres procedentes de 40 centros finalizó en octubre de 1998. Se iba acompar el efecto de una dieta baja en grasas, la administración de THS (diferenciando el uso de estrógeno solo o combinado con progestágeno) o de calcio y vitamina D. Un subgrupo de 8000 mujeres de la rama que reciba THS formaba un estudio aparte (WHI-Memory Impairment). El objetivo era conocer la incidencia de demencia de todo tipo tras el uso de esa terapéutica⁷⁷. La hipótesis que se pretendía probar era si la THS prevenía o retrasaba la aparición de demencia en comparación con placebo. Lamentablemente, toda la Women Health Initiative quedó suspendida en 2002 por las autoridades debido a que se comprobó aumento de incidencia de cáncer de mama, útero y ovario en las mujeres que estaban recibiendo estrógenos.

Han comenzado los ensayos con moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERMS) para conocer su efecto sobre la cognición y prevención de demencia. El raloxifeno está siendo investigado, dentro de un ensayo diseñado para conocer su efecto sobre la osteoporosis, para ver si además influye o no sobre la aparición de deterioro cognitivo asociado a la edad o sobre la incidencia de demencia⁶⁴.

Los datos a favor de la relación hormonas sexuales/Alzheimer se siguen acumulando. Recientemente se ha encontrado que, las concentraciones séricas de amiloide beta son paralelas a las de 17-beta-estradiol y testosterona como si estas hormonas controlaran los niveles circulantes de tal péptido⁷⁸ cuya elevación indica inicio de la enfermedad⁷⁹. La pérdida de memoria asociada a la edad puede explicarse si la menopausia o la andropausia se acompañan de un aumento de amiloide beta en suero y líquido cefalorraquídeo en el sentido de que tal síntoma sería ya pródrómo de enfermedad de Alzheimer. Los niveles bajos de estradiol E₂ endógeno en personas mayores se correlacionan con deterioro cognitivo, conductual y funcional⁸⁰.

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Hipertensión arterial

Aunque algunos recientes trabajos aseguran que la hipertensión después de los 65 años no está asociada con el Alzheimer ni tiene efectos nocivos sobre la memoria, lenguaje o función cognitiva general⁸¹, la mayoría de los investigadores están convencidos de que en la patogenia del Alzheimer influye

de forma decisiva la patología vascular y la hipertensión arterial en particular⁸². Los argumentos, de índole epidemiológica, experimental, hemodinámica y hemorreológica, neuroimagen e investigaciones clínicas, dan base racional a la coexistencia y posible interacción entre accidente cerebrovascular y enfermedad de Alzheimer⁸³. Toda esa documentación puede consultarse en otro lugar⁸⁴.

La hipertensión produce desmielinización isquémica⁸⁵ y pérdida neuronal hipocámpica⁸⁶. Sin caer en la exageración de algunos de considerar el Alzheimer como un trastorno vascular⁸⁷, hay que considerar que la conexión entre hipertensión arterial y Alzheimer puede estar en la angiopatía amiloide que éste produce^{88,89}. ¿Significa todo esto que en la mayoría de los casos de Alzheimer coexisten lesiones vasculares y que ambas patologías tienen un efecto sumativo sobre la intensidad de la demencia? Es más que probable. Un paso firme a favor de que la mayoría de los viejos dementes tienen demencia mixta (Alzheimer y vascular, lo que ya comienza a llamarse demencia neurovascular) lo acaba de dar el Neuropathology Group of the Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study (MRC CFAS). Este grupo ha publicado sus primeros resultados³⁹. Se trata de un estudio prospectivo multicéntrico de prevalencia e incidencia de demencia en personas mayores de 70 años, de tipo poblacional con base comunitaria, en Inglaterra y País de Gales, cuya estrategia fundamental es realizar necropsias de las personas que fallecen con y sin demencia, estimada mediante el MMSE y examen geriátrico automatizado (AGE-CAT). Los cerebros fueron estudiados siguiendo el protocolo CERAD con ligeras modificaciones (consultar página web www.mrc-bsu.cam.ac.uk/cfas), desconociendo los patólogos los datos clínicos. En este artículo se han presentado los datos necrópsicos procedentes de los primeros 209 sujetos (109 controles sin demencia y 100 dementes). Lo primero que resaltan los autores es la alta frecuencia de lesiones cerebrales propias de demencia sin que tal condición existiera clínicamente en vida. Lo segundo a destacar es la importancia y la frecuencia que tienen la enfermedad cerebrovascular y la angiopatía en la expresión clínica de demencia. Lo tercero llamativo de este estudio es la estrecha relación del estado de demencia con la patología propia de Alzheimer sobre todo con los ovillos neurofibrilares neocorticales. El cuarto hallazgo importante es que en el análisis multivariante no se demuestra que haya un dato neuropatológico concreto que tenga valor alguno para diagnosticar un caso individual. No obstante, el modelo que los autores han construido, basado en la interacción de varios tipos de lesiones, permite diagnosticar correctamente la existencia clínica de demencia en tres de cada cuatro casos. Pero, a su vez, uno de cada cuatro sujetos controles no dementes reúne patología suficiente como para pensar que estaba demente antes de

morir. La lesión vascular que más se encontró en el estudio MRC CFAS fue la patología de pequeño vaso. Aparecía en el 69% de todos los casos, en general asociada a otras lesiones vasculares corticales y subcorticales.

También el estudio MRC CFAS ha prestado atención a la importancia de la angiopatía congófila propia del Alzheimer aportando datos a favor de que hay una interacción entre cambios vasculares y patología del alzheimeriana en la patogenia de la demencia. El hallazgo más importante de este trabajo ha sido que, a igualdad de patología vascular, hay un solapamiento grande de patología entre los dementes y los no dementes, lo cual hace reflexionar sobre la validez de hipótesis simples en la patogenia del Alzheimer y reconsiderar la validez de esquemas diagnósticos. En suma, los hallazgos de este trabajo desafían la aplicación y la operatividad de los criterios diagnósticos convencionales y vigentes de demencia.

En el estudio británico que se comenta, la patología cerebrovascular apareció con más frecuencia que la de enfermedad de Alzheimer. Existían infartos corticales y subcorticales más frecuentes en los dementes que en los no dementes aunque la diferencia fue sólo de un 13% (46% en los dementes y 33% en los no dementes).

En el Nun Study⁹⁰ la enfermedad cerebrovascular, sobre todo los infartos lacunares en ganglios basales, aumentaba sustancialmente el riesgo de padecer demencia en las personas que cumplían criterios neuropatológicos de Alzheimer.

A efectos de lo que constituye este epígrafe la cuestión es: si se controlan los factores de riesgo vascular ¿se reduce la prevalencia e incidencia de demencia/Alzheimer? En los últimos años son cada vez más los trabajos en los que se muestra cómo el tratamiento de la hipertensión arterial reduce la aparición de deterioro cognitivo y el riesgo de demencia⁹¹.

El estudio poblacional finlandés (FINMONICA) demostró que la hipertensión arterial sistólica a los 40-50 años predecía deterioro cognitivo 20-30 años más tarde confirmando hallazgos anteriores (Honolulu-Asia Aging Study, Uppsala Study, Framingham Study y National Heart, Lung, and Blood Institute Twin Study)⁹².

Colesterol

Tras un estudio clínico adecuado y la determinación de lípidos séricos en 106 pacientes demenciados, ingresados en Jewish Home and Hospital, en Manhattan, genotipados para APOE, se les realizó necropsia que demostró que 84 de ellos padecían Alzheimer y 22 no. El colesterol total y el LDL-

colesterol estaba francamente elevado en todo el grupo Alzheimer con correlación positiva entre sus cifras y la intensidad de las lesiones⁹³. Esta relación no varió tras el ajuste con respecto al status e4. Esto lleva a considerar que puede haber factores asociados con el metabolismo lipídico en la génesis o desarrollo del Alzheimer. Una cifra de colesterol elevado ($\geq 6,5$ mmol/L) hacia los 50 años es factor de riesgo de leve deterioro cognitivo hacia los 70, asociada o no a hipertensión arterial⁹⁴.

El conocimiento creciente de las cuatro enfermedades monogénicas que elevan las LDL plasmáticas trae consigo un cierto optimismo de encontrar nuevas vías para aumentar la actividad de los LDLR y disminuir las LDL plasmáticas⁹⁵. Entretanto hay que seguir las orientaciones vigentes sobre programas de detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos^{96,97}.

Hay datos no publicados aún (Breteler, comunicación personal), encontrados en el estudio de Rotterdam que no aprecian relación entre ingesta de grasas y riesgo de demencia.

Uso de estatinas

A lo largo del año 2000 se fueron publicando diversos trabajos que invocaban efectos terapéuticos de las estatinas independientes de su inhibición enzimática crucial de la síntesis de colesterol. Se les adjudicó, entre otros, un efecto inmunomodulador,⁹⁸ y anti-inflamatorio⁹⁹, etc. Era lógico que, conociendo el papel tan cualificado que tiene la respuesta inmuno-inflamatorio en la patogenia en el Alzheimer, se estudiara la relación de su prevalencia con el uso de estatinas. Se encontró una menor prevalencia en sujetos que recibían lovastatina y pravastatina¹⁰⁰. Igualmente se comprobó que las personas de 50 años o más que tomaban estatinas tenían un riesgo considerablemente menor de desarrollar demencia independientemente de la presencia o ausencia de hiperlipemia no tratada o de la administración de agentes hipolipemiantes distintos de las estatinas¹⁰. Esto ha dado lugar a réplicas¹⁰¹ pero el uso de las estatinas en neurología ha cobrado nuevos impulsos^{102,103}.

Obesidad

Típicamente se asocia la obesidad con enfermedad cardiovascular e ictus. Pero comienza a demostrarse su relación también con deterioro cognitivo y demencia¹⁰⁴. La reducción de la ingesta calórica puede prevenir la aparición

de Alzheimer¹⁰⁵. Se sabe bien que esta disminución en la ingesta es la medida más demostrada para retrasar el envejecimiento cerebral causado por genes que codifican respuestas de estrés inflamatorio y generación de radicales libres. La longevidad genéticamente determinada depende de un receptor de insulina lo que une fenotipo (restricción calórica), con genotipo^{106,107}. Las altas dosis de salicilatos corrigen la hiperglucemia, hiperinsulinemia y dislipemia en roedores obesos lo que puede implicar un proceso inflamatorio en la patogenia de la resistencia a la insulina en la obesidad y en la diabetes mellitus tipo 2¹⁰⁸.

Cirugía coronaria

Ya en 1997 se dijo que las personas que se sometían a cirugía aortocoronaria presentaban un año después deterioro cognitivo¹⁰⁹. Esta observación se hizo más firme en estudios a cinco años en los que se vió que el deterioro progresaba con el tiempo¹¹⁰. Más recientemente se ha observado que tal evolución no varía en relación a que se haya utilizado o no con circulación extracorpórea¹¹¹. Esto contradice las pretendidas ventajas de intervenir sin bomba extracorpórea para prevenir complicaciones cognitivas posteriores¹¹².

HOMOCISTEINA, FOLATO Y VITAMINAS B

El interés por los problemas clínicos asociados a niveles altos del aminoácido sulfurado homocisteína y su posible tratamiento mediante terapéutica vitamínica ha crecido enormemente tras las investigaciones de la pasada década y ha llegado a la opinión pública interesada en cuidar su alimentación con regímenes multivitamínicos. La homocisteína es hoy un aminoácido bastante famoso, como dicen Carmel y Jacobsen en el prefacio del documentado libro que han publicado sobre las implicaciones médicas, nutritivas y metodológicas de la homocisteína para la salud y en diversas enfermedades¹¹³. La determinación de homocisteína sanguínea es una medida de la deficiencia funcional de folato¹¹⁴. Está ya bien documentado que una ligera hiperhomocisteinemia se asocia a enfermedad vascular coronaria, cerebral y periférica, enfermedad renal, demencia y Alzheimer, defectos del tubo neural y a otros procesos. Tal es el entusiasmo en los Estados Unidos por el papel preventivo del ácido fólico de defectos de cierre del tubo neural y de enfermedad vascular que la FDA autorizó en 1998 el enriquecimiento de los cereales de la alimentación con 140 microgramos de ácido fólico por 100 gra-

mos junto con 0,5 mg de cianocobalamina. La misma tendencia existe en el Reino Unido. Estos suplementos alimenticios pueden ser coste-efectivos si se demuestra que previenen la enfermedad coronaria y no se diga el Alzheimer¹¹⁵.

Teddy Reynolds, neurólogo que ha dedicado más de 30 años al estudio de las relaciones del ácido fólico y el sistema nervioso, ha revisado la cuestión en relación con el envejecimiento¹¹⁶. Aparece claro que con la edad va disminuyendo la concentración de folato en suero y en líquido cefalorraquídeo y va aumentando el nivel de la homocisteína plasmática. Todo esto contribuye a la aparente alta incidencia de deficiencia vitamínica en la población geriátrica. Las bajas concentraciones de folato en suero, eritrocitos y líquido cefalorraquídeo y el aumento de la cifra de homocisteinemia está unido a la aparición de depresión y demencia entre los viejos. Pijoán et al. han dado a conocer la influencia del sexo y la edad en la distribución de valores plasmáticos de homocisteína en sujetos sanos encontrando que la función renal y las cifras plasmáticas de folato son determinantes de tal distribución¹¹⁷. El incremento de edad, género masculino y defecto de función renal producen hiperhomocisteína¹¹⁸.

Metabolismo

La homocisteína, descubierta en 1932, tiene un papel crucial en el metabolismo intermediario de la metionina, uno de los aminoácidos esenciales. Actúa tanto en el proceso de trans-sulfuración, que forma cisteína y extrae sulfuro, como en el de remetilación de homocisteína a metionina que conserva el esqueleto carbónico¹¹³. Al aclararse el metabolismo de la metionina y de los diversos cofactores que intervienen en el mismo, se comprobó que la elevación de homocisteína podía ser reflejo de deficiencias de diversas vitaminas importantes en esta vía metabólica como la B₆, cobalamina y ácido fólico. La función renal es esencial en la homeostasis de homocisteína.

Recuerda muy bien Ciriaco Aguirre¹¹⁹ la necesidad de medir, al mismo tiempo que la B₁₂, sus metabolitos (ácido metilmalónico y homocisteína total). Si tales metabolitos son normales, se puede descartar casi con un 100% de certeza el déficit de B₁₂. El aumento de metilmalónico, en personas con función renal normal, es altamente específico de carencia de cobalamina especialmente si se normaliza el cabo de 7-15 días de tratamiento vitamínico.

La hiperhomocisteinemia es multicausal: deficiencia de folatos, genotipo, función renal o tiroidea, etc. Si es secundaria al déficit de B₁₂, también se normaliza pronto tras tratamiento. La hiperhomocisteinemia es neurotóxica¹¹³.

Homocisteína y Alzheimer

En 1990 se observó por primera vez una relación directa entre hiperhomocisteinemia y demencia degenerativa primaria¹²⁰. El nivel de homocisteína sérica está elevado en enfermos de Alzheimer tanto con diagnóstico clínico de esta afección¹²¹ como verificado neuropatológicamente, lo que se hizo en el estudio OPTIMA de Oxford¹²².

Sin embargo, son necesarios más estudios longitudinales para determinar la relevancia de la hiperhomocisteinemia como factor de riesgo de Alzheimer, inicio de los síntomas y progresión de la enfermedad. Lo mismo que para aclarar si hay diferencias entre géneros puesto que hay datos a favor de que la concentración de homocisteína aumenta en las mujeres postmenopáusicas¹²³.

Por otra parte, hay mucha bibliografía que afirma que los enfermos de Alzheimer tienen con frecuencia deficiencia de B₁₂ y bajos niveles de folato, que son altamente interdependientes. Los resultados en general son contradictorios tanto en la estimación de estas deficiencias como en la valoración del beneficio que puede traer corregirlas con suplementos.

En un estudio realizado en Suecia se encontró que, efectivamente, los niveles séricos bajos de B₁₂ y folato constituyen un factor de riesgo de demencia en general y de Alzheimer en particular por lo que se recomienda vigilar estos parámetros (siempre ambos a la vez) en las personas mayores y corregirlos si es necesario para prevenir la aparición de esta enfermedad¹²⁴.

En 2002 se han publicado los resultados del sempiterno y fecundísimo estudio de Framingham que son muy convicentes para demostrar que la hiperhomocisteína plasmática es un marcado factor de riesgo independiente de demencia y Alzheimer⁸. La cohorte fue estudiada durante ocho años. Un incremento de 5 micromol/L aumentaba el riesgo en un 40%. Este efecto de notable magnitud fue independiente de los niveles de vitamina B. El dato es importante porque está a favor de que el efecto se debe a una acción directa del exceso de homocisteína. En una nota que acompaña a este trabajo¹²⁵ se hacen cábalas sobre el mecanismo de este efecto. La homocisteína produce microangiopatía cerebral, disfunción endotelial y estrés oxidativo así como, y esto es lo importante, aumenta la producción de amiloide beta e induce apoptosis. El ácido homocisteico puede originar excitotoxicidad por estimulación de los receptores NMDA. Se repite la recomendación de añadir a la dieta grandes dosis de folato, cobalamina y piridoxina para reducir la homocisteína plasmática y de poner en marcha los debidos ensayos clínicos. Como siempre, hay voces discrepantes que indican que la homocisteína no tiene una acción directa y que su influencia sobre el Alzheimer es a través de enfermedad vascular concomitante^{126, 127}.

En una discusión en directo en la web www.alzforum.com en marzo-abril de 2002 se concluyó que la homocisteína aumenta la vulnerabilidad de las neuronas hipocámpicas al daño excitotóxico, oxidativo y a la toxicidad del amiloide

Vitaminas B para los enfermos con Alzheimer

Parece de sentido común que, si se detectan deficiencias de vitaminas B, debe procederse a su normalización. Lo mismo puede repetirse para normalizar las cifras de homocisteína administrando tales vitaminas. En cuanto a prescribirlas preventivamente siendo normales los datos analíticos, dentro de la medicina basada en la evidencia, hay que esperar resultados de ensayos clínicos pertinentes.

El problema de diagnosticar Alzheimer en personas con deficiencia de cobalamina y folatos es espinoso¹²¹ y está más allá del contenido de este trabajo.

La administración de folatos ha de hacerse durante meses. Su penetración a través de la barrera hematoencefálica es limitada por lo que los tratamientos breves pueden no ser efectivos¹¹⁶. Reynolds prefiere las dosis bajas porque las altas no están exentas de riesgo (si hay deficiencia de B₁₂ o crisis epilépticas). No está aclarado qué formulación de folato es la mejor, si ácido fólico, ácido folínico o metilfolato que es el transportador para que llegue al cerebro. En cuanto a la B₁₂, se ha sugerido que las formulaciones farmacéuticas actuales no son las mejores para que pueda ser utilizada por las neuronas y que es mejor administrar glutationilcobalamina¹²⁸.

HÁBITOS DE VIDA

Tabaco

Un meta-análisis realizado en 1991 concluyó que los fumadores de tabaco tenían un riesgo reducido en un 20% de tener Alzheimer⁷. Este dato alborozó a la masa de fumadores. Tal asociación inversa era biológicamente pausable porque la nicotina aumenta la densidad de los receptores nicotínicos cerebrales lo que podría ser beneficioso ante esta enfermedad. Se ha de distinguir entre nicotina y tabaco. Quizá la primera llegue a tener valor terapéutico usada fuera del humo del tabaco. Sin embargo, los estudios de casos incidentes de EURODEM han demostrado sólidamente que el ser fumador en el

momento de inicio de los síntomas de Alzheimer o el haberlo sido con anterioridad multiplica por cinco el riesgo de padecer esta afección¹⁸. Este riesgo puede estar modulado por el alelo e4¹²⁹. El consumo de tabaco es un factor de riesgo de deterioro cognitivo lo cual es una motivación más para promover el abandono del mismo¹³⁰.

Alcohol

Un estudio francés, concretamente en la región de la Dordoña y Garona, encontró que el vino tinto de Burdeos protegía frente a la enfermedad de Alzheimer¹³¹. El riesgo se reducía un 80% entre los bebedores moderados frente a los abstinentes. Se achacó este efecto protector a las propiedades antioxidantes del vino tinto y no al alcohol. En otro estudio londinense se comparó la influencia entre consumidores moderados de alcohol (1-3 cañas de cerveza, 1-3 vasos de vino o una pequeña copa de licor al día) frente a los abstemios y bebedores fuertes. En los moderados no se asociaba la costumbre con deterioro cognitivo aunque tampoco era claro su papel protector¹³⁰.

Dentro de los datos del Framingham Heart Study se apreció que las mujeres que bebían moderadamente (2-4 bebidas al día) tenían mejor rendimiento cognitivo que los abstemios¹³². En los hombres este rendimiento cognitivo superior ocurría entre los que ingerían 4-8 bebidas/día¹³⁶. Estos datos se confirmaron en análisis prospectivo de una historia de consumo de alcohol de 24 años. Esta misma asociación positiva entre consumo moderado de alcohol y superior rendimiento cognitivo en edades mayores se comprobó en el Honolulu-Asia Aging Study¹³³ y en el estudio de Rotterdam¹³⁴. Así puede afirmarse que el consumo moderado de alcohol cuando menos no es un factor de riesgo de Alzheimer y que su uso social puede ser beneficioso para el enfermo y su cuidador en las fases iniciales de la enfermedad¹³⁵.

Alimentación, dieta y antioxidantes

Hace años se prestó mucha atención al papel del aluminio en el origen del Alzheimer. Al día de hoy solo cabe afirmar que es prudente mantener el agua potable tan baja en aluminio como sea posible⁷.

La influencia de la dieta alimenticia sobre la incidencia de Alzheimer ha sido muy poco estudiada. Lo más popular es conceder a la combinación de vitamina E, vitamina C, ácido lipoico, coenzima Q10 y glutatión- ingeridas apropiada y conjuntamente – acciones protectoras contra el Alzheimer por

su acción antioxidante¹³⁶. El papel beneficioso de la vitamina E de los alimentos o de los suplementos sigue en auge¹³⁷. Igualmente la prensa divulgadora recomienda el consumo frecuente de manzanas, fresas, zanahorias, frutos cítricos, brocoli, coliflor, berza, frutas secas, ajo, cebolla, verduras, uvas, tomates, calabazas, etc como poderosos agentes antioxidantes. En tiempos se habló del papel protector del consumo del pescado⁷. Ahora se bromea con tomar espinacas, como Popeye, para reparar el DNA envejecido¹³⁸.

Está bien asentada la base racional biológica del uso de multioxidantes en la prevención y tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas¹³⁹. La terapéutica con antioxidantes se recomienda en varias enfermedades neurológicas. MJ Engelhart y col del Erasmus Medical Center en Rotterdam comunicaron en el Congreso Mundial de Alzheimer 2000, celebrado en Washington D.C., que los vegetales ricos en antioxidantes ingeridos en grandes cantidades junto con vitaminas E y C reducían sensiblemente el riesgo de padecer Alzheimer.

No obstante, también aquí hay necesidad de realizar estudios epidemiológicos prospectivos adecuados, para aclarar el papel de la alimentación en el riesgo o protección de Alzheimer. Otro tanto cabe decir de la llamada dieta mediterránea en la prevención de Alzheimer.

Actitud existencial

Como ya se dijo, desde hace 15 años discurre el Nun Study de la mano de David Snowdon, epidemiólogo de la Universidad de Kentucky. Tras estudiar las 678 religiosas en siete conventos, Snowdon y su equipo han comprobado que: el ácido fólico previene el Alzheimer; que, cuando se asocia a infartos lacunares en ganglios basales, tiene mayor intensidad de síntomas; y que la capacidad lingüística juvenil se asocia con menor riesgo de Alzheimer^{140,141}. Ahora ha publicado que las monjas que mostraban más emociones positivas en sus autobiografías y en su vida mantienen mejor su lenguaje, movilidad y memoria en edades nonagenarias y centenarias¹⁴². Snowdon cree que la espiritualidad de estas monjas, la que ellas le enseñaron a él cuando era niño, ayuda a conseguir un envejecimiento saludable sin Alzheimer.

Actividades intelectuales, sociales y físicas

Se había estudiado mucho la influencia de la educación o nivel de estudios sobre la aparición o no de Alzheimer en la vejez pero, entre los factores de

estilo y hábitos de vida, no se había prestado atención hasta hace un año a la participación de cada sujeto en actividades pasivas, intelectuales y físicas durante su vida adulta. Al investigar estas actividades en términos de variedad e intensidad, pudo comprobarse que a mayor actividad correspondía menos riesgo de padecer Alzheimer¹⁴³. Más específicamente, el participar en tareas recreativas reduce el riesgo de padecer esta enfermedad¹⁴⁴ lo que, en parte, ya había comprobado el estudio PAQUID¹⁴⁵. El mecanismo de esta influencia beneficioso ha de estar en relación con las nociones de reserva cerebral y cognitiva¹⁴⁶. Otros autores valoraron la actividad cognitiva de las personas en siete aspectos: ver la televisión, leer periódicos, revistas y libros, jugar a naipes o con fichas, hacer crucigramas u otros puzzles y visitar museos. La frecuente participación en estas actividades cognitivamente estimulantes reduce el riesgo de Alzheimer¹⁴⁷.

Neurogénesis: nuevas neuronas también en el cerebro añoso

Durante toda nuestra vida hay formación de nuevas neuronas (neurogénesis) en el giro dentado del hipocampo, a partir de astrocitos como células madres propias. Esta providencial neurogénesis disminuye muy considerablemente con el envejecimiento. Se ha comprobado en animales que el enriquecimiento ambiental a corto plazo en estímulos físicos y conductuales incrementa el proceso de neurogénesis, y el rendimiento en tests de aprendizaje. Esta respuesta plástica puede ser la explicación del efecto beneficioso de llevar una "vida activa" a que se hacía referencia en el apartado anterior. En ratones viejos de 10 a 20 meses se ha comprobado que la neurogénesis aumenta en hipocampo cinco veces con respecto a controles si viven a largo plazo en tal ambiente enriquecido y que los animales mejoran sensiblemente su aprendizaje, conducta exploratoria y actividad locomotora¹⁴⁸. Estos sensoriales hallazgos son base para promover entre los adultos-mayores vidas activas física y mentalmente y para cuidar la autoestima¹⁴⁹. Quizá este mecanismo reparativo de neurogénesis sea la explicación de la asociación reiteradamente comprobada de que a mayor educación, menos Alzheimer.

Riesgos laborales

No se ha encontrado relación entre un oficio o trabajo determinado y la prevalencia de Alzheimer⁷. Una excepción puede estar en la exposición a campos electromagnéticos: motores eléctricos cerca del cuerpo en el caso de

carpinteros, electricistas, maquinistas y costureras. Los campos electromagnéticos pueden alterar la homeostasis cálcica, que favorece la producción de amiloide beta. Probablemente se estudiará también la influencia de las antenas y aparatos de telefonía móvil.

CONCLUSION

Se puede hacer un intento de síntesis de cuáles son actualmente los factores de riesgo y de protección de enfermedad de Alzheimer. Es lo que se pretende exponer en las tablas 3 y 4, inspiradas en Förstl¹⁵⁰.

Tabla 3

Factores de riesgo de enfermedad de Alzheimer

| GENÉTICOS | DEMOGRÁFICOS | MÉDICOS | EPIFENÓMENOS |
|--|--|--|---|
| APOE e4 Trisomía 21 Otros poliformismos (cromosomas 6,9,10 y12) Historia familiar Sexo femenino Etnia | Edad avanzada Nacionalidad Latitud geográfica Cociente intelectual Nivel educativo Reserva cereral Medio rural Dieta sin antioxidantes Actitud existencial | Depresión Menopausia, andropausia Hipertensión arterial Hipercolesterolemia Hiperhomocisteina Deficiencia vitaminas B Obesidad Tabaquismo | Deterioro cognitivo ligero Imagen cerebral preclínica Marcadores biológicos |

Tabla 4

Factores protectores de enfermedad de Alzheimer

| GENÉTICOS | DEMOGRÁFICOS | MÉDICOS | EPIFENÓMENOS |
|---|--|--|---|
| APOE e2, e3 Otros polimorfismos Factores de riesgo cardiovascular genéticos y ambientales Gerontogenes | Nacionalidad Latitud geográfica Cociente intelectual Nivel educativo Reserva cerebral Medio urbano Dieta con antioxidantes Actitud existencial Alcohol | Menarquía Hormonas sexuales Normalidad de: tensión arterial, colesterolemia, homocisteinemia, B12 y folatos. | Normalidad de memoria en edad avanzada Id. de imagen cerebral Id. de marcadores biológicos. |

¿Cabe hacer recomendaciones prácticas, breves y concretas para eliminar factores de riesgo y promover factores de protección? Garry Small, de la Universidad de California, hacía indicaciones de este tipo a los oyentes de la BBC Radio Four's el 7 de agosto de 2002. Las presento aquí a mi manera:

Haga una alimentación baja en grasas, coma frutas y vegetales antioxidantes y cereales enriquecidos en vitaminas B. Tome un vaso de vino al día.

Participe en actividades recreativas y educativas intelectualmente estimulantes, haga vida social y realice ejercicio físico todos los días.

Aprenda a estimular sus neuronas con técnicas específicas.

Evite el estrés que es enemigo de la memoria.

Controle su tensión arterial, colesterol, homocisteína, ácido fólico, vitamina B₁₂ y azúcar.

Cuando se haga sexagenario y tenga fallos de memoria no lo achaque a su edad. Consulte a su médico.

Bibliografía

1. Mayeux R, Small S. Finding the beginning or predicting the future? *Arch Neurol* 2000; 57: 783-784.
2. Thompson PM, Cannon TD, Narr KL, van Erp T, Poutanen VP, Huttunen M et al. Genetic influences on brain structure. *Nature Neurosciences* 2001;4: 1253-1258.
3. Daffner RK, Scinto LFM. Early diagnosis of Alzheimer's disease. An introduction. En: *Early diagnosis of Alzheimer's disease*. LFM Scinto, KR Daffner (eds) Humana, Totowa 2000, pp 1-27.
4. Martínez Lage JM, Moya M. Factores de riesgo de enfermedad de Alzheimer. En *Alzheimer 2001: teoría y práctica*. JM Martínez Lage, M Moya (eds). Aula Médica, Madrid 2001, pp. 33-58.
5. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiological Review* 2001;81:741-766.
6. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002;297:353-356.
7. Jorm A. Risk factors for Alzheimer's disease. En *Dementia*, second edition. J O'Brien, D Ames, A Burns (editores). London, Arnold 2000, pp 383-390.
8. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476-483.
9. Simons M, Keller P, Dichgans J, Schulz JB. Cholesterol and Alzheimer's disease. Is there a link. *Neurology* 2001;57:1089-1093.
10. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000; 356: 1627-1631.
11. Martínez Lage P, Hachinski V, Martínez Lage JM. Senilidad cerebral evitable: la importancia de eludir las enfermedades cerebrovasculares demenciante. En *Envejecimiento cerebral y Enfermedad*. JM Martínez Lage, V Hachinski (editores). Madrid, Triacastela 2001, pp 351-373.

12. Harman D. Alzheimer's disease: role of aging in pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;959:384-395.
13. Newell KL, Silver MH, Perls TT, Hedley-Whyte ET. What centenarians teach us about clinical neuropathology. En *Envejecimiento cerebral y Enfermedad*. JM Martínez Lage, V Hachinski (editores). Madrid, Triacastela 2001, pp 32-46.
14. Launer L, Hofman A. Frequency and impact of neurologic diseases in the elderly of Europe. *Neurology* 2000; 54 (Suppl 5):S1-S40.
15. Miech RA, Breitner JCS, Zandi PP, Khachaturian AS, Anthony JC et al. Incidence of AD may decline in the early 90s for men, later for women. The Cache County study. *Neurology* 2002;58:209-218).
16. Rocca WA. Dementia, Parkinson's disease and stroke in Europe: a commentary. *Neurology* 2000; 54 (Suppl 5):538-540.
17. Martínez Lage JM. Memoria, vejez y la controvertida etiqueta diagnóstica de leve deterioro cognitivo. En *Alzheimer 2002: teoría y práctica*. JM Martínez Lage, M Berthier (eds). Aula Médica, Madrid 2002, pp. 43-74.
18. Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Lettenneur L, Ott A, Amaducci LA et al. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease. Results from EURODEM pooled analyses. *Neurology* 1999;52:78-84.
19. Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Lettenneur L, Ott A, Amaducci LA et al. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease. Results from EURODEM pooled analyses. *Neurology* 1999;52:78-84.
20. Evans D., Ganguli M, Harris, Kawas C, Larson EB. Women and Alzheimer. *Alzheimer Disease and Related Disorders* 1999;13:187-189.
21. Esler WP, Wolfe MS. Review. A portrait of Alzheimer secretases-new features and familiar faces. *Science* 2001;293:1449-1454.
22. Farrer LA. Intercontinental epidemiology of Alzheimer disease. A global approach to bad gene hunting. *JAMA* 2001; 285:796-798.
23. Hendrie HC, Ogunniyi A, Hall KS, Baiyewu O, Unverzagt FW Gureje O et al Incidence of dementia and Alzheimer disease in 2 communities, Yoruba residing in Ibadan, Nigeria and African American residing in Indianapolis, Indiana. *JAMA* 2001; 285:739-747.
24. Myers AJ, Goate AM. The genetics of late-onset Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurol* 2001;14:433-440
25. Different letters. Incidence of dementia and Alzheimer disease in Nigeria and the United States. *JAMA* 2001;285:2448-2449.
26. Stephenson J. Racial barriers may hamper diagnosis, care of patients with Alzheimer disease. *JAMA* 2001; 286:779-780.
27. Launer LJ, Fraiglioni L, Anderson K, Breteler MMB, Copeland RJM, Dartigues JF et al. Regional differences in the incidence of dementia: EURODEM collaborative analysis. En *Alzheimer's disease and related disorders. Etiology, pathogenesis and therapeutics*. K Iqbal, DF Swaab, B Winblad, HM Wisniewski (editores). Chischester, Jhon Wiley 1999, pp 353-355.
28. Roses A. Sense and susceptibility. *Oddyssey* 1999;5:35-39.
29. Martínez Lage JM. Significado de la variación genética apolipoproteína E en la enfermedad de Alzheimer. *Med Clin (Barc)* 1999; 113:449-451
30. Artiga MJ, Bullido MJ, Frank A. Risk for Alzheimer's disease correlates with trascricional activity of the APOE gen. *Hum Mol Genet* 1998;7:1887-1889.
31. Li Y-J, Scott WK, Hedges DJ, Zhang F, Gaskell PC et al. Age at onset in two common degenerative diseases is genetically controlled. *Am J Hum Genet* 2002;70:985-993.

32. Barber M, Whitehouse PJ. Susceptibility testing for Alzheimer's disease: race for the future. *The Lancet Neurology* 2002;1: 36-37.
33. WR. Snowden DA, Kemper SJ, Mortimer JA, Greiner LH, Wekstein DR, Markesbery L. Linguistic activity in early life and cognitive function and Alzheimer's disease in late life: findings from the Nun Study. *JAMA* 1996;275:528-532.
34. Whalley LJ, Starr JM, Athawes R, Hunter D, Pattle A, Deary IJ. Childhood mental ability and dementia. *Neurology* 2000;55:1455-1459.
35. Lettner L, Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Ott A, Copeland JRM et al. Education and the risk for Alzheimer's disease: sex makes a difference. EURODEM pooled analyses. *Am J Epidemiol* 2000;151:1064-1071.
36. Martínez Lage JM, Martínez-Lage P. Educación, reserva cerebral y factores de riesgo de demencia y enfermedad de Alzheimer. *Med Clin (Barc)* 2001; 116:418-421.
37. Katzman R. Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology* 1993;43:13-20.
38. Del Ser T, Hachinski V, Merskey H, Muñoz DG. An autopsy-verified study of the effect of education on degenerative dementia. *Brain* 1999;122:2309-2319.
39. Neuropathology Group of the Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study (MRC CFAS). Pathological correlates of late-onset dementia in a multicentre, community based population in England and Wales. *Lancet* 2001;357:169-175.
40. Schofield PW, Logroscino G, Andrew HF, Albert S, Stern Y. An association between head circumference and Alzheimer's disease in a population-based study of aging and dementia. *Neurology* 1997;49:30-37.
41. Borestein Graves A, AB, Mortimer JA, Bowen JD, McCormick WC, McCurry SM et al. Head circumference and incident Alzheimer's disease. Modification by apolipoprotein E. *Neurology* 2001;57:1453-1460.
42. Gurwitz et al. Gurwitz D, Chapman J, Weizman A. Head circumference and incident Alzheimer's disease: Modification by apolipoprotein E. *Letter. Neurology* 2002;58:1440.
43. Schofield P, Mosesson RE, Stern Y, Mayeux R. The age at onset of Alzheimer's disease and an intracranial area measurement. A relationship. *Arch. Neurol.* 1995;52:189-195.
44. Coffey CE, Saxton JA, Ratcliff G, Bryan RN, Lucke JF. Relation of education to brain size in normal aging. Implications for the reserve hypothesis. *Neurology* 1999;53:189-196.
45. Jenkins R, Fox NC, Rossor AM, Harvey RJ, Rossor MN. Intracranial volume and Alzheimer disease. Evidence against the cerebral reserve hypothesis. *Arch Neurol* 2000;57:220-224.
46. MacLulich AMJ, Fergusson KJ, Deary IJ, Seckl JR, Starr JM, Wardlaw JM. Intracranial capacity and brain volumes are associated with cognition in healthy elderly people men. *Neurology* 2002;58:169-174.
47. Edland SD, Xu Y, Plevak M, O'Brien PO, Tangalos EG et al. Total intracranial volume: normative values and lack of association with Alzheimer's disease. *Neurology* 2002;58:272-274.
48. Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, Khachaturian ZS. Alzheimer's disease. Etiologies, pathophysiology, cognitive reserve and treatment opportunities. *Neurology* 1998;51 (Sup 1):2-17.
49. Drachman D. Hat size, brain size, intelligence, and dementia. *Neurology* 2002;58:156-157.
50. Thompson PM, Cannon TD, Narr KL, van Erp T, Poutanen V-P et al. Genetic influences on brain structures. *Nature Neurosciences* 2001;4:1253-1258.
51. Mocerim VM, Kukull WA, Emanuel I, Van Belle G, Larson EB. Early life risks factors and the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2000;54:415-420.
52. Hall KS, Gao S, Unverzagt FW, Hendrie HC. Low education and childhood rural residence. Risk for Alzheimer's disease in African Americans. *Neurology* 2000;54:95-99.

53. Ganguli M, Dodge HH, Chen P, Belle S, DeKosky ST. Ten year incidence of dementia in a rural elderly US community population. The MOVIES Project. *Neurology* 2000;54:1109-1116.
54. Helmer C, Damon D, Letenneur L, Fabrigoule C, Barberger-Gateau P, Lafont S et al. Marital status and risk of Alzheimer's disease. A French population-based cohort study. *Neurology* 1999;53:1953-1958.
55. Fratiglioni L, Wang HX, Ericsson K, Maytan M, Winblad B. Influence of social network on occurrence of dementia: a community-based longitudinal study. *Lancet* 2000;355:1315-1319.
56. Dawson DV, Welsh-Bohmer KA, Siegler IC. Premorbid personality predicts level of rated personality change in patients with Alzheimer disease. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* 2000;14:11-19.
57. Conde JL. Factores de riesgo y personalidad premórbida en la enfermedad de Alzheimer: un estudio preliminar. *Rev. Mult Gerontol* 1999;9:200-207.
58. Rabins P, Pearlson G. Depression-induced cognitive impairment. En *Dementia* (second edition) J O'Brien, D Ames, A Burns. London, Arnold 2000, pp 789-798
59. Mehta KM, Ott A, Kalmijn S, Slooter AJC, Van Duijn CM, Hofman A et al. Head trauma and risk of dementia and Alzheimer's disease. The Rotterdam Study. *Neurology* 1999;53:1959-1962.
60. Muñoz D. Neuroinflamación en la enfermedad de Alzheimer. En *Alzheimer XXI: Ciencia y Sociedad*. JM Martínez Lage, ZS Khachaturian (editores). Barcelona, Masson 2001, pp 175-186.
61. Jones RW. Inflammation and Alzheimer's disease. *Lancet* 2001;358:436-437 (ver también páginas 455 y 461).
62. Stewart WF, Kawas C, Corrada M, Metter EJ. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurology* 1997;48:626-632.
63. Aisen P, Schafer K, Grundman M, Farlow J, Sano M. Results of a multicenter trial of rofecoxib and naproxen in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2002;23 1S: S429,1569.
64. Martínez Lage JM, Oliveros-Cid A, Martínez-Lage P. Estrógenos y enfermedad de Alzheimer: bases, promesas y realidades. *Med Clin (Barc)* 2000;114:747-755.
65. Maruyama H, Toji H, Harrington CR, Sasaki K, Izumi Y, Ohuma T et al. Lack of an association of estrogen receptor a gene polymorphism and transcriptional activity with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000;57:236-240.
66. Farrat A-K, Khedr EM, Abdel-Aleem H. Effect of surgical menopause on cognitive functions. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002;13:193-198.
67. Paganini Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer disease in women. *Am J Epidemiol* 1994;3:256-261.
68. Brenner DE, Kukull WA, Stergachis A, Van Belle G, Bowen JD, McCormick WC et al. Postmenopausal estrogen replacement therapy and the risk of Alzheimer's disease: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol* 1994;3 262-267.
69. Henderson VW, Paganini-Hill A, Emanuel CK, Dunn ME, Buckwalter J. Estrogen replacement therapy in older women. *Arch Neurol* 1994;51:896-900.
70. Mortel K, Mayor J. Lack of postmenopausal estrogen therapy and the risk of dementia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1995;7:334-337.
71. Paganini Hill A, Henderson VW. Estrogen replacement therapy and risk of Alzheimer's disease. *Arch Intern Med* 1996;19:2213-2217.
72. Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B et al. Effect of estrogen during menopause on risk and age of onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 1996;9025:429-432.

73. Kawas C, Resnick S, Morrison A, Brookmeyer R, Corrada M, Zonderman A et al. A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology* 1997;6:1517-1521.
74. Baldereschi M, Di Carlo A, Lepore V, Braco L, Maggi S, Grigoletto F et al. Estrogen-replacement therapy and Alzheimer's disease in the Italian Longitudinal Study on Aging. *Neurology* 1998;4:996-1002.
75. Waring SC, Rocca WA, Petersen RC, O'Brien PC, Tangalos EG, Kokmen E. Postmenopausal estrogen replacement therapy and risk of AD: a population-based study. *Neurology* 1999;53:965-970.
76. Slioter AJ, Bronzoba J, Witterman JCM, Van Broeckhoven C, Hofman A, Van Duijn CM. Estrogen use and early onset Alzheimer's disease: a population-based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:779-781.
77. Shumaker SA, Rebousin BA, Espeland MA, Rapp SR, McBee WL, Dailey M et al. The Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS). *Control Clin Trials* 1998;6:640-621.
78. Gandy S, Almeida OP, Fonte J. Chemical andropause and amyloid- β peptide. *JAMA* 2001;295:2195-2196.
79. Mayeux R, Tang MX, Jacobs DM. Plasma amyloid- β peptide and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999;46:412-416.
80. Senanarong V, Vannasaeng S, Pongvarin N, Ploybutr , Udompuntharak S et al. Endogenous estradiol in elderly individuals. *Arch Neurol* 2002;59:385-389.
81. Posner HB, Tang M-X, Luchsinger J, Lantigua R, Stern Y, Mayeux R. The relationship of hypertension in the elderly to AD, vascular dementia, and cognitive function. *Neurology* 2002;58:1175_1181
82. De la Torre J, Hachinski V, editores. Cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1997;826.
83. De la Torre J, Hachinski V, editores. Cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1997;826.
84. Martínez Lage JM, Martínez -Lage P, Moya M. Hacia la prevención de la enfermedad de Alzheimer. En *Envejecimiento cerebral y Enfermedad*. JM Martínez Lage, V Hachinski (editores) Madrid, Triacastela 2001, pp 157-173.
85. Tuhim S, Levine SR. Hypertension + MRI changes = impaired cognition. *Editorial. J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72:690-691.
86. Kril JJ, Harding AJ, Halliday GM. Patients with vascular dementia due to microvascular pathology have significant hippocampal neuronal loss. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72:747-751.
87. De la Torre J. Alzheimer disease as a vascular disorder. Nosological evidence. *Stroke* 2002;33:1152-1162.
88. Vinters HV. Cerebral amyloid angiopathy: a microvascular link between parenchymal and vascular dementia. *Ann Neurol* 2001;49:691-692.
89. Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy and dementia. Two amyloids are worse than one. *Neurology* 2002;58:1587-1588.
90. Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer's disease. *JAMA* 1997;277:813-7.
91. Forette F, Seux ML, Staedden JA. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled systolic hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet* 1998;352:1347-51.
92. Kivipelto M, Helkala EL, Hänninen T, Laasko MP, Hallikainen M, Alhainen K et al. Midlife vascular risk factors and late -life mild cognitive impairment. A population-based study. *Neurology* 2001;56:1683-1689.

93. Lesser G, Kandiah K, Linbow LS, Likourezos A, Breuner B, Marin D et al. Elevated serum total and LDL cholesterol in very old patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12:138-145.
94. Kipiveltto M, Helkala EL, Laakso MO, Hanninen T, Hallikainen M, Alhainen K, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *British Medical Journal*, 2001;322(7300):1447-51.
95. Goldstein JL, Brown MS. The cholesterol quartet. *Science* 2001;292:1310-1312.
96. Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive Summary of the Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA* 2001;285:2486-2497.
97. Lauer MS, Fontanarosa PB. Updated Guidelines for cholesterol management. *JAMA* 2001;285:2508-2509.
98. Kwar B, Mulhaupt F, Myit S, Macht F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nature Medicine* 2000;6:1399-1402.
99. Chawla A, Barak Y, Nagy L, Liao D, Tontonoz P, Evans RM. PPAR-gamma dependent and independent affects macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nature Medicine* 2001;7:48-52.
100. Wolozin B, Kellman W, Rousseau P, celesia GG, Siegel G. Decrease prevalence of alzheimer disease associated with 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000;57:1439-1443.
101. Muldoon MF. Report on statins and dementia disputed. *Arch. Neurol* 2001;58:1166-1167.
102. Cucchiara B, Kasner SE. Use od statins in CNS disorders. *J. Neurol Sci* 2001;187:87.
103. Golomb BA. Statins and dementia. *Arch Neurol* 2001;58:1169-1170.
104. Trakas K. Oh PI, Singh S, Risebrough N, Shear NH. The health status of obese individuals in Canada. *Internat J Obes Realt Metab Disord*. 2001 May;25(5):662-668.
105. Lee CK, Weindruch R, Prolla TA. Gene expression profile of the ageing brain in mice. *Nature Genetic*. 2000 Jul;25(3):294-297.
106. Gems D. Ageing. Yeast longevity gene goes public. *Nature* 2001 mar 8;410:154-155.
107. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in Caenorhabditis elegans. *Nature* 2001;410:227.
108. Young M, Kostantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li Z-W, Kain M, Shoelson SE. Reversal obesity and diet induced insulin resistance with salycitates or targeted disruption of IKKbeta. *Science* 2001;293:1673-1677.
109. McKhann GM, Goldsborough MA, Borowicz et al. Cognitive outcome after coronary artery by-pass: one-year prospective study. *Ann Thorac Surg* 1997;63:510-515.
110. Selnes OA, Royall RM, Grega Ma, Borowicz LM, Quaskey S, McKhann GM. Cognitive changes 5 years after coronary by-pass grafting: is there evidence of late decline? *Arch Neurol* 2001;58:598-604.
111. Van Dijk D, Jansen EWL, Hijman R, Nierich AP, Diephuis JC et al. Cognitive outcome after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery. A randomized trial. *JAMA* 2002;287:1405-1412.
112. Kark DB, Newman MF. Protecting the brain in coronary artery bypass graft surgery. *JAMA* 2002;287:1448-1450.
113. Carmel R, Jacobsen DW. Homocysteine in health and disease. Cambridge, Cambridge 2001, pp.510.
114. Reynolds EH. Benefits and risks of folic acid to the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72:567-571.

115. Tice JA, Ross E, Coxson PG, Rosenberg I, Weistein MG, Hunink MGM et al. Cost-effectiveness of vitamin therapy to lower plasma homocysteine levels for the prevention of coronary heart disease. Effect of grain fortification and beyond. *JAMA* 2001;286:936-943.
116. Reynolds EH. Folic acid, ageing, and dementia. *BMJ* 2002;324:1512-1515.
117. Pijoán JI, Irigoien I, Aguirre C.). Intervalos de referencia poblacional y determinantes de la homocisteína plasmática. *Med Clin (Barc)* 2001;117:487-491.
118. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;345:407-413.
119. Aguirre C. Reflexiones acerca del diagnóstico de la carencia de vitamina B12. *Med Clin (Barc)* 2001;116:457-458.
121. McCaddon A, Davies G, Hudson P, Tandy S, Cattell H. Total serum homocysteine in senile dementia of Alzheimer type. *Int J Geriatr Psychol* 1998;13:235-239.
122. McCaddon A, Hudson P, Davies G, Hughes A, Williams JHH, Wilkinson C. Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12:309-313.
123. Clarke R, Smith AD, Jost K, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12 and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1449-1455.
124. Fernández-Miranda C, de la Calle M, Bris JM, Muelas M, Gómez P, Díaz-Rubio P. Influencia de la menopausia en la concentración plasmática de homocisteína. *Med Clin (Barc)* 2001;116:206-208.
125. Wang H-X, Wahlin A, Basun H, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Vitamin B₁₂ and folate in relation to development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001;56:1188-1194.
126. Loscalzo J. Homocysteine and dementia. *N Engl J Med* 2002;346:466-468.
127. Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. Relation between plasma homocysteine and Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002;14:7-12.
128. Miller JW, Green R, Mungas DM, Reed BR, Jagust WJ. Homocysteine, vitamin B₆, and vascular disease in AD patients. *Neurology* 2002;58:1471-1475.
129. McCaddon A, Regland B, Hudson P, Davies G. Functional vitamin B₁₂ deficiency and Alzheimer disease. *Neurology* 2002;58:1395-1399.
130. Caermelli D, Swan GE, Reed T, Schellenger GD, Christian JC. The effect of Apolipoprotein e4 in the relationships of smoking and drinking to cognitive function. *Neuroepidemiology* 1999;18:125-133.
131. Cervilla JA, Prince M, Man A. Smoking, drinking and incident cognitive impairment: a cohort community based study included in the Gospel Oak project. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68:622-626.
132. Orgogozo JM, Dartigues JF, Lafont S. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in Bordeaux area. *Rev Neurologique* 1997;153:185-192.
133. Elias PK, Elias MF, D'Agostino RB, Silbershatz H, Wolf PA. Alcohol consumption and cognitive performance in the Framingham Heart Study. *American J. Epidemiol* 1999;150:580-589.
134. Galanis DJ, Joseph C, Masaki KH, Petrovich H. A longitudinal study of drinking and cognitive performance in elderly Japanese American men: The Honolulu-Asia Aging Study. *Am J Public Health* 2000;90:1254-1259.
135. Ruitenberg A, van Swieten JC, Witterman JCM, Metha KM, van Duijn C et al. Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study. *Lancet* 2002;359:281-286.
136. Wiscott R, Kopera-Frye K, Seifert L. Possible consequences of social drinking in the early stages of Alzheimer disease. *Geriatric Nurs* 2001;22:100-105.

137. Prasad KW, Cole WC, Hovland AR, Prasad KC, Nahremi P, Kumar B et al. Multiple antioxidants in the prevention and treatment of neurodegenerative disease: analysis of biologic rationale. *Curr Opin Neurol* 1999;12:761-770.
138. Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Wilson RS. Vitamin E and cognitive decline in older persons. *Arch Neurol* 2002;59:1125-1132.
139. Packer L, Colman C. *The antioxidant miracle*. New York: John Wiley; 1999.
140. Delanty N, Dichter MA. Antioxidant therapy in neurologic disease. *Arch Neurol* 2000;57:1265-1270.
141. Snowdon D. *Aging with grace*. Kentucky, Bantam, 2001.
142. Snowdon D. *678 monjas y un científico*. Planeta, Barcelona, 2001.
143. Danner DD, Snowdon DA, Friesen WV. Positive emotions in early life and longevity: findings from the nun study. *The Journal of Personality and Social Psychology*, may 2001.
144. Friedland RP, Fritsch T, Smyth KA, Koss E, Lerner AJ et al. Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:3440-3445.
145. Scarmeas N, Levy G, Tang M-X, Manly J, Stern Y. Influence of leisure activity on the incidence of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001;57:2236-2242.
146. Fabrigoule C, Letenneur L, Dartigues JF, Zarrouk M, Commenges D et al. Social and leisure activities and risk of dementia: a prospective longitudinal study. *J AM Geriatr Soc* 1995;43:485-490.
147. Mortimer, JA. Brain reserve and the clinical expression of Alzheimer's disease. *Geriatrics* 1997;52:550-553.
148. Wilson, RS, Mendes CF, Barnes LL, Schneider JA, Evans DA, Bennett DA. Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA* 2002;287:742-747.
149. Kempermann G, Gast D, Gage FH. Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Ann Neurol* 2002;52:135-143.
150. McKhann GM. New neurons for aging brains. *Ann Neurol* 2002;52:133-134.
151. Förstl H. What is Alzheimer's disease? En *Dementia*, second edition. J. O'Brien, D Ames, A Burns (editores). London, Arnold 2000, pp 371-382.

CAPÍTULO 3

LAS PROTEÍNAS IMPLICADAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JESÚS ÁVILA DE GRADO

*Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa"
(CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

El número de personas centenarias a principios del siglo XXI ha aumentado por un factor superior a 10 comparado con la cifra que había a principio del siglo XX en los países del llamado primer mundo. El alargamiento de la vida no ha permitido que en los años añadidos se mantenga la misma calidad de vida, apareciendo fundamentalmente procesos neurodegenerativos que se hacen más evidentes a partir de los 70 años.

El más frecuente entre los procesos neurodegenerativos es la enfermedad de Alzheimer (EA), una enfermedad con una incidencia nula en personas menores de 20 años, pero con un porcentaje igual o mayor al 20% en la población mayor de 80 años. Existe pues una obvia relación entre envejecimiento y la aparición de algunos procesos neurodegenerativos. Dado que el envejecimiento es el mayor factor de riesgo para procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, se ha procedido al análisis de cuales son los posibles factores que pueden acortar o alargar la vida de un organismo. La estrategia utilizada ha sido la búsqueda en organismos muy simples como la levadura, la mosca o el gusano, de genes cuya alteración afecta a la duración de la vida de un organismo. Entre estos genes estaban algunos relacionados con el proceso de señalización celular promovido por la insulina o factores relacionados (Helfand & Inouye, 2002; Kenyon, 2001; Partridge & Gems, 2002; Strauss, 2002; T. Perls, 2002), que sugiere que la alimentación con dietas

energéticamente bajas facilite el alargamiento de la vida no sólo de los organismos simples anteriormente indicados sino también, como se ha observado, de los ratones. Por lo que extrapolando a lo largo de la escala filogenética es posible que también este proceso de señalización celular (relacionado con procesos de fosforilación de proteínas) puede afectar a los seres humanos.

Otro proceso que tiene lugar en procesos de envejecimiento celular es el estrés oxidativo (Perry *et al.*, 2001). Por ello se ha observado que la sobreexpresión de proteínas como la superóxido dismutasa (que está implicada en la desaparición de agentes oxidantes tóxicos, como el radical superóxido), facilitan la extensión de la vida de un organismo.

La enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es, por ser más común, el paradigma de los procesos neurodegenerativos que se relacionan con el envejecimiento. La enfermedad de Alzheimer es una demencia senil que primero se manifiesta en el lóbulo temporal, en la zona del giro dentado del hipocampo, lo que se ha relacionado con problemas de memoria a corto plazo; posteriormente afecta al lóbulo parietal afectando a procesos de visualización espacial o a pérdida del conocimiento de hábitos y usos; y finalmente al lóbulo frontal, que puede dar lugar a problemas de comportamiento (Wilhelmsen, 1999). Entre otras consecuencias, se produce muerte neuronal en estas zonas del cerebro. Curiosamente el lóbulo occipital no suele afectarse, habiéndose sugerido que esto es debido a la expresión de una proteína denominada humanina (Hashimoto *et al.*, 2001), en las neuronas localizadas en dicho lóbulo. Sin embargo, esta sugerencia necesita de posteriores análisis.

Estructuras aberrantes presentes en los pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer

Aparte de la muerte neuronal, la característica más relevante de la enfermedad de Alzheimer es la aparición en los cerebros de los pacientes con la enfermedad, de dos tipos de estructuras aberrantes: las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. La enfermedad de Alzheimer es una demencia senil y se ha relacionado con la aparición de placas seniles con la edad del paciente, mientras que la demencia parece estar más relacionada con la aparición de los ovillos neurofibrilares (Arriagada *et al.*, 1992). A partir de autopsias de pacientes se aislaron las placas seniles y se analizó su composición proteica

(Glennner & Wong, 1984) observándose que su componente fundamental es un péptido, el péptido beta amiloide (Glennner & Wong, 1984). Este péptido es un fragmento de una proteína denominada proteína precursora del amiloide (APP) (Masters *et al.*, 1985).

Las proteínas implicadas en la enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza, pues, por la presencia de dos estructuras aberrantes que se encuentran en el cerebro de los pacientes: las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. Las placas seniles son depósitos extracelulares formados por el péptido b-amiloide (Ab); mientras que los ovillos neurofibrilares son, fundamentalmente, depósitos intracelulares (formados por filamentos helicoidales emparejados o PHF) en los que la proteína asociada a los microtúbulos conocida como tau (τ), en forma modificada, es el componente mayoritario. La presencia de placas seniles aumenta con la edad del paciente, mientras que el grado de demencia se correlaciona fundamentalmente con la muerte de neuronas en localizaciones específicas, y con el número de ovillos neurofibrilares.

La APP es una proteína anclada en la membrana, con una región extracelular, otra intramembranal y otra citoplásmica. En condiciones normales permanece unida a la membrana o puede cortarse liberando la región extracelular. Este corte se produce mediante una enzima, la secretasa α . En condiciones patológicas la proteína puede cortarse en otros lugares; en una zona de la región extracelular más lejana del sitio de anclaje a la membrana y en una zona de la región intramembranal. Las enzimas que realizan estos cortes se denominan secretasa β y secretasa γ . El corte de la proteína APP por estas dos secretasas β y γ da lugar a la formación de Ab, que puede autoagregarse para formar estructuras como las placas seniles. Estos agregados, se hipotetiza pueden ser tóxicos para las neuronas. Esta hipótesis se conoce como la de la cascada del amiloide. Existe otra hipótesis que sugiere que la enfermedad de Alzheimer se debe a una degeneración del citoesqueleto neuronal.

Se conoce la localización de las mutaciones en APP que dan lugar a la enfermedad de Alzheimer. Estas mutaciones se concentran en las zonas adyacentes a los sitios de corte de APP por α , β y γ secretasa (Haas, 1999). En el primer caso las mutaciones resultan en una inhibición del corte de APP por la secretasa α . En los otros casos las mutaciones dan lugar al proceso inverso, es decir, facilitan el corte de APP por las secretasas β y γ . Se han descrito dos tipos de secretasas β . La investigación en la industria farmacéutica se centra en la búsqueda de inhibidores específicos para estas enzimas. Por otra parte, se ha sugerido que la secretasa α puede ser una metalo-proteasa.

La función de la proteína APP en un individuo normal parece ser la de facilitar la supervivencia neuronal. Utilizando un modelo de ratón, se ha observado que la carencia de APP no afecta a la viabilidad del ratón. Sin embargo, no pasa lo mismo con las proteínas PS-1 y PS-2 (las otras proteínas involucradas en la EA de tipo familiar). En este caso la carencia de cualquiera de estas proteínas hace inviable el desarrollo de un ratón.

Otras proteínas relacionadas con la EA son la PS-1 y la PS-2. La PS-1 y la PS-2 son también proteínas de membrana (del tipo serpentina) (Fraser *et al.*, 2000); recientemente se ha descrito que su función está relacionada, directa o indirectamente, mediante la interacción de otras proteínas como la nicas-trina, con la actividad de la secretasa γ (De Strooper *et al.*, 1998). Esta secretasa o proteasa está siendo estudiada más detalladamente y parece estar implicada no sólo en el proceso patológico de la enfermedad de Alzheimer sino en procesos normales del desarrollo neuronal. Adicionalmente, se ha involucrado a la PS-1 y a la PS-2 en procesos de muerte programada (apoptosis) o en procesos relacionados con el plegamiento aberrante de las proteínas, en el retículo endoplásmico (Katayama *et al.*, 1999).

Como se ha indicado previamente el número de casos de enfermedad de Alzheimer de origen familiar y por ello relacionados directamente con APP, PS-1 y PS-2, es muy bajo. Esencialmente casi todos los casos de enfermedad de Alzheimer son de origen esporádico. Se han descrito algunos factores de riesgo genético que pueden facilitar el desarrollo de la enfermedad. El factor de riesgo más analizado es el gen de la apolipoproteína E (APOE) (Saunders *et al.*, 2000). La ApoE es un transportador del colesterol. El colesterol se localiza en determinadas regiones de la membrana celular, en dónde se llevan a cabo procesos de transducción de señal, En estas regiones puede anclarse también la proteína APP.

Se ha descrito que el colesterol puede disminuir la actividad secretasa α y aumentar las actividades secretasas β y γ . Como consecuencia de ello, puede aumentar la proporción de $A\beta$. El alelo $\epsilon 4$ del gen APOE es un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer (Polvikoski *et al.*, 1995). Esta isoforma de ApoE difiere en su modo de asociación con $A\beta$ si se compara con los otros dos alelos $\epsilon 2$ y $\epsilon 3$ y su asociación con $A\beta$. Aunque ha habido ciertas discrepancias sobre el modo de unión de las diversas formas de ApoE con $A\beta$, se sugiere que las correspondientes a los alelos $\epsilon 2$ y $\epsilon 3$ pueden prevenir el efecto tóxico de $A\beta$, algo que no sucede con ApoE $\epsilon 4$.

Por otra parte, en condiciones patológicas, como en la enfermedad de Alzheimer, se ha descrito el desarrollo de agregados de tau en localizaciones específicas a lo largo del desarrollo de la enfermedad. Se ha sugerido que la agregación aberrante comienza en las regiones transentorrinal y entorrinal,

observándose posteriormente en el hipocampo y en las células de la corteza (Braak & Braak, 1997; Delacourte *et al.*, 1999). Estas regiones son las afectadas en la EA, como se ha indicado anteriormente.

Por otra parte, se ha relacionado la muerte neuronal con la presencia de ovillos neurofibrilares, habiéndose sugerido que las neuronas que los contienen degeneran y lisan, originando la aparición de ovillos neurofibrilares en el espacio extracelular. De este modo se ha establecido que en el hipocampo, zona dañada primordialmente en la enfermedad de Alzheimer, existe una correlación inversa entre el número de ovillos neurofibrilares en el espacio extracelular y el número de neuronas no dañadas (Bondareff *et al.*, 1989; Braak *et al.*, 1994). Los ovillos neurofibrilares se localizan preferentemente en aquellas zonas donde se produce una disfunción neuronal, mientras que la localización de las placas seniles es mucho más general e inespecífica dentro del cerebro de los pacientes. Este hecho, junto a la reciente descripción de diferentes procesos neurodegenerativos (demencias, sin placas seniles) en los que se han detectado agregados aberrantes de tau (tauopatías) (Flament *et al.*, 1991; Goedert, 1999; Ksiezak-Reding *et al.*, 1994), indican la importancia del estudio de la proteína tau en tales procesos cuyo paradigma es la enfermedad de Alzheimer. Este estudio se está facilitando por el uso de ratones transgénicos que expresan el gen tau con las mutaciones observadas en alguna tauopatía como la FTDP-17 (Lim *et al.*, 2001).

La tau es una proteína que está asociada a los microtúbulos, cuya función, en condiciones normales, es estabilizar dichos microtúbulos (Caceres & Kosik, 1990; Drubin & Kirschner, 1986). Esta proteína se expresa de un único gen (localizado en células humanas en el cromosoma 17) (Andreadis *et al.*, 1992) que, tras transcribirse su RNA, puede procesarse de diferentes maneras y originar seis isoformas diferentes en las neuronas del sistema nervioso central (SNC) (Goedert *et al.*, 1989), existiendo otra isoforma, de mayor tamaño, en las neuronas del sistema nervioso periférico (SNP) (Couchie *et al.*, 1992). Las seis isoformas de tau del SNC difieren entre sí por la presencia o ausencia de unas regiones situadas cerca del extremo aminoterminal y de una región (similar a otras tres regiones existentes en todas las isoformas), localizada cerca del extremo carboxilo terminal, y que está implicada (como las regiones similares a ella) en la interacción con microtúbulos (Goedert *et al.*, 1989).

Si bien la función de tau es estabilizar los microtúbulos evitando su despolimerización, cabe señalar que se han aislado ratones mutantes que carecen de dicha proteína y se ha observado que son perfectamente viables y similares a los ratones no mutados (Harada *et al.*, 1994). Este hecho indica que la función que desempeña la proteína tau pueden realizarla en el ratón mutante otras proteínas con una función similar. La disfunción de tau en la

enfermedad de Alzheimer origina una menor interacción de la proteína con microtúbulos y una agregación aberrante de la proteína. La hiperfosforilación de tau parece estar más relacionada con la menor interacción de la proteína con microtúbulos (Mandelkow & Mandelkow, 1998), discutiéndose si tiene o no una función en la agregación de tau, aunque recientemente se ha observado que se facilita la agregación (Perez *et al.*, 2000).

Hay fundamentalmente dos tipos de quinasas que modifican a tau: las dirigidas y las no dirigidas por prolina (Morishima-Kawashima *et al.*, 1995). Dentro del primer grupo, dos quinasas, GSK3 y cdk5 (también denominadas tau-quinasa I y tau-quinasa II) (Ishiguro *et al.*, 1993), tienen un papel relevante en la fosforilación de tau. La fosforilación de tau por GSK3 ha sido analizada por varios grupos diferentes (Lovestone *et al.*, 1994; Muñoz-Montañón *et al.*, 1997); fundamentalmente, GSK3 modifica residuos localizados en las regiones adyacentes a la zona de tau implicada en la unión a microtúbulos. Por otra parte, GSK3 interacciona con otras proteínas, como presenilina 1 (PS1), que tienen un papel importante en la iniciación de la patología que se observa en la enfermedad (Anderton, 1999). Además, la caracterización de un ratón GSK3 transgénico ha indicado que la sobreexpresión de GSK3 da lugar a alguna de las características patológicas que se encuentran en la EA (Lucas *et al.*, 2001). La proteína cdk5 también fosforila tau, y esta fosforilación puede facilitar la posterior modificación de tau por GSK3. La fosforilación por cdk5 puede estar regulada por una proteína, p35, que en la enfermedad de Alzheimer puede sufrir un corte proteolítico que la desregula y la hace permanecer activa, pudiendo fosforilar aberrantemente a tau (Patrick *et al.*, 1999). Además de la cdk5, otra proteína relacionada, cdk1 (conocida inicialmente como cdc2), que se encuentra fundamentalmente en células en proliferación, puede activarse anormalmente (Lu *et al.*, 1999) en la enfermedad de Alzheimer, fosforilando la proteína tau en el residuo 231. Como consecuencia de dicha fosforilación, puede producirse un cambio conformacional en tau que afecte su interacción con los microtúbulos. La interacción de tau (fosforilado con cdc2) con una proteína con actividad chaperona, Pin-1, revierte dicho cambio conformacional (Johnson, 1992) facilitando de nuevo la interacción de tau con microtubulos.

Para conocer si la proteína tau es el verdadero armazón de los PHF que forman los ovillos neurofibrilares, hace tiempo se estudió si tau era capaz de polimerizar *in vitro* para producir filamentos. El resultado obtenido fue positivo (Montejo de Garcini *et al.*, 1988) y posteriores experimentos demostraron que tau sin ningún tipo de modificaciones era capaz también de ensamblarse en filamentos similares a los PHF (Crowther *et al.*, 1994; Wille *et al.*, 1992). Sin embargo, la concentración requerida de tau para ensamblarse

in vitro era muy elevada, por lo que se analizó si la presencia de otras moléculas favorecerían su polimerización. Entre estas posible moléculas se probaron aquellas que se encuentran asociadas a los ovillos neurofibrilares como, por ejemplo, los glucosaminoglicanos sulfatados (GAGs), como heparina (Perry *et al.*, 1991). Los estudios de polimerización in vitro de tau con GAGs indicaron que estas moléculas facilitaban su ensamblaje (Arrasate *et al.*, 1997; Goedert *et al.*, 1996; Perez *et al.*, 1996), posiblemente debido al carácter aniónico de estas moléculas (Kampers *et al.*, 1996; Wilson & Binder, 1997). Estas moléculas GAG podrían ensamblar los polímeros de tau una vez muerta y lisada una neurona, permitiendo que tau (una proteína citoplásmica) interacciona con GAG (moléculas de la matriz extracelular). Adicionalmente se ha sugerido que otras moléculas como los compuestos resultantes de la oxidación lipídica podrían también facilitar el ensamblaje de tau.

Así pues en la enfermedad de Alzheimer parece jugar un importante papel por una parte el péptido amiloide y aquellas proteínas que le generan y facilitan su agregación, y por otra parte, la proteína tau es un componente fundamental, teniendo gran importancia aquellas proteínas que la modifican y aquellas moléculas que permiten su agregación. La posible relación entre el péptido amiloide y la proteína tau se indica en la Figura 1.

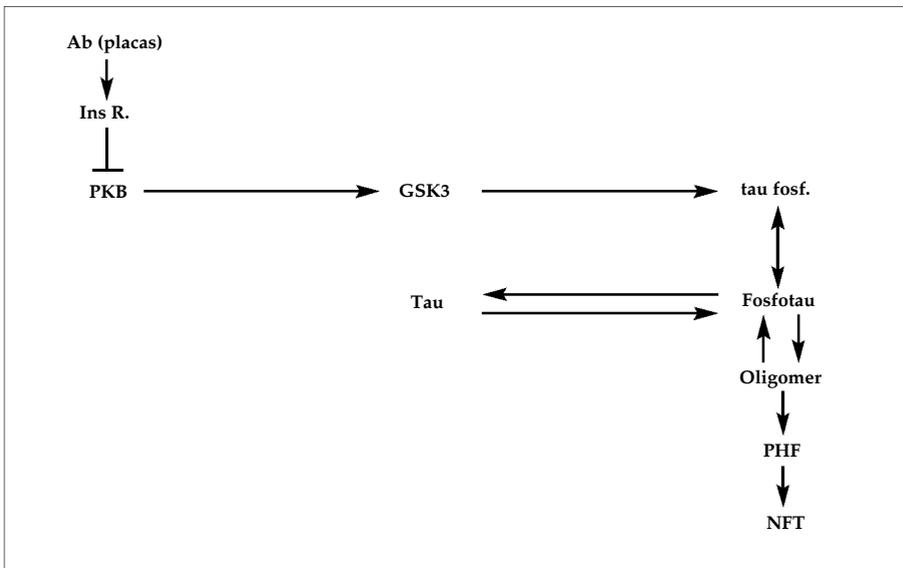


Figura 1

Posible mecanismo que sugiere la implicación primero de Aβ y después de tau en la formación de ovillos neurofibrilares (NFT) relacionados con la demencia en EA.

Bibliografía

- Anderton, B. H. (1999). Alzheimer's disease: clues from flies and worms. *Curr. Biol* 9, R106-109.
- Andreadis, A., Brown, W. M. & Kosik, K. S. (1992). Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry* 31, 10626-10633.
- Arrasate, M., Pérez, M., Valpuesta, J. M. & Avila, J. (1997). Role of glycosaminoglycans in determining the helicity of paired helical filaments. *Am. J. Pathol.* 151, 1115-1122.
- Arriagada, P. V., Growdon, J. H., Hedley-Whyte, E. T. & Hyman, B. T. (1992). Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42, 631-639.
- Bondareff, W., Mountjoy, C. Q., Roth, M. & Hauser, D. L. (1989). Neurofibrillary degeneration and neuronal loss in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 10, 709-715.
- Braak, E., Braak, H. & Mandelkow, E. M. (1994). A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol* 87, 554-567.
- Braak, H. & Braak, E. (1997). Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol. Aging* 18, 351-357.
- Caceres, A. & Kosik, K. S. (1990). Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. *Nature* 343, 461-463.
- Couchie, D., Mavilia, C., Georgieff, I. S., Liem, R. K., Shelanski, M. L. & Nuñez, J. (1992). Primary structure of high molecular weight tau present in the peripheral nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 4378-4381.
- Crowther, R. A., Olesen, O. F., Smith, M. J., Jakes, R. & Goedert, M. (1994). Assembly of Alzheimer-like filaments from full-length tau protein. *FEBS Lett.* 337, 135-138.
- De Strooper, B., Saftig, P., Craessaerts, K., Vanderstichele, H., Guhde, G., Annaert, W., Von Figura, K. & Van Leuven, F. (1998). Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* 391, 387-390.
- Delacourte, A., David, J. P., Sergeant, N., Buee, L., Wattez, A., Vermersch, P., Ghoszali, F., Fallet-Bianco, C., Pasquier, F., Lebert, F., Petit, H. & Di Menza, C. (1999). The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52, 1158-1165.
- Drubin, D. G. & Kirschner, M. W. (1986). Tau protein function in living cells. *J. Cell. Biol.* 103, 2739-2746.
- Flament, S., Delacourte, A., Verny, M., Hauw, J. J. & Javoy-Agid, F. (1991). Abnormal Tau proteins in progressive supranuclear palsy. Similarities and differences with the neurofibrillary degeneration of the Alzheimer type. *Acta Neuropathol.* 81, 591-596.
- Fraser, P. E., Yang, D. S., Yu, G., Levesque, L., Nishimura, M., Arawaka, S., Serpell, L. C., Rogueva, E. & George-Hyslop, S. (2000). Presenilin structure, function and role in Alzheimer disease. *Biochem. Biophys. Acta* 1502, 1-15.
- Glenner, G. G. & Wong, C. W. (1984). Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120, 885-890.
- Goedert, M. (1999). Filamentous nerve cell inclusions in neurodegenerative diseases: tauopathies and alpha-synucleinopathies. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci* 354, 1101-1118.
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D. & Crowther, R. A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3, 519-526.

- Goedert, M., Jakes, R., Spillantini, M. G., Hasegawa, M., Smith, M. J. & Crowther, R. A. (1996). Assembly of microtubule-associated protein tau into Alzheimer-like filaments induced by sulphated glycosaminoglycans. *Nature* 383, 550-553.
- Haas, C. (1999). *Molecular Biology of Alzheimer's disease*. Newark, NJ: Gordon & Breach.
- Harada, A., Oguchi, K., Okabe, S., Kuno, J., Terada, S., Ohshima, T., Sato-Yoshitake, R., Takei, Y., Noda, T. & Hirokawa, N. (1994). Altered microtubule organization in small-calibre axons of mice lacking tau protein. *Nature* 369, 488-491.
- Hashimoto, Y., Niikura, T., Tajima, H., Yasukawa, T., Sudo, H., Ito, Y., Kita, Y., Kawasumi, M., Kouyama, K., Doyu, M., Sobue, G., Koide, T., Tsuji, S., Lang, J., Kurokawa, K. & Nishimoto, I. (2001). A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 6336-6341.
- Helfand, S. L. & Inouye, S. K. (2002). Rejuvenating views of the ageing process. *Nat Rev Genet* 3, 149-153.
- Ishiguro, K., Shiratsuchi, A., Sato, S., Omori, A., Arioka, M., Kobayashi, S., Uchida, T. & Imahori, K. (1993). Glycogen synthase kinase 3 beta is identical to tau protein kinase I generating several epitopes of paired helical filaments. *FEBS Lett.* 325, 167-172.
- Johnson, G. V. (1992). Differential phosphorylation of tau by cyclic AMP-dependent protein kinase and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II: metabolic and functional consequences. *J. Neurochem.* 59, 2056-2062.
- Kampers, T., Friedhoff, P., Biernat, J., Mandelkow, E. M. & Mandelkow, E. (1996). RNA stimulates aggregation of microtubule-associated protein tau into Alzheimer-like paired helical filaments. *FEBS Lett.* 399, 344-349.
- Katayama, T., Imaizumi, K., Sato, N., Miyoshi, K., Kudo, T., Hitomi, J., Morihara, T., Yoneda, T., Gomi, F., Mori, Y., Nakano, Y., Takeda, J., Tsuda, T., Itoyama, Y., Murayama, O., Takashima, A., St George-Hyslop, P., Takeda, M. & Tohyama, M. (1999). Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nature Cell. Biol.* 1, 479-485.
- Kenyon, C. (2001). A conserved regulatory system for aging. *Cell* 105, 165-168.
- Ksiezak-Reding, H., Morgan, K., Mattiace, L. A., Davies, P., Liu, W. K., Yen, S. H., Weidenheim, K. & Dickson, D. W. (1994). Ultrastructure and biochemical composition of paired helical filaments in corticobasal degeneration. *Am J Pathol* 145, 1496-1508.
- Lim, F., Hernandez, F., Lucas, J. J., Gomez-Ramos, P., Moran, M. A. & Avila, J. (2001). FTDP-17 mutations in tau transgenic mice provoke lysosomal abnormalities and Tau filaments in forebrain. *Mol Cell Neurosci* 18, 702-714.
- Lovestone, S., Reynolds, C. H., Latimer, D., Davis, D. R., Anderton, B. H., Gallo, J. M., Hanger, D., Mulot, S., Marquardt, B., Stabel, S., Woodget, J. R. & Miller, C. R. (1994). Alzheimer's disease-like phosphorylation of the microtubule-associated protein tau by glycogen synthase kinase-3 in transfected mammalian cells. *Curr. Biol* 4, 1077-1086.
- Lu, P. J., Wulf, G., Zhou, X. Z., Davies, P. & Lu, K. P. (1999). The prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein. *Nature* 399, 784-788.
- Lucas, J. J., Hernandez, F., Gomez-Ramos, P., Moran, M. A., Hen, R. & Avila, J. (2001). Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *Embo J* 20, 27-39.
- Mandelkow, E. M. & Mandelkow, E. (1998). Tau in Alzheimer's disease. *Trends Cell. Biol* 8, 425-427.
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L. & Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 4245-4249.

- Montejo de Garcini, E., Carrascosa, J. L., Correias, I., Nieto, A. & Avila, J. (1988). Tau factor polymers are similar to paired helical filaments of Alzheimer's disease. *FEBS Lett.* 236, 150-154.
- Morishima-Kawashima, M., Hasegawa, M., Takio, K., Suzuki, M., Yoshida, H., Titani, K. & Ihara, Y. (1995). Proline-directed and non-proline-directed phosphorylation of PHF-tau. *J. Biol. Chem.* 270, 823-829.
- Muñoz-Montaño, J. R., Moreno, F. J., Avila, J. & Díaz-Nido, J. (1997). Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 411, 183-188.
- Partridge, L. & Gems, D. (2002). Mechanisms of ageing: public or private? *Nat Rev Genet* 3, 165-175.
- Patrick, G. N., Zukerberg, L., Nikolic, M., de la Monte, S., Dikkes, P. & Tsai, L. H. (1999). Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 402, 615-622.
- Perez, M., Valpuesta, J. M., Medina, M., Montejo de Garcini, E. & Avila, J. (1996). Polymerization of tau into filaments in the presence of heparin: the minimal sequence required for tau-tau interaction. *J Neurochem* 67, 1183-1190.
- Perez, M., Cuadros, R., Smith, M. A., Perry, G. & Avila, J. (2000). Phosphorylated, but not native, tau protein assembles following reaction with the lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal. *FEBS Lett* 486, 270-274.
- Perry, G., Avila, J., Espey, M. G., Wink, D. A., Atwood, C. S. & Smith, M. A. (2001). Biochemistry of neurodegeneration. *Science* 291, 595-597.
- Perry, G., Siedlak, S. L., Richey, P., Kawai, M., Cras, P., Kalaria, R. N., Galloway, P. G., Scardina, J. M., Cordell, B., Greenberg, B. D., Ledbetter, S. R. & Gambetti, P. (1991). Association of heparan sulfate proteoglycan with the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 11, 3679-3683.
- Polvikoski, T., Sulkava, R., Haltia, M., Kainulainen, K., Vuorio, A., Verkkoniemi, A., Niinisto, L., Halonen, P. & Kontula, K. (1995). Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of beta-amyloid protein. *N. Engl. J. Med.* 333, 1242-1247.
- Saunders, A. M., Trowers, M. K., Shimkets, R. A., Blakemore, S., Crowther, D. J., Mansfield, T. A., Wallace, D. M., Strittmatter, W. J. & Roses, A. D. (2000). The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys. Acta* 1502, 85-94.
- Strauss, E. (2002). Aging research. Cancer-stalling system accelerates aging. *Science* 295, 28-29.
- T. Perls, L. K., AA. Pucca (2002). The genetics of aging. *Current Opinion Genetics & Development* 12, 362-369.
- Wilhelmsen, K. C. (1999). The tangled biology of tau. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 7120-7121.
- Wille, H., Drewes, G., Biernat, J., Mandelkow, E. M. & Mandelkow, E. (1992). Alzheimer-like paired helical filaments and antiparallel dimers formed from microtubule-associated protein tau in vitro. *J. Cell. Biol.* 118, 573-584.
- Wilson, D. M. & Binder, L. I. (1997). Free fatty acids stimulate the polymerization of tau and amyloid beta peptides. In vitro evidence for a common effector of pathogenesis in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 150, 2181-2195.

CAPÍTULO 4

DISECCIÓN GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

FERNANDO VALDIVIESO

MARÍA JESÚS BULLIDO

*Departamento de Biología Molecular y Centro de
Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM),
Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

La de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa principal causante de demencia. Las características neuropatológicas principales de la enfermedad de Alzheimer (EA) son: a) la acumulación de depósitos extracelulares denominados placas amiloides o seniles; b) la presencia de degeneraciones neurofibrilares en el interior de las neuronas, constituidas por la proteína del citosqueleto tau hiperfosforilada; y c) la pérdida de neuronas, principalmente en hipocampo y neocortex.¹

Mediante estudios de epidemiología genética se había observado la existencia de agregación familiar y heterogeneidad genética en la EA. Recientemente se ha demostrado que mutaciones en tres genes son responsables de algunos casos de EA genética o monogénica, que se suele presentar antes de los sesenta años de edad, y de manera autosómica dominante. Sin embargo, la enfermedad genética es responsable de un porcentaje pequeño de los casos de Alzheimer. La gran mayoría de los casos son esporádicos o presentan limitada agregación familiar, y suelen ser de aparición tardía. La ausencia de un patrón de herencia mendeliana monogénica indica que la EA tardía es una enfermedad compleja o multifactorial causada por la interacción de los productos de varios genes con factores no genéticos.

Genes causantes de la enfermedad de Alzheimer monogénica

El análisis genético de familias con un fuerte componente hereditario en el desarrollo de la EA ha conducido hasta el momento al descubrimiento de tres loci ligados a EA monogénica (en los cromosomas 21, 14 y 1), y a la identificación de los genes que codifican la proteína precursora del amiloide (APP) en el cromosoma 21, y las presenilinas 1 (PSEN1) en el cromosoma 14 y 2 (PSEN2) en el 1, como los portadores de las mutaciones responsables de la transmisión de la enfermedad (Fig. 1). Estas mutaciones genéticas, descubiertas en la última década, explican la mayor parte de los casos de EA familiar que se transmiten con un patrón de herencia mendeliana autosómico dominante y son de comienzo temprano (antes de los 60 años). La frecuencia de casos que obedecen a mutaciones en cada uno de estos tres genes es distinta. Mientras que las mutaciones en los genes PSEN2 y especialmente en APP son muy infrecuentes, las que aparecen en el gen PSEN1 explican la gran mayoría de casos de EA de inicio precoz con herencia autosómica dominante. Aunque en su conjunto todas estas formas de EA no suponen más de un 1% de la totalidad de casos, su descubrimiento ha resultado muy importante para avanzar en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de la enfermedad².

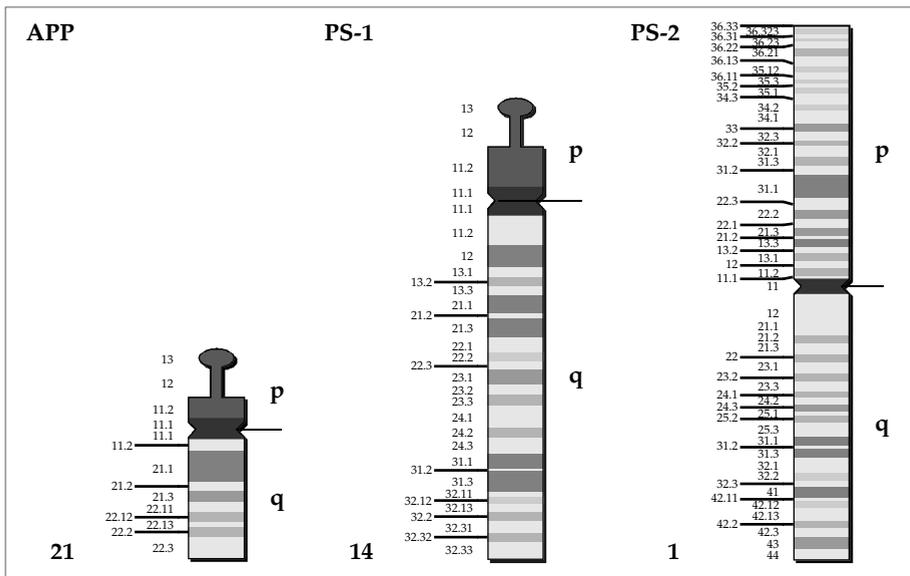


Figura 1

Genes causantes de la enfermedad de Alzheimer.

Dado que hay familias con una forma claramente hereditaria de EA en las que no se detectan mutaciones en ninguno de estos genes, no se descarta que haya más genes con mutaciones causantes de EA, o que haya mutaciones en regiones reguladores de los genes APP y PSEN, que se han explorado en mucha menor profundidad que las codificantes^{3,4}.

Mutaciones en el gen de APP

Glenner y Wong estudiaron la composición química de los depósitos amiloides (placas amiloides o seniles) distribuidos a lo largo del parénquima de los cerebros de pacientes con EA y hallaron que su componente mayoritario era un pequeño péptido (40-42 aminoácidos) que se denominó amiloide beta ($A\beta$)⁵; además, demostraron que las placas estaban también presentes en el cerebro de pacientes con síndrome de Down (trisomía del cromosoma 21), lo que constituyó una de las primeras indicaciones de que podría haber alguna alteración genética en el cromosoma 21 asociado a la EA⁶. La secuenciación del péptido $A\beta$ no mostró homología con proteínas conocidas en la época, pero permitió aislar el gen que codificaba para una proteína de mayor tamaño que contenía en su secuencia al péptido $A\beta$, y que mapeaba en la región q21 del cromosoma⁷⁻¹⁰; la proteína se denominó "proteína precursora del amiloide" o APP (código 104760 de la base de datos de genes humanos OMIM, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>).

Por otra parte, los resultados del estudio genético de familias con un claro componente hereditario de EA resultaban contradictorios ya que, mientras algunos investigadores encontraban ligamiento de la enfermedad con el cromosoma 21, otros no encontraban evidencias del mismo. De hecho, el análisis genético de una gran cantidad de familias llevó al convencimiento de que la EA era genéticamente heterogénea^{11,12}. Finalmente, el descubrimiento de la mutación Ile717Val en el APP¹³ mostró de forma definitiva que, al menos en algunos casos, la EA se heredaba con mutaciones en el APP. Este hallazgo proporcionó un fuerte respaldo a la hipótesis de que el péptido $A\beta$ era un elemento fundamental en la etiopatogenia de la EA. De hecho, la hipótesis de la "cascada amiloide", desarrollada a lo largo de la última década, que establece que la formación y agregación del péptido $A\beta$ es el evento desencadenante de todas las demás alteraciones observadas en la EA^{14,15}, continúa vigente y es la base de la que, probablemente, constituirá la próxima generación de fármacos para la EA. A pesar de su relevancia para la investigación de la patogenia, hoy sabemos que las mutaciones en el APP dan cuenta de muy pocos casos de la enfermedad. Se han descrito una decena de mutacio-

nes claramente ligadas con EA en todo el mundo, por lo que su valor para el diagnóstico es escaso, dada la poca probabilidad de encontrarlas en un paciente o en una familia determinada.

Mutaciones en los genes de PSEN

Partiendo de la evidencia de que en la gran mayoría de los casos familiares de EA el *locus* responsable de la agregación familiar no era el APP, ni se localizaba en el cromosoma 21, en la primera mitad de los años noventa se realizaron numerosos barridos genéticos en familias para localizar otros genes portadores de mutaciones. De hecho, un trabajo anterior al hallazgo de la primera mutación en APP ya había señalado al cromosoma 14 como portador de *loci* ligados a EA familiar¹⁶.

Las evidencias de que el gen principal de la EA monogénica de inicio precoz estaba en el cromosoma 14 se fueron acumulando al estudiar un elevado número de familias, y se publicaron en el año 1992¹⁷⁻²⁰. Tres años después, y tras un barrido sistemático del cromosoma, se aisló el segundo gen portador de mutaciones responsables de EA monogénica²¹: La presenilina 1, desconocida hasta ese momento y que se denominó así por su descubrimiento como causante de EA presenil, está codificada por un gen (PSEN1, OMIM * 104311) que mapea en la región q24.3 del cromosoma 14. La predicción de su estructura secundaria la presenta como una proteína integral de membrana, con ocho dominios transmembrana, y se localiza mayoritariamente en membranas asociadas al retículo endoplásmico. A diferencia del APP, ya se han identificado en la región codificante de este gen más de 80 mutaciones distintas (<http://www.alzforum.org>), además de algunas mutaciones y polimorfismos en la región promotora^{3, 4, 22}, cada una de las cuales causa EA en una sola o en un grupo muy escaso de familias, siendo por tanto de las denominadas "mutaciones particulares". La gran mayoría de estas mutaciones se deben al cambio de una base en el genoma que da lugar a un cambio de aminoácido en la proteína (mutación *missense*), con la excepción de dos deleciones. Además, todas tienen una penetrancia del 100%, excepto un cambio de aminoácido (Glu318Gly) descrito inicialmente como mutación patogénica, pero que posteriormente se mostró como un polimorfismo bialélico presente en la población general^{23, 24}. Las mutaciones patogénicas se extienden a lo largo de toda la estructura de la proteína, aunque hay una mayor densidad de mutaciones en dos exones (el 5 y, principalmente, el 8), que codifican para dominios transmembrana, sugiriendo que el mantenimiento estructural de dichas regiones es fundamental para la funcionalidad de la proteína. Las

mutaciones en PSEN1 son responsables de la gran mayoría de los casos de EA monogénica, y son también por regla general las más agresivas en cuanto a un inicio muy precoz de los síntomas y a una evolución rápida²⁵.

Poco después del hallazgo del gen PSEN1, en base a su homología de secuencia, se identificó el gen de la presenilina 2 (PSEN2, OMIM *600759) como portador de mutaciones responsables del ligamiento de la EA con el cromosoma 1^{26,27}. Las mutaciones descritas en el gen PSEN2 (<http://www.alzforum.org>) son mucho menos abundantes que las de su homólogo PSEN1, y la mayoría de ellas se encuentra en los dominios transmembrana conservados entre las dos proteínas.

En pacientes españoles con EA, no se ha detectado ninguna mutación claramente patogénica en el APP, mientras que sí se han detectado varias en el gen PSEN1, la primera de ellas descrita en 1998²⁸, hasta un total de ocho mutaciones, seis de ellas no encontradas en pacientes de otros países^{3,29-31}. Por otra parte, y a pesar de la baja frecuencia mundial de mutaciones en PSEN2, ésta es relativamente alta en pacientes españoles, siendo uno de las poblaciones con mayor abundancia de mutaciones conocidas en PSEN2 (R. Oliva, comunicación personal).

Funciones de la APP y las presenilinas en relación con la EA

Desde su descubrimiento como causantes de EA hasta la actualidad se han realizado un gran número de estudios destinados a averiguar las funciones de estas proteínas y a cuál o cuáles de esas funciones afectan las mutaciones. Hay gran cantidad de resultados, en gran medida dispersos y contradictorios, que no entraremos a detallar ya que se tratan en otros capítulos de esta monografía. Puesto que sí se sabe que todas las mutaciones patogénicas alteran la producción y/o agregación del péptido A β , daremos algunos apuntes sobre el efecto de las mutaciones sobre la proteólisis del APP; a pesar de que este aspecto ha centrado muchos de los ensayos funcionales de estas proteínas, no está aun claramente demostrado que, como postula la hipótesis amiloidogénica, éste sea el evento central de todas las formas de EA.

La proteína APP es una glicoproteína transmembrana³², cuyo mRNA da lugar por procesamiento alternativo a isoformas de 695 a 770 aminoácidos (Fig. 2). La APP se sintetiza en el retículo endoplasmático, desde donde viaja vía aparato de Golgi y vesículas secretoras, a la membrana plasmática. En las vesículas secretoras o en la propia membrana, algunas moléculas de APP sufren un corte proteolítico que da lugar a la secreción de un largo fragmento de APP soluble; este tipo de procesamiento lo lleva a cabo una enzima deno-

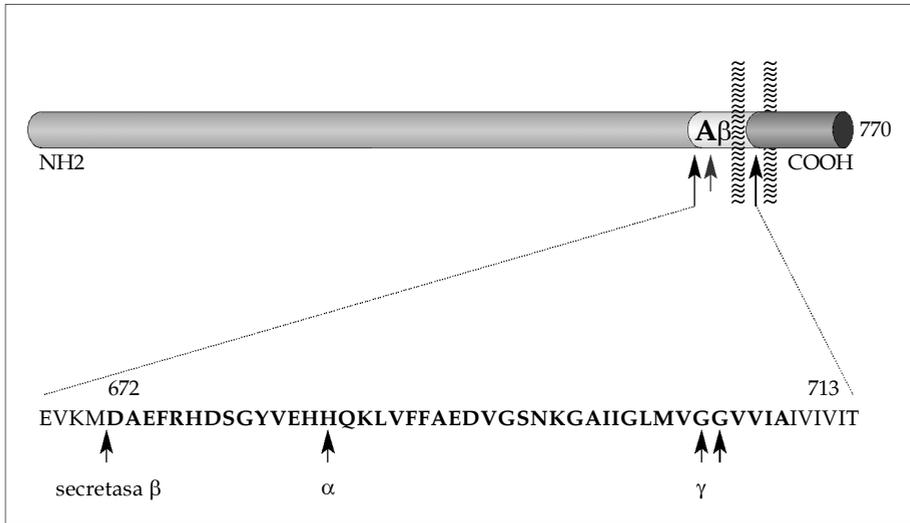


Figura 2

Proteína precursora del amiloide (APP). Se detalla la estructura del A β y se indican los sitios de corte de las secretasas.

minada α -secretasa y se conoce como no amiloidogénico, puesto que evita la formación del péptido A β . Sin embargo, la APP de la membrana plasmática puede ser reinternalizada vía vesículas recubiertas de clatrina y, a través de la vía endosomas-lisomas, o bien en el propio retículo endoplásmico³³, dar lugar a la generación de A β , mediante la acción de la β y la γ -secretasas. Las presenilinas (PSEN1 y PSEN2) se han localizado en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi, y parece que tienen una organización topográfica semejante, siendo proteínas con ocho segmentos transmembrana^{34,35}.

Aunque no se conocen con exactitud las funciones del APP, ni cuáles de estas funciones están alteradas en los mutantes, todas las mutaciones patogénicas en el APP comparten un dato estructural: están situadas en o alrededor del A β , y se concentran alrededor de los sitios de corte de las secretasas α (cuya acción impide la formación del amiloide) y β y γ , cuya acción conjunta da lugar al péptido; este hecho sugiere que la proteólisis del APP para generar A β es el principal vínculo entre esta proteína y la EA. De hecho, los estudios realizados en modelos celulares y animales indican que todas las mutaciones del APP dan lugar a una sobreproducción del péptido A β (revisión en³⁶).

Tampoco se conocen con exactitud las funciones celulares de las PSEN aunque datos recientes de diferentes laboratorios apuntan a que estas proteí-

nas están implicadas en el procesamiento de APP a nivel de la actividad γ -secretasa, existiendo incluso una co-purificación de PSEN1 en purificaciones parciales de la actividad γ -secretasa^{37, 38}, por lo que se ha sugerido que ellas mismas podrían ser la γ -secretasa, o regular su acción de forma muy directa³⁹. Mutaciones de las presenilinas asociadas a la EA provocan un aumento en la producción del péptido A β 42-43⁴⁰. Por otra parte, se sabe que las PSEN son necesarias para el desarrollo del sistema nervioso^{41, 42}, posiblemente por su implicación en la vía de señalización de Notch⁴³. El mantenimiento de la expresión tanto de Notch como de la presenilinas en neuronas del sistema nervioso central en el adulto, podría sugerir un papel específico de la vía de señalización de Notch, y por tanto de las presenilinas, en la supervivencia neuronal^{44, 45}. Datos recientes, principalmente obtenidos en modelos transgénicos y *knock out*, muestran que las mutaciones en las presenilinas afectan de manera diferencial al procesamiento de APP y de Notch⁴⁶.

Factores genéticos de la enfermedad de Alzheimer compleja

La gran mayoría de los casos de EA son esporádicos o presentan limitada agregación familiar y suelen ser de aparición tardía (después de los 60-65 años). La ausencia de un patrón de herencia mendeliana monogénica en esta forma tardía de EA, indica que es una enfermedad compleja o multifactorial causada por la interacción de los productos de varios genes con factores ambientales. Ni los factores genéticos ni los ambientales actuando separadamente causan la enfermedad, siendo ambos necesarios pero no suficientes para desarrollarla. La evidencia de que hay factores genéticos implicados en la EA no genética deriva de la observación de que el riesgo de padecerla es mayor en individuos con antecedentes familiares de demencia; estos factores genéticos, actuarían en distintas combinaciones que determinarían el riesgo genético de enfermedad en los diferentes individuos.

El averiguar cuántos son y en qué combinaciones actúan estos factores genéticos es el objetivo de los estudios de genética de la EA esporádica. Se prevee que este conocimiento permitirá la elaboración de unos "perfiles de riesgo" que permitirán predecir de forma fiable la probabilidad de que un individuo pueda o no padecer la enfermedad y responder o no a un determinado tratamiento. Aunque los recientes avances tecnológicos permiten obtener un enorme número de datos sobre el genoma de forma rápida y automatizada⁴⁷ y facilitarán el alcanzar el conocimiento suficiente para lograr este objetivo, queda todavía un largo camino por delante, como veremos en los siguientes apartados.

Para la búsqueda de factores de susceptibilidad genética se utilizan básicamente dos aproximaciones: El barrido sistemático de grandes zonas del genoma (o del genoma completo) y el análisis de genes o zonas pequeñas del genoma (*loci*) candidatos. Ambas aproximaciones se aplican al estudio de la EA, como veremos a continuación (ver también la revisión de J. Pérez-Tur [48]). Según el tipo de muestra utilizada, los análisis genéticos pueden ser de asociación, en muestras caso-control –pacientes y controles no relacionados familiarmente– y de *ligamiento*, que se realizan en grupos familiares. La utilización de uno u otro método y tipo de muestra debe ser cuidadosamente evaluada a la hora de iniciar un estudio genético, ya que la información que podemos obtener depende en gran medida del diseño del estudio y de la muestra utilizada⁴⁹.

Genes implicados en la susceptibilidad para EA: APOE

De los múltiples *loci* y genes candidatos que hasta la fecha se han descrito como factores de susceptibilidad para la EA (Tabla 1), el único que se repite de manera consistente es el de la apolipoproteína E (APOE, el gen, ApoE, la proteína; OMIM *107741), que constituye por tanto el principal gen de susceptibilidad conocido para la EA.

Tabla 1

Genes asociados con la enfermedad de Alzheimer compleja

| | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Apolipoprotein E (APOE4) | FE65 |
| α 1-antiquimotripsina | ACE |
| Receptor de VLDL | Mieloperoxidasa |
| Presenilina-1 | Dihidrolipoil succiniltransferasa |
| α -sinucleína | Catepsina D |
| Transportador de serotonina | HLA-A2 |
| Proteína relacionada con LDLR (LPR) | N-acetil transferasa |
| Butirilcolinesterasa | Lipoproteína lipasa |
| Transferrina | IL-6 |
| Promotor de APOE (APOE-p) | NOS3 |
| Neurotrofina-3 | HLA-DRB1 |
| Bleomicina hidrolasa | Receptor de estrógenos |
| α 2-Macroglobulina (A2M) | Tau |
| Receptores de serotonina | IL-1 α |
| | TNF α |

En el año 1993, y como resultado de una búsqueda sistemática en familias en las que previamente se había encontrado ligamiento con marcadores polimórficos del cromosoma 19⁵⁰, se identificó al gen APOE como el responsable del ligamiento de la EA con un *locus* en el cromosoma 19 en familias con EA tardía⁵¹. Concretamente, se encontró un fuerte ligamiento de la herencia del alelo 4 de este gen (apoE4) con la enfermedad. Posteriormente, se comprobó que este alelo estaba asociado con riesgo no sólo en familias, sino que también se asociaba con un incremento del riesgo en individuos portadores que no tenían antecedentes familiares de demencia, y que se asociaba a casos tanto precoces como tardíos, disminuyendo la edad de aparición de los síntomas de forma dependiente de la dosis alélica de ApoE4⁵². Este hallazgo resultó sorprendente, ya que la ApoE era muy conocida por su implicación en el transporte de lípidos y colesterol entre órganos periféricos, pero no se sabía que tuviera ningún papel relevante en el sistema nervioso central. La identificación de APOE como factor de riesgo de la EA ilustra el aspecto más ventajoso de los barridos sistemáticos del genoma: al no estar sujetos a hipótesis previas pueden dar lugar al hallazgo de moléculas inesperadas, y que por tanto generan nuevas hipótesis sobre la patogenia.

La proteína apoE es uno de las principales constituyentes de las lipoproteínas plasmáticas, y juega un papel fundamental en el metabolismo de las lipoproteínas, participando en el transporte celular de los lípidos mediante la interacción de las lipoproteínas con receptores específicos. La apoE presenta tres isoformas comunes (E2, E3 y E4) codificadas por un único gen del cromosoma 19^{53,54}. En el cerebro son los astrocitos y la microglía las principales células productoras de apoE, jugando un importante papel en el mecanismo de regeneración neuronal; las células liberan apoE al medio para poder captar los lípidos y el colesterol de las membranas neuronales dañadas por el trauma⁵⁵; aunque en menor cantidad, parece que en el cerebro humano también las neuronas producen ApoE⁵⁶.

El gen APOE humano está constituido por cuatro exones y tres intrones, y por un promotor muy complejo que contiene numerosos elementos de regulación implicados en su expresión (ver revisión en⁵⁷).

El alelo apoE4 está ampliamente sobrerrepresentado en los enfermos con EA (40% frente a un 5-20% en poblaciones normales de distintas etnias) pero, además, parece que desvía en unos 20 años la edad de comienzo de la EA tardía. Así, en homocigotos 4,4 el inicio ocurriría antes de los 70 años, mientras que en portadores del genotipo APOE 2,3, el inicio ocurriría pasados los 90 años².

El mecanismo por el cual apoE4 está implicado en la patogenia de la EA no está claro, aunque hay gran cantidad de estudios que la implican en la amiloidogénesis, bien actuando como chaperona que facilitaría la agregación del péptido

A β o como proteína capaz de capturar el péptido impidiendo su agregación (revisión en^{58,59}. En cuanto a otras posibles funciones relevantes en la EA, se postula que ApoE puede actuar protegiendo a las neuronas del daño oxidativo propio del envejecimiento, de una forma menos eficiente cuando la isoforma es ApoE4⁶⁰. Otros estudios sugieren que la implicación de ApoE en la patogenia puede estar mediada por su interacción con la proteína del citoesqueleto tau, principal componente de los ovillos neurofibrilares⁶¹. Se pueden encontrar varias revisiones recientes sobre funciones de la ApoE en relación con la EA⁶²⁻⁶⁴, aunque cuál o cuáles de ellas son relevantes *in vivo* está por determinar.

En cuanto a su implicación en la patogenia, los indicios apuntan a que, independientemente de cuál sea el mecanismo por el que esto ocurre, ApoE no sería causante de la EA, sino que su principal efecto sería modificar el curso de la misma en dependencia de la forma alélica y de la dosis⁶⁵.

En nuestro laboratorio descubrimos la existencia de polimorfismos en la región reguladora del gen APOE y su asociación con la enfermedad de Alzheimer. El análisis mutacional en la población general reveló la existencia de tres sitios polimórficos en las posiciones -491, -427 y -219 del gen, que originan variantes del promotor con diferencias en la actividad transcripcional⁶⁶. Los estudios epidemiológicos revelaron la existencia de una asociación entre el tipo de promotor y el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer^{67,68}. Estos resultados han sido confirmados por otros autores: "in vivo", demostrando que los portadores del genotipo del promotor APOE de mayor riesgo presentan mayores niveles de proteína apoE en plasma⁶⁹, y mediante un meta-análisis realizado en seis poblaciones diferentes⁷⁰. También se ha comprobado que, en humanos, los polimorfismos del promotor APOE están asociados con variaciones en la cantidad de la proteína en plasma y en cerebro^{57,71}; en este contexto, uno de los retos actuales de los análisis genéticos es el estudio de las regiones reguladoras: una vez que se han explorado las regiones codificantes de los genes y ya no se encuentran en ellas cambios, no se puede descartar la implicación de ese determinado gen en la enfermedad, ya que podría portar mutaciones patogénicas o formas alélicas de riesgo en sus regiones reguladoras (promotor, intrones, etc.) (ver revisión sobre las regiones reguladoras de genes en relación con la EA en⁴.

Por tanto, parece que no sólo la isoforma, sino también la concentración de la proteína apoE, es importante. Este es el primer nivel de complejidad para el estudio y la aplicabilidad de la genética a la forma compleja de la EA: el riesgo asociado a un gen determinado es la resultante de la isoforma (estructura) y de los niveles (modulados por factores intrínsecos del gen como sus secuencias reguladoras y por factores externos, como pueden ser los estrógenos o la dieta para ApoE) de esa proteína.

Desde su descubrimiento, se hizo evidente que apoE4 no es necesario ni suficiente para desarrollar la enfermedad de Alzheimer. Se estima, según las diferentes poblaciones y métodos de cálculo, que ApoE4 podría dar cuenta de entre un 10 y un 50% de los casos de EA compleja, siendo el resto de los casos debidos a otros genes o factores no genéticos. En estos años, se han realizado una gran cantidad de estudios genéticos, que han dado lugar a una larga lista de genes potencialmente implicados en la etiopatogenia de la EA (<http://www.alzforum.org>). A continuación, describiremos brevemente algunos casos, que ilustran la complejidad del problema y diferentes posibilidades para abordarlo.

Otros genes de susceptibilidad para la EA

Kehoe *et al.*⁷², en el mayor barrido genómico realizado hasta el momento, demuestran por primera vez que en la EA participan varios, quizás muchos, genes además del APOE. Estudiaron 292 pares de hermanos con EA de aparición tardía, e identificaron 16 loci ligados a la enfermedad en los cromosomas 1 (dos loci), 2, 5, 6, 9 (dos loci), 10 (dos loci), 12, 13, 14, 19 (un loci atribuible al gen APOE), 21 y X (dos loci). Con anterioridad, Pericak-Vance *et al.*⁷³ identificaron cuatro regiones posiblemente ligadas a la EA en los cromosomas 4, 6, 12 y 20. Se han identificado hasta un total de 22 regiones en los diversos estudios de este tipo. Actualmente, y dado que son los que más se repiten en los distintos estudios, los indicios más fuertes apuntan a la existencia de uno o más loci de susceptibilidad en los cromosomas 12^{74,75} y 10^{76,77}; además, parece que los genes responsables del ligamiento con el cromosoma 10 podrían actuar modificando la cantidad del péptido A β de 42-43 aminoácidos⁷⁸.

Por otra parte, en la última década se han desarrollado numerosos estudios de asociación (caso/control) de polimorfismos en genes candidatos con la EA. La mayoría de estos estudios se han basado en hipótesis patogénicas: Así, se han analizado genes de proteasas que podrían participar en la proteólisis del APP, genes relacionados con la inflamación, con la apoptosis, neurotransmisores, etc. Se puede encontrar un listado de estos genes candidatos clasificados por funciones en la página Web <http://www.alzforum.org>. Hasta el momento se han asociado con la EA polimorfismos en unos cuarenta genes aunque ninguno de ellos se ha confirmado universalmente. Ni siquiera ApoE4, que es el factor genético más claramente establecido, se ha confirmado en todos los grupos étnicos: El apoE4 no es factor de riesgo en los negros nigerianos en los que la frecuencia del alelo en la población general es del 26%⁷⁹, ni en los "amish" norteamericanos en los que la frecuencia es de 3.7%⁸⁰.

La variabilidad de los resultados en los estudios de asociación genética puede deberse a un conjunto de factores. Cabe la posibilidad de que para la expresión del fenotipo patogénico sea necesaria la presencia simultánea de una combinación de factores de riesgo genéticos y/o ambientales, no siendo suficiente el sometido a análisis. Por otra parte no puede descartarse, sobre todo en los polimorfismos que no producen cambios funcionales, que otro polimorfismo en el mismo gen o en uno próximo, que se encuentre en desequilibrio de ligamiento con el que estamos estudiando, sea el verdadero factor de riesgo. Esta variabilidad refleja las limitaciones de los análisis de asociación, en los que se comparan estadísticamente las frecuencias de un determinado alelo en los casos y en los controles. La principal fuente de error en estos estudios suele ser la mezcla de población, de manera que en una población muy abierta sólo se verá el efecto de los genes cuya contribución sea muy importante, pero no aquellos que tienen efectos positivos, pero cuantitativamente menores. Por lo expuesto anteriormente, la confirmación definitiva de un gen candidato requiere, además de los estudios de asociación o ligamiento, determinar la implicación funcional del gen en el proceso patogénico.

Aunque es evidente que APOE juega un importante papel en la genética de la enfermedad de Alzheimer compleja, probablemente modulando la edad de aparición de los síntomas y/o la evolución de la enfermedad, también parece evidente, como ha quedado demostrado por los estudios de ligamiento y de asociación, que otros genes contribuyen al inicio y progreso de la enfermedad.

Utilizando otra aproximación experimental, consistente en considerar la variación en la edad de inicio de la enfermedad de Alzheimer compleja como un carácter cuantitativo, Daw *et al.*⁸¹ encuentran que, al menos, hay cuatro genes que contribuyen a la variación en la edad de inicio de la enfermedad tanto o más que el propio APOE. De estos, uno parece sustancialmente mayor que el resto, siendo responsable de más del 50% de la varianza genética. Los otros caracteres cuantitativos eran responsables de aproximadamente un 13%, 8% y 5%, respectivamente de la varianza genética; mientras que el APOE lo era del 7-9%. De acuerdo con estos autores, es sorprendente que un locus con un efecto cuantitativo mayor que el más importante de los conocidos (APOE) no haya sido localizado aun. Entre las diversas razones que podrían explicar este hecho destacan las siguientes: Múltiples genes con efectos similares pueden producir evidencia de un único gen con un efecto mayor y algunos otros efectos, tales como efectos ambientales transmisibles, podrían potencialmente aparentar genes.

En resumen, aunque sólo APOE está confirmado como gen de susceptibilidad para la EA, es evidente que hay otros factores genéticos, cuya identi-

dad y efectos cuantitativos están, a pesar de que se han descrito muchos, aun por determinar, y que su conocimiento es necesario para delinear la etiopatogénesis de la EA compleja.

Complejidad en la enfermedad de Alzheimer esporádica

La comprensión de la etiopatogenia de la forma compleja de la EA requiere el estudio de las interacciones entre factores genéticos y no genéticos potencialmente causantes de la enfermedad, así como con otros genes y factores no genéticos moduladores del riesgo. Se han descrito diversas interacciones genéticas en relación con la EA, algunas de ellas detectadas por nuestro equipo en una muestra caso-control de pacientes españoles: interacción con la edad⁸², interacción con el sexo⁸³, interacción entre polimorfismos en la región codificante y reguladora del gen APOE⁵⁷ e interacción intergénica, como la observada entre los genes APOE y tau⁸⁴. Hay más ejemplos de interacciones genéticas, como las de los genes de la butiril colinesterasa con ApoE4⁸⁵ o ciertos haplotipos de genes mitocondriales con apoE 4⁸⁶, que como en el caso de los genes individuales están a la espera de una confirmación consistente. La información que pueden aportar estas interacciones es de gran interés para delimitar rutas funcionales alteradas en la EA.

La existencia de interacciones, que resultan en el oscurecimiento del efecto de un determinado gen queda patente en el estudio publicado recientemente por A. Brookes y cols.⁸⁷, en el que analizan sesenta polimorfismos –varios de los cuales se han mostrado en estudios previos como asociados con riesgo de enfermedad de Alzheimer– en un estudio de tipo caso-control de EA prenil: Aunque el estudio aislado de cada polimorfismo muestra varios de ellos como asociados con la enfermedad, cuando se aplican correcciones estadísticas teniendo en cuenta el número de variables estudiadas sólo el alelo apoE4 se mantiene como significativamente asociado, aunque incluso este factor pierde una gran fuerza estadística. Este hecho, previamente observado en otras enfermedades complejas como las cardiovasculares o la diabetes, pone en cuestión la utilidad actual de la genética en el diagnóstico de la forma compleja de la EA. Sin embargo, la genética es en la actualidad una poderosa herramienta para el estudio de los mecanismos patogénicos, así como para detectar y validar de forma muy fiable dianas y estrategias terapéuticas, especialmente si se usa conjuntamente con modelos celulares y animales de la enfermedad.

Las funciones celulares se llevan a cabo por grandes conjuntos de moléculas que interactúan entre sí, pudiendo considerarse cada uno de estos con-

juntos como un módulo funcional. En este contexto, la biología celular está en transición de una ciencia preocupada con asignar funciones a proteínas o genes individuales a una que está ahora tratando de hacer frente a los conjuntos complejos de moléculas que interaccionan para constituir módulos funcionales. La mayoría de las propiedades funcionales de un módulo son propiedades colectivas, resultantes de las propiedades de sus componentes y de las interacciones entre ellos. En patología molecular y más en el caso de las enfermedades complejas como la EA se deben estudiar, por tanto, no sólo la relación de un gen con una determinada enfermedad, sino la relación de diferentes módulos funcionales con la misma.

Mecanismos patogénicos de la enfermedad de Alzheimer

El mecanismo por el que las proteínas APP, PSEN-1, PSEN-2 y apoE están implicadas en la patogenia de la EA no está claro. Sin embargo, la hipótesis dominante –amiloidocéntrica– establece que la formación y depósito del amiloide es el acontecimiento central y responsable último de la degeneración neuronal en la EA^{14,15}. Esta hipótesis se fundamenta en varias observaciones. Primero, en algunas formas hereditarias de Alzheimer, mutaciones en el APP o en las presenilinas dan lugar a la sobreproducción de A β . Segundo, A β resulta neurotóxico cuando se aplica en el cerebro de mamíferos o se administra en cultivos de neuronas. Finalmente, el depósito de amiloide es el cambio neuropatológico antes detectado en personas con mutaciones en la PSEN1 pero que no han presentado aun síntomas de EA. Los que se oponen a esta hipótesis arguyen que aunque el depósito de amiloide es un hecho casi invariable en la patogénesis de Alzheimer, no es necesariamente la causa de la demencia. Estos argumentan que existe una pobre correlación entre las concentraciones y distribución de las placas amiloides en el cerebro y varios parámetros de la patología de Alzheimer, tales como grado de demencia, anomalías en el citoesqueleto y pérdida de neuronas⁸⁸.

Existen evidencias de que en los cerebros de enfermos con Alzheimer se produce pérdida de neuronas por muerte apoptótica⁸⁹⁻⁹². También se ha observado que los cultivos de neuronas humanas tratadas con péptidos amiloides mueren por apoptosis^{93,94}. Pero, por otra parte, la inducción de apoptosis mediante diferentes estímulos en células neuronales produce A β ⁹⁵⁻⁹⁸ y la hiperfosforilación de la proteína tau⁹⁹⁻¹⁰¹.

Mehmet¹⁰² ha propuesto un modelo en el que la caspasa-3 corta el APP produciendo A β , el cual a su vez, activa caspasas para amplificar los efectos.

La acumulación gradual de A β podría alcanzar niveles críticos, induciendo la muerte neuronal a través de un círculo vicioso de corte de APP, producción de A β y apoptosis dependiente de caspasa-12. Sin embargo, este modelo no explica como se iniciaría el proceso.

El retículo endoplásmico (RE), las presenilinas, el APP y la apoptosis han sido implicados en la enfermedad de Alzheimer¹⁰³. El RE juega un papel crítico en diversos procesos como el mantenimiento de la homeostasis del Ca²⁺, la síntesis, modificación posttraduccional y plegamiento de proteínas de membrana o secretadas¹⁰⁴. Cuando se produce un malplegamiento de proteínas y las proteínas no plegadas se acumulan y se agregan en el RE, hay una señal que activa selectivamente la transcripción de una serie de genes que expresan proteínas como grp78 (BiP) y grp94, que actúan como chaperonas. Esta respuesta llamada UPR (*unfolded protein response*) trata de garantizar que sólo las proteínas adecuadamente plegadas y ensambladas salgan del RE. Además de esta respuesta, el RE también genera otra señal en respuesta a la acumulación de proteínas, la EOR (*endoplasmic reticulum-overload response*), mediante la cual se produce la activación de NF- κ B. Finalmente, bajo condiciones de estrés severo y/o prolongado las células activan el proceso apoptótico¹⁰⁵. Nosotros proponemos un modelo en el que el estrés de RE inducido por la acumulación de proteínas APP y PSEN mutantes, unido a otros estímulos, principalmente el estrés oxidativo consecuencia del envejecimiento, produciría respuestas UPR y EOR y, finalmente, apoptosis. La hiperfosforilación de tau y la generación de A β serían consecuencias de este proceso.

Perspectivas

La genética se está revelando como una poderosa herramienta útil para el estudio de la etiopatogenia de enfermedades complejas como la de Alzheimer, así como para la identificación de dianas terapéuticas. Una vez que tengamos un mejor conocimiento de la etiopatogenia de la EA, los polimorfismos también serán de utilidad como marcadores pronósticos para el diagnóstico preclínico de la EA, y para el cálculo del riesgo relativo de padecer la enfermedad y para predecir la respuesta a determinados tratamientos farmacológicos.

Es previsible que los avances tecnológicos en los campos de la genómica (genotipificación, microarrays de expresión, etc.) y la proteómica (análisis masivos de proteínas por espectrometría de masas) permitirán en los próximos años ordenar los múltiples datos desconectados que conocemos en la actualidad. La secuenciación del genoma humano facilitará conocer los

genes existentes en los loci relacionados con la EA en los estudios de ligamiento, permitiendo el análisis de genes candidatos presentes en esas regiones. La construcción de un mapa de alta densidad de SNPs (single nucleotide polymorphisms) del genoma y el análisis de poblaciones de pacientes bien fenotipados podrá llevar a la identificación de nuevos factores de riesgo para el desarrollo de la EA. Por otra parte, la disponibilidad de nuevas herramientas de análisis global de expresión génica permitirá la detección de genes candidatos que se expresan diferencialmente en los pacientes. Por último, las nuevas metodologías proteómicas ayudarán a conocer mejor las funciones celulares de las proteínas implicadas en los mecanismos patogénicos de la EA.

La investigación genética de la EA ha identificado factores importantes para el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad, aunque aún existe un vacío considerable para poder explicar adecuadamente cómo todos estos elementos interactúan entre sí. En primer lugar, será necesario conocer el mayor número posible de factores genéticos y ambientales que intervienen en la etiología de la EA con el fin de establecer las combinaciones de factores causales, genéticos y ambientales, que determinan la variación en el riesgo de enfermedad en determinados grupos de individuos, familias o poblaciones. Los estudios deberán incluir información sobre relaciones entre factores, y considerar la dinámica de estas relaciones en el tiempo y el espacio, con el fin de conocer mejor los procesos responsables del inicio, progreso y severidad de la enfermedad.

Conocer mejor los diversos factores genéticos y ambientales implicados en el desarrollo de la EA compleja resultará imprescindible para poder diseñar estrategias terapéuticas. Dada la heterogenicidad genética de la enfermedad podría suponerse también una heterogenicidad bioquímica y patogénica y, por tanto, diferentes patrones de respuesta terapéutica. En este contexto se sitúa la evidencia, aun por confirmar de forma definitiva, de que los diferentes genotipos APOE tienen diferente respuesta terapéutica a los fármacos inhibidores de la acetilcolinesterasa.

En conclusión, la selección de genes candidatos mediante análisis genómicos y la validación de los genes de susceptibilidad y dianas terapéuticas mediante análisis de asociación genética permitirán conocer el mayor número posible de genes implicados en la EA, lo cual, además de ayudar a conocer la etiopatogenia de la enfermedad, facilitará el desarrollo de métodos diagnósticos (o pronósticos) y de estrategias terapéuticas para la misma.

Bibliografía

1. "Alzheimer Disease". Terry, Katzman, Bick & Sisodia (eds.), 2ª edición. Lippincott, Williams & Wilkins, 1999.
2. Tandon A, Rogaeva E, Mullan M, St George-Hyslop PH. Molecular genetics of Alzheimer's disease: the role of beta-amyloid and the presenilins. *Curr Opin Neurol* 2000;13(4):377-384.
3. Aldudo J, Bullido MJ, Valdivieso F. DGGE method for the mutational analysis of the coding and proximal promoter regions of the Alzheimer's disease presenilin-1 gene: two novel mutations. *Hum Mutat* 1999;14(5):433-439.
4. Theuns J, Van Broeckhoven C. Transcriptional regulation of Alzheimer's disease genes: implications for susceptibility. *Hum Mol Genet* 2000;9(16):2383-2394.
5. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;120(3):885-890.
6. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;122(3):1131-1135.
7. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, *et al.* The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987;325(6106):733-736.
8. Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW, Saffiotti U, Gajdusek DC. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987;235(4791):877-880.
9. Robakis NK, Wisniewski HM, Jenkins EC, Devine-Gage EA, Houck GE, Yao XL, *et al.* Chromosome 21q21 sublocalisation of gene encoding beta-amyloid peptide in cerebral vessels and neuritic (senile) plaques of people with Alzheimer disease and Down syndrome. *Lancet* 1987;1(8529):384-385.
10. Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, Bruns GA, St George-Hyslop P, Van Keuren ML, *et al.* Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987;235(4791):880-884.
11. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Moore DK, Boehnke M, Bryant EM, *et al.* Absence of linkage of chromosome 21q21 markers to familial Alzheimer's disease. *Science* 1988;241(4872):1507-1510.
12. St George-Hyslop PH, Haines JL, Farrer LA, Polinsky R, Van Broeckhoven C, Goate A, *et al.* Genetic linkage studies suggest that Alzheimer's disease is not a single homogeneous disorder. FAD Collaborative Study Group. *Nature* 1990;347(6289):194-197.
13. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease [see comments]. *Nature* 1991;349(6311):704-706.
14. Hardy J & Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 383388.
15. Huse JT, Doms RW. Closing in on the amyloid cascade: recent insights into the cell biology of Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 2000;22(1-3):81-98.
16. Weitkamp LR, Nee L, Keats B, Polinsky RJ, Guttormsen S. Alzheimer disease: evidence for susceptibility loci on chromosomes 6 and 14. *Am J Hum Genet* 1983;35(3):443-453.
17. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, Nemens E, *et al.* Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992;258(5082):668-671.

18. St George-Hyslop P, Haines J, Rogaev E, Mortilla M, Vaula G, Pericak-Vance M, *et al.* Genetic evidence for a novel familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Nat Genet* 1992;2(4):330-334.
19. Mullan M, Houlden H, Windelspecht M, Fidani L, Lombardi C, Diaz P, *et al.* A locus for familial early-onset Alzheimer's disease on the long arm of chromosome 14, proximal to the alpha 1-antichymotrypsin gene. *Nat Genet* 1992;2(4):340-342.
20. Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M, De Winter G, Bruyland M, Cras P, *et al.* Mapping of a gene predisposing to early-onset Alzheimer's disease to chromosome 14q24.3. *Nat Genet* 1992;2(4):335-339.
21. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, *et al.* Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995;375(6534):754-760.
22. van Duijn CM, Cruts M, Theuns J, Van Gassen G, Backhovens H, van den Broeck M, *et al.* Genetic association of the presenilin-1 regulatory region with early-onset Alzheimer's disease in a population-based sample. *Eur J Hum Genet* 1999;7(7):801-806.
23. Aldudo J, Bullido MJ, Frank A, Valdivieso F. Missense mutation E318G of the presenilin-1 gene appears to be a nonpathogenic polymorphism. *Ann Neurol* 1998;44(6):985-986.
24. Mattila KM, Forsell C, Pirttila T, Rinne JO, Lehtimäki T, Roytta M, *et al.* The Glu318Gly mutation of the presenilin-1 gene does not necessarily cause Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1998;44(6):965-967.
25. Cruts M, Van Broeckhoven C. Presenilin mutations in Alzheimer's disease. *Hum Mutat* 1998;11(3):183-190.
26. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, *et al.* Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995;376(6543):775-778.
27. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, *et al.* Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995;269(5226):973-977.
28. Aldudo J, Bullido MJ, Arbizu T, Oliva R, Valdivieso F. Identification of a novel mutation (Leu282Arg) of the human presenilin 1 gene in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1998;240(3):174-176.
29. Ezquerra M, Carnero C, Blesa R, Gelpi JL, Ballesta F, Oliva R. A presenilin 1 mutation (Ser169Pro) associated with early-onset AD and myoclonic seizures. *Neurology* 1999;52(3):566-570.
30. Ezquerra M, Carnero C, Blesa R, Oliva R. A novel presenilin 1 mutation (Leu166Arg) associated with early-onset Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000;57(4):485-488.
31. Queralt R, Ezquerra M, Castellvi M, Lleo A, Blesa R, Oliva R. Detection of the presenilin 1 gene mutation (M139T) in early-onset familial Alzheimer disease in Spain. *Neurosci Lett* 2001;299(3):239-241.
32. Selkoe DJ. Cell biology of the amyloid beta-protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease. *Annu Rev Cell Biol* 1994;10:373-403.
33. Selkoe DJ. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature* 1999;399(6738 Suppl):A23-31.
34. Mattson MP, Guo Q, Furukawa K, Pedersen WA. Presenilins, the endoplasmic reticulum, and neuronal apoptosis in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1998;70(1):1-14.
35. Li X, Greenwald I. Additional evidence for an eight-transmembrane-domain topology for *Caenorhabditis elegans* and human presenilins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(12):7109-7114.

36. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001;81(2):741-766.
37. Li YM, Lai MT, Xu M, Huang Q, DiMuzio-Mower J, Sardana MK, *et al.* Presenilin 1 is linked with gamma-secretase activity in the detergent solubilized state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(11):6138-6143.
38. Selkoe DJ, Wolfe MS. In search of gamma-secretase: presenilin at the cutting edge. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(11):5690-5692.
39. Wolfe MS. Presenilin and gamma-secretase: structure meets function. *J Neurochem* 2001;76(6):1615-1620.
40. Haass C, De Strooper B. The presenilins in Alzheimer's disease--proteolysis holds the key. *Science* 1999;286(5441):916-919.
41. Struhl G, Greenwald I. Presenilin is required for activity and nuclear access of Notch in *Drosophila*. *Nature* 1999;398(6727):522-525.
42. Ye Y, Lukinova N, Fortini ME. Neurogenic phenotypes and altered Notch processing in *Drosophila* Presenilin mutants. *Nature* 1999;398(6727):525-529.
43. Selkoe DJ. Notch and presenilins in vertebrates and invertebrates: implications for neuronal development and degeneration. *Curr Opin Neurobiol* 2000;10(1):50-57.
44. Guenette SY, Tanzi RE. Progress toward valid transgenic mouse models for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1999;20(2):201-211.
45. Seabrook GR, Rosahl TW. Transgenic animals relevant to Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 1999;38(1):1-17.
46. Kulic L, Walter J, Multhaup G, Teplow DB, Baumeister R, Romig H, *et al.* Separation of presenilin function in amyloid beta-peptide generation and endoproteolysis of Notch. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(11):5913-5918.
47. Brent R. Genomic biology. *Cell* 2000;100(1):169-183.
48. Perez-Tur J. [Genetics and Alzheimer's disease]. *Rev Neurol* 2000;30(2):161-169.
49. Terwilliger JD, Goring HH. Gene mapping in the 20th and 21st centuries: statistical methods, data analysis, and experimental design. *Hum Biol* 2000;72(1):63-132.
50. Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell PC, Jr., Yamaoka LH, Hung WY, Alberts MJ, *et al.* Linkage studies in familial Alzheimer disease: evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 1991;48(6):1034-1050.
51. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, *et al.* Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(5):1977-1981.
52. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, *et al.* Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993;261(5123):921-923.
53. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988;240(4852):622-630.
54. Weisgraber KH. Apolipoprotein E: structure-function relationships. *Adv Protein Chem* 1994;45:249-302.
55. Poirier J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1994;17(12):525-530.
56. Xu PT, Gilbert JR, Qiu HL, Rothrock-Christian T, Settles DL, Roses AD, *et al.* Regionally specific neuronal expression of human APOE gene in transgenic mice. *Neurosci Lett* 1998;246(2):65-68.

57. Bullido MJ, Valdivieso F. Apolipoprotein E gene promoter polymorphisms in Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech* 2000;50(4):261-267.
58. Tomiyama T, Corder EH, Mori H. Molecular pathogenesis of apolipoprotein E-mediated amyloidosis in late-onset Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 1999;56(3-4):268-279.
59. Poirier J. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. A role in amyloid catabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2000;924:81-90.
60. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 1996; 14(1): 55-61.
61. Lovestone S, Anderton B, Betts J, Dayanandan R, Gibb G, Ljungberg C, *et al.* Apolipoprotein E gene and Alzheimer's disease: is tau the link? *Biochem Soc Symp* 2001; 67:111-120.
62. Mahley RW, Nathan BP, Pitas RE. Apolipoprotein E. Structure, function, and possible roles in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1996;777:139-145.
63. Baum L, Chen L, Ng HK, Pang CP. Apolipoprotein E isoforms in Alzheimer's disease pathology and etiology. *Microsc Res Tech* 2000;50(4):278-281.
64. Saunders AM. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: an update on genetic and functional analyses. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59(9):751-758.
65. Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Wyse BW, *et al.* APOE genotype predicts when--not whether--one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nat Genet* 1998;19(4):321-322.
66. Artiga MJ, Bullido MJ, Frank A, Sastre I, Recuero M, Garcia MA, *et al.* Risk for Alzheimer's disease correlates with transcriptional activity of the APOE gene. *Hum Mol Genet* 1998;7(12):1887-1892.
67. Artiga MJ, Bullido MJ, Sastre I, Recuero M, Garcia MA, Aldudo J, *et al.* Allelic polymorphisms in the transcriptional regulatory region of apolipoprotein E gene. *FEBS Lett* 1998;421(2):105-108.
68. Bullido MJ, Artiga MJ, Recuero M, Sastre I, Garcia MA, Aldudo J, *et al.* A polymorphism in the regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia. *Nat Genet* 1998;18(1):69-71.
69. Laws SM, *et al.* (1999). The -491AA polymorphism in the APOE gene is associated with increased plasma apoE levels in Alzheimer's disease. *NeuroReport* 10: 879-882.
70. Lambert JC, *et al.* (2002). Contribution of APOE promoter polymorphisms to Alzheimer's disease risk. *Neurology* 59: 59-66.
71. Scacchi R, Gambina G, Martini MC, Ruggeri M, Ferrari G, Silvestri M, *et al.* Polymorphisms of the apolipoprotein E gene regulatory region and of the LDL receptor gene in late-onset Alzheimer's disease in relation to the plasma lipidic pattern. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12(2):63-68.
72. Kehoe P, Wavrant-De Vrieze F, Crook R, Wu WS, Holmans P, Fenton I, *et al.* A full genome scan for late onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 1999;8(2):237-245.
73. Pericak-Vance MA, Bass ML, Yamaoka LH, Gaskell PC, Scott WK, Terwedow HA, *et al.* Complete genomic screen in late-onset familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1998;19(1 Suppl):S39-42.
74. Scott WK, Grubber JM, Conneally PM, Small GW, Hulette CM, Rosenberg CK, *et al.* Fine mapping of the chromosome 12 late-onset Alzheimer disease locus: potential genetic and phenotypic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2000;66(3):922-932.
75. Wu WS, Holmans P, Wavrant-DeVrieze F, Shears S, Kehoe P, Crook R, *et al.* Genetic studies on chromosome 12 in late-onset Alzheimer disease. *Jama* 1998;280(7):619-622.

76. Myers A, Holmans P, Marshall H, Kwon J, Meyer D, Ramic D, *et al*. Susceptibility locus for Alzheimer's disease on chromosome 10. *Science* 2000;290(5500):2304-2305.
77. Bertram L, Blacker D, Mullin K, Keeney D, Jones J, Basu S, *et al*. Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. *Science* 2000;290(5500):2302-2303.
78. Ertekin-Taner N, Graff-Radford N, Younkin LH, Eckman C, Baker M, Adamson J, *et al*. Linkage of plasma Aβ42 to a quantitative locus on chromosome 10 in late-onset Alzheimer's disease pedigrees. *Science* 2000;290(5500):2303-2304.
79. Sayi JG, Patel NB, Premkumar DR, Adem A, Winblad B, Matuja WB, *et al*. Apolipoprotein E polymorphism in elderly east Africans. *East Afr Med J* 1997;74(10):668-670.
80. Pericak-Vance MA, Johnson CC, Rimmler JB, Saunders AM, Robinson LC, D'Hondt EG, *et al*. Alzheimer's disease and apolipoprotein E-4 allele in an Amish population. *Ann Neurol* 1996;39(6):700-704.
81. Daw EW, Payami H, Nemens EJ, Nochlin D, Bird TD, Schellenberg GD, *et al*. The number of trait loci in late-onset Alzheimer disease [In Process Citation]. *Am J Hum Genet* 2000;66(1):196-204.
82. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, *et al*. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium [see comments]. *Jama* 1997;278(16):1349-1356.
83. Bullido MJ, Guallar-Castillon P, Artiga MJ, Ramos MC, Sastre I, Aldudo J, *et al*. Alzheimer's risk associated with human apolipoprotein E, alpha-2 macroglobulin and lipoprotein receptor related protein polymorphisms: absence of genetic interactions, and modulation by gender. *Neurosci Lett* 2000;289(3):213-216.
84. Bullido MJ, Aldudo J, Frank A, Coria F, Avila J, Valdivieso F. A polymorphism in the tau gene associated with risk for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2000;278(1-2):49-52.
85. Mattila KM, Rinne JO, Roytta M, Laippala P, Pietila T, Kalimo H, *et al*. Dipeptidyl carboxypeptidase 1 (DCP1) and butyrylcholinesterase (BChE) gene interactions with the apolipoprotein E epsilon4 allele as risk factors in Alzheimer's disease and in Parkinson's disease with coexisting Alzheimer pathology. *J Med Genet* 2000;37(10):766-770.
86. Carrieri G, Bonafe M, De Luca M, Rose G, Varcasia O, Bruni A, *et al*. Mitochondrial DNA haplogroups and APOE4 allele are non-independent variables in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Genet* 2001;108(3):194-198.
87. Emahazion T, Feuk L, Jobs M, Sawyer SL, Fredman D, St Clair D, *et al*. SNP association studies in Alzheimer's disease highlight problems for complex disease analysis. *Trends Genet* 2001;17(7):407-413.
88. Neve RL & Robakis NK. Alzheimer's disease: a re-examination of the amyloid hypothesis. *Trends Neurosci* 1998; 21: 15-19.
89. Su JH, *et al*. Immunohistochemical evidence for apoptosis in Alzheimer's disease. *NeuroReport* 1994; 5:2529-2533.
90. Smale G, *et al*. Evidence for apoptotic cell death in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1995; 133: 225-230.
91. Cotman CW & Su JH. Mechanisms of neuronal death in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 1996; 6: 493-506.
92. Li WP, *et al*. Terminal dUTP nick end labeling (TUNEL) positive cells in different regions of the brain in normal aging and Alzheimer patients. *J Mol Neurosci* 1997; 8: 75-82.
93. Loo DT, *et al*. Apoptosis is induced by beta-amyloid in cultured central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7951-7955.

94. Nakagawa T, *et al.* Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature* 2000; 403: 98-103.
95. LeBlanc A, Increased production of 4 kDa amyloid β peptide in serum deprived human primary neuron cultures: possible involvement of apoptosis. *J Neurosci* 1995; 15: 7837-7846.
96. Gervais FG, *et al.* Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid- β precursor protein and amyloidogenic A β peptide formation. *Cell* 1999; 97: 395-406.
97. Ohyagi Y, *et al.* Selective increase in cellular A β is related to apoptosis but not necrosis. *NeuroReport* 2000; 11: 167-171.
98. Misonou H, *et al.* Oxidative stress induces intracellular accumulation of amyloid β -protein (A β) in human neuroblastoma cells. *Biochemistry* 2000; 39: 6951-6959.
99. Lee M, *et al.* Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain. *Nature* 2000; 405: 360-364.
100. Zhang J & Johnson GV. Tau protein is hyperphosphorylated in site-specific manner in apoptotic neuronal PC12 cells. *J Neurochem* 2000; 75: 2346-2357.
101. Guise S, *et al.* Hyperphosphorylation of tau is mediated by ERK activation during anticancer drug-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *J Neurosci Res* 2001; 63: 257-267.
102. Mehmet H, Caspases find a new place to hide. *Nature* 2000; 403: 29-30.
103. Mattson MP, *et al.* Presenilins, the endoplasmic reticulum, and neuronal apoptosis in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 1998; 70:1-14.
104. Kaufman RJ. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes & Develop* 1999; 13: 1211-1233.
105. Welihinda AA, *et al.* The cellular response to protein misfolding in the endoplasmic reticulum *Gene Expr* 1999; 7: 293-300.

CAPÍTULO 5

ANOMALÍAS LISOSOMALES Y FILAMENTOS EN RATONES TRANSGÉNICOS DE TAU CON MUTACIONES DE FTDP-17

FILIP LIM¹, FÉLIX HERNÁNDEZ¹, JOSÉ J. LUCAS¹
PILAR GÓMEZ-RAMOS², M.ASUNCIÓN MORÁN²,
JESÚS AVILA¹

¹*Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”
(CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid*

²*Departamento de Morfología, Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

Un gran impedimento en la comprensión del mecanismo de la enfermedad de Alzheimer (EA) y el desarrollo de terapias ha sido la ausencia de modelos animales que recapitulen todos de los aspectos claves de esta enfermedad neurodegenerativa. La identificación de genes y sus mutaciones que provocan varias enfermedades neurodegenerativas y los avances en la transferencia génica ha posibilitado la generación de animales transgénicos que no solamente reproducen la patología molecular de las enfermedades humanas sino otros aspectos clínicos como las respuestas específicas de diferentes tejidos y cambios de comportamiento.

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por el deterioro cognitivo con afectación progresiva de la memoria junto con el desarrollo de las lesiones clásicas del hipocampo y corteza: ovillos neurofibrilares de la proteína Tau y placas seniles de péptidos amiloide-beta A β . Aunque la distribución temporal y espacial de los ovillos neurofibrilares correlaciona mejor con la neurodegeneración observado¹, curiosamente aun no se ha vinculado ningún defecto genético en el gen de tau con la EA. En cambio, en casos de EA familiar, se han identificado varias mutaciones (en los genes que codifican

para la APP, PS1 y PS2) que producen un aumento en los niveles de péptidos A β (revisado en ²). Esto ha posibilitado la generación de modelos transgénicos conteniendo formas mutadas de APP o la presenilinas, algunos recapitulando ciertos aspectos de la patología de la EA como placas de amiloide, gliosis y déficits de memoria. Sin embargo, en ninguno de estos modelos se ha observado la presencia de ovillos neurofibrilares y/o la pérdida neuronal que se desarrolla en los cerebros de los pacientes con EA.

La forma patológica de la proteína Tau en los víctimas de la EA se distingue histológicamente por la tinción de los ovillos neurofibrilares con reactivos como la tioflavina S o plata, y bioquímicamente con la extracción de filamentos insolubles en la presencia del detergente sarkosil. El análisis de los cerebros de los pacientes con otras enfermedades neurodegenerativas utilizando estas técnicas ha identificado un grupo de demencias llamado las taupatías (Tabla 1), por la presencia de inclusiones de Tau filamentoso en los tejidos afectados.

Tabla 1

Las taupatías: enfermedades con inclusiones neurofibrilares de Tau

- Degeneración corticobasal
- Demencia de granos argirofílicos
- Demencia frontal y parkinsonismo ligados al cromosoma 17
- Demencia pugilística
- Distrofia miotónica
- Enfermedad de Alzheimer
- Enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker
- Enfermedad de Hallervorden-Spatz
- Enfermedad de Niemann-Pick, tipo C
- Enfermedad de Pick
- Esclerosis lateral amiotrófica / parkinsonismo-demencia de Guam
- Parálisis supranuclear progresiva
- Parkinsonismo postencefalítico
- Síndrome de Creutzfeld-Jakob
- Síndrome de Down

FTDP-17 y un modelo transgénico para las taupatías

Incluido en el grupo de las taupatías es la demencia frontal y parkinsonismo ligados al cromosoma 17 (FTDP-17), una forma familiar de las demencias frontales. En 1998 se identificaron mutaciones en el gen de *tau* asociadas a la FTDP-17 ³, indicando que defectos en *tau* podrían ser suficientes para provo-

car neurodegeneración (revisado en ⁴). Esto aportó otra estrategia para generar modelos animales de las taupatías y decidimos generar ratones transgénicos para tau, conteniendo las 3 primeras mutaciones identificadas: G272V, P301L y R406W. Elegimos la isoforma mas larga del sistema nervioso central de *tau* humano porque en FTDP-17 se había identificado mutaciones que aumentan la proporción de esta isoforma. Para dirigir la expresión específicamente a las neuronas se insertó el *tau* mutado en el gen murino de *thy1*, reemplazando la región codificante de *thy1*. Con este transgen se generó la línea VLW de ratones transgénicos⁵ y se observó que estos animales acumulan niveles de expresión elevados de la proteína transgénica en hipocampo y corteza y bajos niveles en otras regiones del sistema nervioso como la médula espinal. En los ratones examinados hasta la edad de un año y medio, no se han observado anomalías motoras obvias.

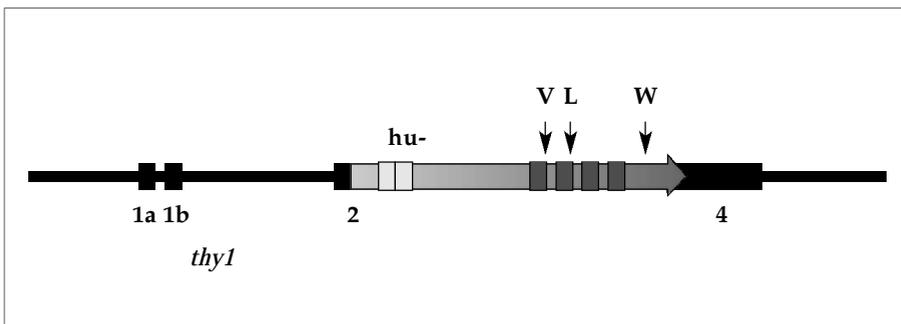


Figura 1

El diseño del transgen para generar ratones transgénicos para tau mutante. La región codificante de tau humano (gris) lleva las 3 mutaciones indicadas con las flechas y es la isoforma mas larga del sistema nervioso central (hu-tau[42]VLW) y contiene los 2 insertos N-terminales (punteados) y las 4 repeticiones de unión a microtúbulos (lineadas). Para dirigir la expresión neuronal se insertó el tau mutado entre los exones (bandas negras) 2 y 4 del gen de *thy1* murino (negro).

Fosforilación

Una característica de las taupatías es la hiperfosforilación de Tau. Este aumento de fosforilación ocurre en varios epítomos de la proteína, algunos como los reconocidos por los anticuerpos AT8, AT180 y AT100 presentan niveles elevados específicamente en la EA (revisado en ⁶). La inmunotinción de cerebros de ratones VLW con AT180 y AT8 reveló que los niveles de estos fosfo-epítomos están elevados en las mismas regiones donde se observa la

expresión del transgen (Figura 2). Curiosamente el análisis por Western blot utilizando los mismos anticuerpos demostró que el Tau endógeno esta fosforilado tanto como el Tau transgénico. Estos datos indican que una molécula de Tau mutada puede provocar cambios no solamente a su propia fosforilación pero también a la fosforilación de otras moléculas de Tau.

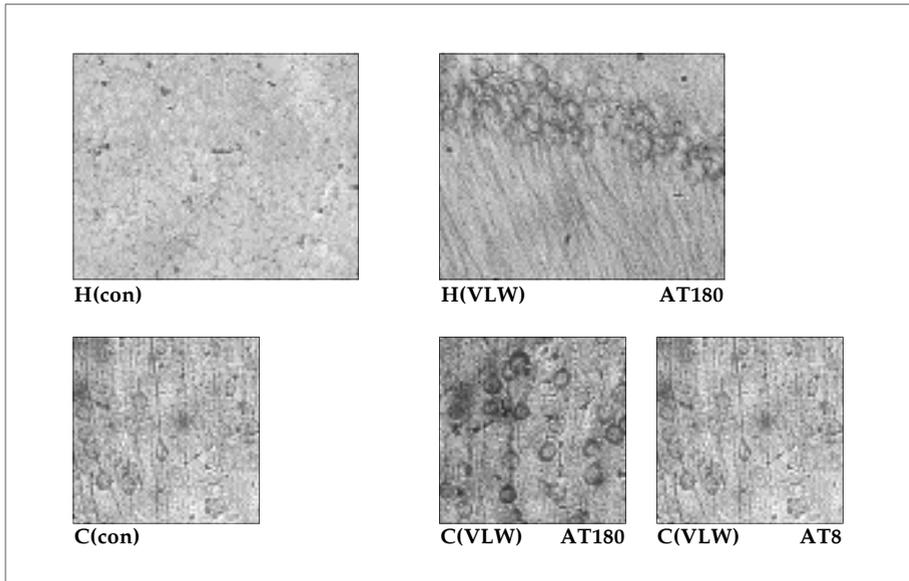


Figura 2

Hiperfosforilación de Tau. Inmunotinciones utilizando los anticuerpos AT180 y AT8 de neuronas en el hipocampo (H) y la corteza (C) de ratones de tipo silvestre (con) o transgénicos para tau mutante (VLW).

Agregación

Con respecto a la patología neurofibrilar de los ratones VLW no observamos ovillos con la tinción de tioflavina S en animales hasta la edad de un año y medio. No obstante el examen ultraestructural de las neuronas expresando niveles mas altos del transgen reveló la formación de filamentos de Tau en las zonas perinucleares y las dendritas apicales (Figura 3). La extracción bioquímica de dichos filamentos con sarkosil nos permitió distinguir formas helicoidales y rectos, con diámetros menores que los vistos en pacientes de la EA. Estas características indican que las neuronas de los ratones VLW mimifican el estado “pre-ovillo” descrito en las etapas tempranas de la EA⁷.

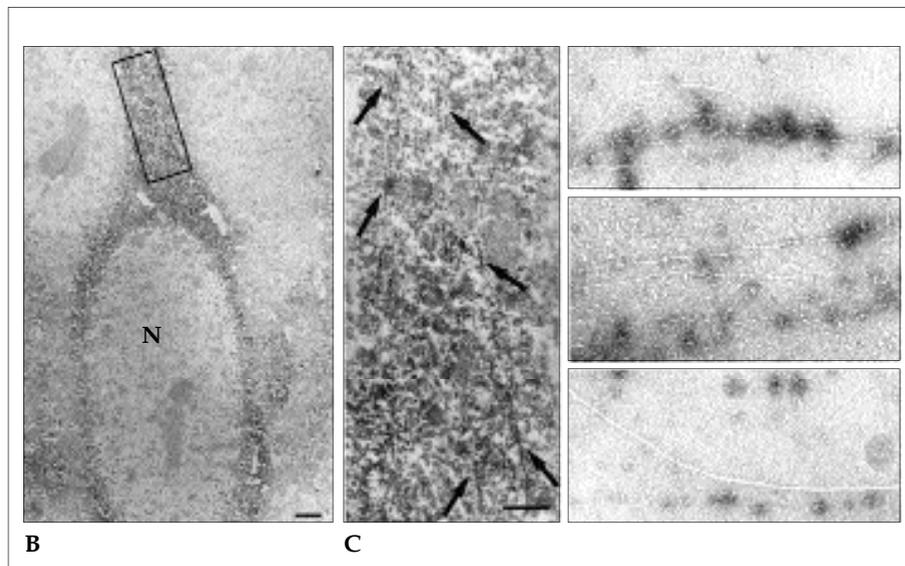


Figura 3

Microscopía electrónica de filamentos de Tau en neuronas de ratones transgénicos de la línea VLW. A la izquierda se ve la intensa inmunotinción para la proteína Tau alrededor del núcleo (N) en una neurona piramidal. La zona dentro el rectángulo se ve en un aumento mayor (medio), donde se puede distinguir inclusiones filamentosas. Las 3 imágenes a la derecha muestran ejemplos de filamentos finos, helicoidales y gruesos (arriba hacia abajo) que se obtienen en extractos precipitados con sarkosil.

Anomalías lisosomales

Al nivel ultraestructural observamos un aumento del número de varios cuerpos lisosomales en las neuronas de ratones VLW comparado con las neuronas de ratones del tipo silvestre. Para confirmar esta observación usamos la tinción histoquímica para la actividad de la fosfatasa ácida, un marcador clásico de lisosomas. Comparando ratones VLW con controles del tipo silvestre de la misma edad, observamos un aumento en la intensidad de la tinción en neuronas piramidales de la corteza y el sector CA1 del hipocampo, en un patrón muy similar a lo de la expresión del transgen (Figura 4). Cuantificación de la actividad de la fosfatasa ácida en extractos cerebrales demostró que el aumento de esta enzima en la línea transgénica es específico a las zonas corticales y hipocámpales y no se observa en cerebelo.

Para entender la relevancia de los cambios lisosomales en nuestro modelo animal se resume otras observaciones claves en el campo de la EA: 1) en la

secuencia de la progresión neurodegenerativa de la EA, las neuronas más susceptibles son las más pigmentadas⁷. El sistema endosomal-lisosomal tiene un papel central en el transporte de pigmentos neuronales como la lipofuscina; 2) en cerebros de víctimas de la EA se observa una activación del sistema endosomal-lisosomal en las neuronas susceptibles⁸. Estos cambios son los más tempranos conocidos en la EA; 3) inhibidores de proteasas lisosomales inducen ovillos específicamente en las regiones vulnerables en la EA⁹. En este estudio, se observó la simultánea inducción de distorsiones en las neuritas de las neuronas afectadas sugiriendo un vínculo entre la agregación de Tau y la citopatología.

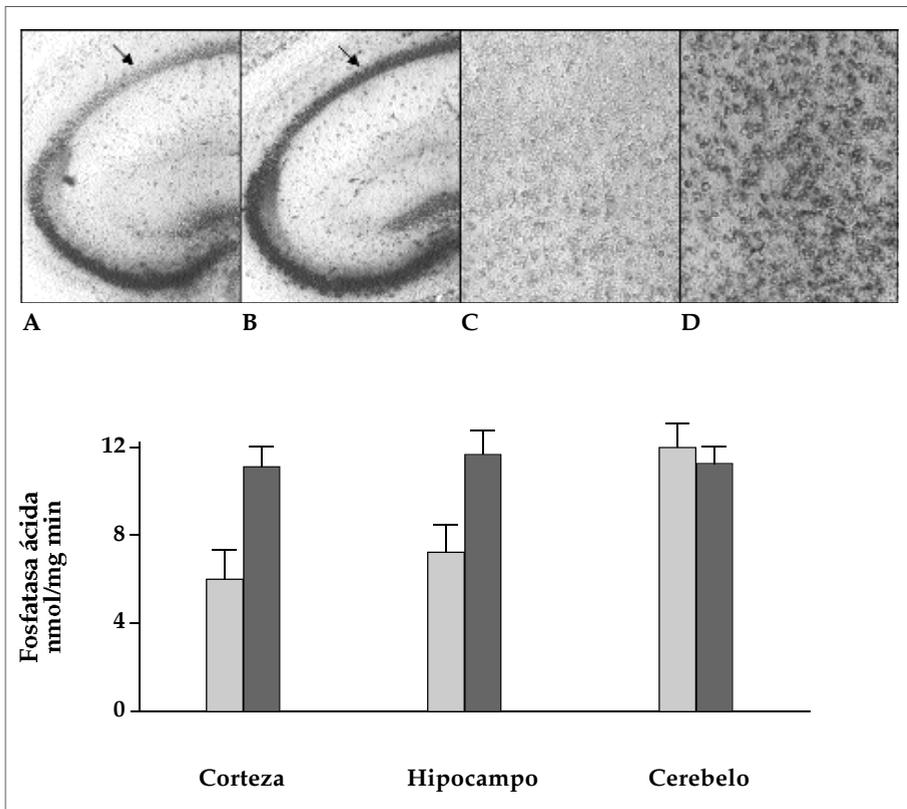


Figura 4

Anomalías lisosomales en ratones transgénicos de la línea VLW. La tinción histoquímica para la actividad de la fosfatasa ácida (A-D) revela un obvio aumento de esta enzima lisosomal en el sector CA1 del hipocampo (A y B, flechas), y en neuronas piramidales de la corteza (C y D). Esto aumento se observó también en extractos solubles derivados de tejidos corticales y hipocampales, pero no se observó en cerebelo.

Para investigar la posibilidad de que la mera sobre-expresión del transgen humano era responsable para las anomalías lisosomales, generamos neuroblastomas transfectadas de manera estable con el gen de tau normal o la versión mutada VLW. Análisis por Western blot confirmó niveles similares de Tau total en las células transfectadas con tau mutado comparado con las sin transfectar o transfectadas con tau normal. Sin embargo en las células expresando la proteína mutada observamos un gran aumento en la actividad de la fosfatasa ácida tanto en extractos solubles como en tinciones citoquímicas. Estos datos indican que la inducción de las anomalías lisosomales en los ratones VLW se debe en gran parte a las mutaciones de tau, y no a la sobre-expresión de la proteína.

Resumen y Conclusiones

En resumen, hemos generado la línea transgénica VLW que desarrolla neuronas con una morfología “pre-ovillo” en regiones del hipocampo y de la corteza. Notablemente, estos ratones no demuestran déficits motores y por lo tanto tienen un gran potencial para el uso en estudios de comportamiento. De nuestras observaciones podemos concluir que mutaciones en el gen de tau son suficientes para inducir: hiperfosforilación de la proteína Tau; agregados filamentosos de la proteína Tau; anomalías en los sistemas endosomales/lisosomales.

Recientemente dos grupos observaron que el aumento de niveles de péptidos A β en ratones transgénicos expresando tau mutante puede intensificar la patología debido a Tau solo, resultando en la formación de ovillos neurofibrilares y pérdida neuronal^{10,11}. Sin embargo, las líneas transgénicos de tau mutante utilizados en estos estudios demuestran altos niveles de expresión del transgen en medula espinal, dando lugar a anomalías motoras. Por lo tanto, aunque estos animales tienen mucho potencial como modelos de histopatología, tienen poca utilidad en estudios de comportamiento y posiblemente no recapitulan las modificaciones en los patrones de expresión de proteínas específicos de regiones anatómicas que se observan en la enfermedad humana.

GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 beta) es una quinasa de Tau que fosforila muchos de los epítomos de Tau con niveles elevados en la EA (revisado en ⁶). La pregunta si la GSK3 β es necesario para la formación de filamentos de Tau tiene una gran importancia para la definición de una diana para fármacos en la terapia de la EA pero ha sido difícil contestar hasta ahora debido a la ausencia de modelos animales adecuados y la disponibilidad de inhibi-

dores específicos de la GSK3. Actualmente varias empresas farmacéuticas han generado compuestos que inhiben la GSK3 *in vitro* y necesitan verificación *in vivo*. Por otra parte, en nuestro laboratorio, se han manipulado los niveles de la GSK3 mediante la sobre-expresión con vectores virales¹² y en ratones transgénicos con la expresión condicional de la quinasa¹³. En estos animales se ha observado Tau hiperfosforilado, gliosis y un aumento de apoptosis en hipocampo, apoyando la idea de que la fosforilación de Tau tiene un papel en la pérdida neuronal.

Finalmente, con respecto al mecanismo de la neurodegeneración en la EA, un problema practica ha sido los tiempos largos necesarios para observar pérdida neuronal. Sin embargo existen ahora datos indicando que cambios en los sistemas endosomales/lisosomales subyacen a la pérdida sináptica y neuronal, y posiblemente preceden la aparición de ovillos neurofibrilares⁸. La identificación de los cambios en los componentes y funciones de los sistemas endosomales/lisosomales será un paso importante para vincular la patología de Tau y la neurodegeneración.

Basados en esta evidencia, proponemos la hipótesis que las causas primarias de las taupatías como niveles elevados de Ab en la EA o mutaciones en el gen de tau en FTDP-17 provocan modificaciones en la proteína Tau como la hiperfosforilación mediado por la GSK3 β . Estas modificaciones facilitan la agregación de Tau y provocan anomalías en los sistemas endosomales/lisosomales que acaban resultando en la pérdida sináptica y neuronal.

Bibliografía

1. Arriagada PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 1992, 42: 631-9.
2. Selkoe DJ Alzheimer's disease: genotypes, phenotypes, and treatments. *Science* 1997, 275: 630-1.
3. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, PickeringBrown S, Chakraverty S, Isaacs A, Grover A, Hackett J, Adamson J, Lincoln S, Dickson D, Davies P, Petersen RC, Stevens M, deGraaff E, Wauters E, vanBaren J, Hillebrand M, Joosse M, Kwon JM, Nowotny P, Che LK, Norton J, Morris JC, Reed LA, Trojanowski J, Basun H, Lannfelt L, Neystat M, Fahn S, Dark F, Tannenberg T, Dodd PR, Hayward N, Kwok JBJ, Schofield PR, Andreadis A, Snowden J, Craufurd D, Neary D, Owen F, Oostra BA, Hardy J, Goate A, vanSwieten J, Mann D, Lynch T, Heutink P Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998, 393: 702-705.
4. Goedert M, Spillantini MG Tau mutations in frontotemporal dementia FTDP-17 and their relevance for Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1502: 110-21.
5. Lim F, Hernández F, Lucas JJ, Gómez-Ramos P, Morán MA, Ávila J FTDP-17 Mutations in tau transgenic mice provoke lysosomal abnormalities and tau filaments in forebrain. *Mol Cell Neurosci* 2001, 18: 702-714.
6. Imahori K, Uchida T Physiology and pathology of tau protein kinases in relation to Alzheimer's disease. *J Biochem (Tokyo)* 1997, 121: 179-88.
7. Braak E, Griffing K, Arai K, Bohl J, Bratzke H, Braak H Neuropathology of Alzheimer's disease: what is new since A. Alzheimer? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999, 249: 14-22.
8. Cataldo AM, Peterhoff CM, Troncoso JC, Gomez-Isla T, Hyman BT, Nixon RA Endocytic pathway abnormalities precede amyloid beta deposition in sporadic Alzheimer's disease and Down syndrome: differential effects of APOE genotype and presenilin mutations. *Am J Pathol* 2000, 157: 277-86.
9. Bi X, Zhou J, Lynch G Lysosomal protease inhibitors induce meganeurites and tangle-like structures in entorhinohippocampal regions vulnerable to Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1999, 158: 312-27.
10. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, Yen SH, Sahara N, Skipper L, Yager D, Eckman C, Hardy J, Hutton M, McGowan E Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001, 293: 1487-91.
11. Gotz J, Chen F, van Dorpe J, Nitsch RM Formation of neurofibrillary tangles in P3011 tau transgenic mice induced by A β 42 fibrils. *Science* 2001, 293: 1491-5.
12. Muñoz-Montañó JR, Lim F, Moreno FJ, Avila J, Díaz-Nido J Glycogen synthase kinase-3 regulates neurite outgrowth in cultured neurons: implications for neuropathology in Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Research* 1999, 1: 361-378.
13. Lucas JJ, Hernandez F, Gomez-Ramos P, Moran MA, Hen R, Avila J Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3 β conditional transgenic mice. *Embo J* 2001, 20: 27-39.

CAPÍTULO 6

RATONES TRANSGÉNICOS CONDICIONALES DE GSK-3 β COMO MODELO ANIMAL DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JOSÉ J. LUCAS, TOBÍAS ENGEL,
CRISTINA PLATA, ELENA LANGA,
JESÚS AVILA Y FÉLIX HERNÁNDEZ

*Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa"
(CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por ser crónicas y progresivas y por presentar una pérdida simétrica de neuronas. Dependiendo de que las neuronas que degeneran sean motoras, sensoriales o cognitivas o una combinación de varias, la sintomatología varía de unas enfermedades a otras (Epstein, 1999). Otro aspecto importante de estas patologías es que las neuronas afectadas suelen presentar alteraciones intracelulares en forma de acúmulos proteicos aberrantes (Epstein, 1999).

Muchos de estos trastornos van asociados al envejecimiento y pueden tener manifestaciones con aspectos comunes a muchas de ellas. Así pues, el análisis de la sintomatología, el patrón de muerte y la naturaleza de los agregados intraneuronales ha permitido la identificación y diferenciación de un gran número de estas patologías. Se citan a continuación varios ejemplos:

En la enfermedad de Alzheimer (AD), que cursa con demencia progresiva, degeneran neuronas de la corteza, el hipocampo y la amígdala; y en su interior se encuentran los ovillos neurofibrilares formados por la proteína Tau.

En la enfermedad de Parkinson (PD), que cursa con rigidez y temblor, degeneran neuronas de la sustancia nigra; y en su interior se encuentran los cuerpos de Lewy formados por la proteína α -sinucleína.

En la enfermedad de Huntington (HD), que cursa con demencia subcortical, movimientos coreícos y rigidez, degeneran neuronas del estriado y la corteza; y en su interior se encuentran las inclusiones intranucleares formadas por poli-glutamina.

La relevancia de estas enfermedades en los países desarrollados aumenta en paralelo con la esperanza de vida y no existe cura para ninguna de ellas. Sólo en algunas de ellas se dispone de tratamientos paliativos que contrarrestan la deficiencia de determinados neurotransmisores (ej.: acetil-colina en Alzheimer y dopamina en Parkinson).

Avances en el conocimiento de las causas moleculares de las enfermedades neurodegenerativas

En los últimos veinte años se han producido grandes avances en el conocimiento de los mecanismos moleculares responsables de las enfermedades neurodegenerativas. Los primeros avances fueron asociados a la purificación e identificación de las proteínas que forman los agregados aberrantes, mediante técnicas bioquímicas y de biología molecular (Hardy and Gwinn-Hardy, 1998). Así se descubrió la contribución de la proteína del prión, de la precursora del amiloide y del Tau.

Un avance aún más espectacular ha tenido lugar en los últimos siete años gracias a las técnicas de genética humana y clonaje posicional (Hardy and Gwinn-Hardy, 1998). Esto ha sido posible porque en casi todas las enfermedades neurodegenerativas, que son fundamentalmente de naturaleza esporádica, un pequeño porcentaje de los casos es de naturaleza hereditaria y más concretamente autosomal dominante (exceptuando el caso de las estrictamente hereditarias como el Huntington y las ataxias espinocerebelosas).

Desde el año 1993 en que se descubrió por clonaje posicional la mutación responsable de la enfermedad de Huntington, se han ido sucediendo el hallazgo de genes y mutaciones capaces de desencadenar las distintas enfermedades neurodegenerativas (Hardy and Gwinn-Hardy, 1998). Se citan a continuación algunos ejemplos:

HD: expansión de poli-glutamina en el gen htt
ALS (esclerosis lateral amiotrófica): mutaciones en SOD1

AD: mutaciones en: proteína precursora del amiloide
 PS-1
 PS-2
 PD: mutaciones en: α -sinucleína

La enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es la patología neurodegenerativa más frecuente en los países desarrollados. El deterioro cognitivo progresivo característico va acompañado por la atrofia y muerte de determinadas subpoblaciones neuronales así como por la aparición de las dos marcas histopatológicas definitorias de esta enfermedad: las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (Alzheimer, 1911; Yankner, 1996). Las placas seniles son depósitos extracelulares formados fundamentalmente por el péptido amiloide (A β) y, a menudo, rodeadas de neuritas distróficas (Masters et al., 1985; Selkoe, 1994). Los ovillos neurofibrilares (también denominados "tangles") son estructuras intraneuronales formadas por los filamentos helicoidales apareados (PHFs) que a su vez están formados por la proteína tau aberrantemente hiperfosforilada (Grundke-Iqbal et al., 1986; Lee et al., 1991).

Estudios genéticos realizados en las familias afectadas de la forma hereditaria de la enfermedad de Alzheimer han demostrado que las mutaciones en la proteína precursora del amiloide (APP) y las presenilinas (PS-1 y PS-2) son suficientes para provocar la enfermedad (Hardy, 1996; Price and Sisodia, 1998). Tanto las mutaciones en APP como las de las presenilinas resultan en una mayor producción de A β (Duff et al., 1996; Price and Sisodia, 1998) y han supuesto la confirmación de la llamada "hipótesis del amiloide" que sostiene que la sobreproducción y/o la agregación de A β es la causa primigenia de la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, sigue sin conocerse cuáles son los efectores intracelulares responsables de las disfunción y muerte neuronales.

Tau y GSK-3 en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer

Son numerosas las evidencias de que tau y modificadores de tau como la glucógeno kinasa-3 β (GSK-3 β) median intracelularmente la disfunción neuronal secundaria a la toxicidad del amiloide.

Entre las evidencias de que tau es mediador intracelular clave en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer se encuentran:

- El patrón espacio-temporal de aparición de los ovillos neurofibrilares coincide con los de muerte neuronal y sintomatología (Arriagada et al., 1992; Braak and Braak, 1991; Gomez-Isla et al., 1997).
- Han sido identificadas recientemente numerosas mutaciones en tau que son responsables de la Demencia frontotemporal con parkinsonismo asociada al cromosoma 17 (FTDP-17) (Hutton et al., 1998; Poorkaj et al., 1998). Se trata de una demencia similar a la enfermedad de Alzheimer en sintomatología (demencia), neuropatología (agregados filamentosos de tau) y zonas cerebrales afectadas (corteza e hipocampo). El hallazgo de estas mutaciones demuestra que alteraciones en tau son capaces de inducir neurodegeneración y encaja con nuestra hipótesis de que tau es un mediador de neurodegeneración secundario a la deposición de amiloide (los individuos con estas mutaciones desarrollan una patología similar al Alzheimer, pero sin depósitos de amiloide).

Evidencias de que GSK-3 β participa en la etiología de la enfermedad de Alzheimer:

- GSK-3 β fosforila tau en la mayoría de los sitios que están hiperfosforilados en Alzheimer tanto *in vitro* (Lovestone et al., 1994) como *in vivo* (Hong et al., 1997; Munoz-Montano et al., 1997; Lucas et al., 2001) y se acumula en neuronas "pre-tangle" (Shiurba et al., 1996).
- La toxicidad del A β sobre neuronas en cultivo es mediada por GSK-3 β (Alvarez et al., 1999; Takashima et al., 1993).
- GSK-3 β interacciona directamente con PS-1 y las mutaciones en PS-1 aumentan esta asociación y la fosforilación de tau (Takashima et al., 1998).

Generación de modelos transgénicos de enfermedades neurodegenerativas

La identificación de estas mutaciones dominantes ha permitido en los últimos siete años la generación de modelos animales de estas enfermedades mediante manipulación genética en ratones (Theuring et al., 1997). Fundamentalmente, mediante la producción de ratones transgénicos que sobreexpresan las proteínas mutadas en aquellas regiones del cerebro afectadas en las distintas patologías.

Así, se han sucedido, desde 1995, la publicación de modelos transgénicos de ALS, HD, AD y otras. Estos modelos animales constituyen valiosas herramientas para la elucidación de los mecanismos moleculares por los que se

desencadenan las enfermedades y para ensayar nuevas posibles estrategias terapéuticas.

Modelos transgénicos de AD

Que las mutaciones responsables de AD familiar residieran en los genes APP, PS-1 y PS-2; y que todas estas mutaciones tuvieran como resultado una mayor producción del péptido amiloidogénico A β , confirmaron que la neurotoxicidad inducida por A β es uno de los primeros eventos moleculares en la patogénesis de AD (Price and Sisodia, 1998).

Los avances sucesivos en la producción de modelos transgénicos de AD se han basado en conseguir progresivamente mayores niveles de sobreexpresión de APP y de favorecer la formación del A β más amiloidogénico (el de 42 aminoácidos). Así se han conseguido múltiples líneas de ratones con depósitos de A β en forma de placas como las que se encuentran en AD. Algunos de estos animales muestran además déficits en experimentos de aprendizaje y memoria. Ninguno de estos modelos animales desarrolla ovillos intracelulares ni una clara pérdida neuronal (Price and Sisodia, 1998).

Una posible explicación a la no reproducción de las lesiones intracelulares y la muerte y gliosis de AD en los transgénicos de APP y PS-1 y PS-2, puede ser debida a una barrera de especie en cuanto a la toxicidad del A β . Se ha visto que la inyección intracerebral de microfibrillas de A β produce lesiones intracelulares (de tau) y gliosis en macacos viejos. Esto ocurre en mucha menor medida en macacos jóvenes y apenas en otros primates inferiores, y en absoluto en ratas (Geula et al., 1998).

Generación de ratones transgénicos condicionales de GSK-3 como posible modelo animal de la enfermedad de Alzheimer

Nuestro grupo es pionero en la generación de modelos transgénicos condicionales de enfermedades neurodegenerativas (Yamamoto et al., 2000; Lucas et al., 2001). Este abordaje permite investigar qué aspectos neuropatológicos son reversibles tras la manifestación del fenotipo.

Para explorar la hipótesis de que una desregulación de la actividad GSK-3 puede ser clave en la patogénesis de la EA, decidimos generar ratones transgénicos que sobreexpresaran GSK-3 β en regiones cerebrales relevantes. Como GSK-3 se encuentra en la encrucijada de las rutas de señalización relevantes al mecanismo patogénico de PS-1, A β y tau. Era posible pues, que

estos ratones al mimetizar los efectos de las mutaciones intracelularmente supusieran un modelo de AD que superara en algunos aspectos a los de A β o que se pudiera combinar y complementar con ellos.

Para evitar una posible letalidad perinatal debida al papel de GSK-3 en desarrollo, así como para poder hacer estudios de reversión del posible fenotipo adulto, decidimos usar un sistema condicional (Tet-Off).

Los ratones resultantes, denominados Tet/GSK-3 β , sobrepresan GSK-3 β en hipocampo y corteza. En el hipocampo, y especialmente en el giro dentado, se observa aumento de la fosforilación de tau que resulta en localización somatodendrítica de ésta, disminución de β -catenina nuclear, muerte neuronal (evidenciada por TUNEL) y gliosis reactiva.

Además, los ratones Tet/GSK-3 β se están ensayando en el test de memoria espacial Morris Water Maze. Los resultados preliminares obtenidos hasta la fecha sugieren que estos ratones presentan un déficit, tanto en la fase de adquisición, como en la de prueba.

Estos datos apoyan, por tanto, la hipótesis de que una desregulación de GSK-3 puede ser un mediador clave en la toxicidad iniciada por el péptido A β extracelular. Posteriores estudios de reversión en los ratones adultos sintomáticos permitirán, además, investigar la posible reversión tanto de los aspectos celulares y moleculares del fenotipo como del déficit cognitivo de manera similar a como hicimos en el modelo transgénico condicional de la enfermedad de Huntington (Yamamoto et al., 2000). Esto puede aportar claves sobre qué aspectos de la neuropatología son esenciales para la disfunción cognitiva.

Estos ratones además permitirán ensayar la posible utilidad de nuevos fármacos inhibidores de GSK-3 que están siendo generados en la actualidad como posibles agentes terapéuticos para la enfermedad de Alzheimer.

Bibliografía

- Álvarez, G., Muñoz-Montano, J. R., Satrústegui, J., Ávila, J., Bogonez, E., and Díaz-Nido, J. (1999). Lithium protects cultured neurons against beta-amyloid-induced neurodegeneration. *FEBS Lett* 453, 260-4.
- Alzheimer, A. (1911). Über eigentartige krankheitsfülle des späteren Alters. *Z. Ges. Neurol. Psychiat.* 4, 356-385.
- Arriagada, P. V., Growdon, J. H., Hedley-Whyte, E. T., and Hyman, B. T. (1992). Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42, 631-9.
- Braak, H., and Braak, E. (1991). Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82, 239-59.
- Davies, S. W., Turmaine, M., Cozens, B. A., DiFiglia, M., Sharp, A. H., Ross, C. A., Scherzinger, E., Wanker, E. E., Mangiarini, L., and Bates, G. P. (1997). Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 90, 537-48.
- Duff, K., Eckman, C., Zehr, C., Yu, X., Prada, C. M., Perez-tur, J., Hutton, M., Buee, L., Harigaya, Y., Yager, D., Morgan, D., Gordon, M. N., Holcomb, L., Refolo, L., Zenk, B., Hardy, J., and Younkin, S. (1996). Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 383, 710-3.
- Epstein, F. H. (1999). Molecular basis of the Neurodegenerative disorders. *The New England Journal of Medicine* 340, 1970-80.
- Geula, C., Wu, C. K., Saroff, D., Lorenzo, A., Yuan, M., and Yankner, B. A. (1998). Aging renders the brain vulnerable to amyloid beta-protein neurotoxicity [see comments]. *Nat Med* 4, 827-31.
- Gómez-Isla, T., Hollister, R., West, H., Mui, S., Growdon, J. H., Petersen, R. C., Parisi, J. E., and Hyman, B. T. (1997). Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 41, 17-24.
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y. C., Quinlan, M., Wisniewski, H. M., and Binder, L. I. (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 4913-7.
- Hardy, J. (1996). New insights into the genetics of Alzheimer's disease. *Ann Med* 28, 255-8.
- Hardy, J., and Gwinn-Hardy, K. (1998). Genetic classification of primary neurodegenerative disease. *Science* 282, 1075-9.
- Hong, M., Chen, D. C., Klein, P. S., and Lee, V. M. (1997). Lithium reduces tau phosphorylation by inhibition of glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem* 272, 25326-32.
- Hutton, M., Lendon, C. L., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H., Pickering-Brown, S., Chakraverty, S., Isaacs, A., Grover, A., Hackett, J., Adamson, J., Lincoln, S., Dickson, D., Davies, P., Petersen, R. C., Stevens, M., de Graaff, E., Wauters, E., van Baren, J., Hillebrand, M., Joosse, M., Kwon, J. M., Nowotny, P., Heutink, P., and et al. (1998). Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393, 702-5.
- Lee, V. M., Balin, B. J., Otvos, L., Jr., and Trojanowski, J. Q. (1991). A68: a major subunit of paired helical filaments and derivatized forms of normal Tau. *Science* 251, 675-8.
- Lovestone, S., Reynolds, C. H., Latimer, D., Davis, D. R., Anderton, B. H., Gallo, J. M., Hanger, D., Mulot, S., Marquardt, B., Stabel, S., and et al. (1994). Alzheimer's disease-like phosphorylation of the microtubule-associated protein tau by glycogen synthase kinase-3 in transfected mammalian cells. *Curr Biol* 4, 1077-86.

- Lucas, J.J., Hernández, F, Gómez-Ramos P., Morán M.A., Hen R., and Avila J. (2001) Decreased nuclear β -catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3 β conditional transgenic mice. *EMBO J.* 20: 27-39.
- Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trotter, Y., Leirach, H., Davies, S. W., and Bates, G. P. (1996). Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 87, 493-506.
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L., and Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82, 4245-9.
- Muñoz-Montano, J. R., Moreno, F. J., Ávila, J., and Díaz-Nido, J. (1997). Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 411, 183-8.
- Orr, H. T., and Zoghbi, H. Y. (200). reversing Neurodegeneration: A promise unfolds. *Cell* 101, 1-4.
- Poorkaj, P., Bird, T. D., Wijsman, E., Nemens, E., Garruto, R. M., Anderson, L., Andreadis, A., Wiederholt, W. C., Raskind, M., and Schellenberg, G. D. (1998). Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 43, 815-25.
- Price, D. L., and Sisodia, S. S. (1998). Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annu Rev Neurosci* 21, 479-505.
- Selkoe, D. J. (1994). Normal and abnormal biology of the beta-amyloid precursor protein. *Annu Rev Neurosci* 17, 489-517.
- Shiurba, R. A., Ishiguro, K., Takahashi, M., Sato, K., Spooner, E. T., Mercken, M., Yoshida, R., Wheelock, T. R., Yanagawa, H., Imahori, K., and Nixon, R. A. (1996). Immunocytochemistry of tau phosphoserine 413 and tau protein kinase I in Alzheimer pathology. *Brain Res* 737, 119-32.
- Takashima, A., Murayama, M., Murayama, O., Kohno, T., Honda, T., Yasutake, K., Nihonmatsu, N., Mercken, M., Yamaguchi, H., Sugihara, S., and Wolozin, B. (1998). Presenilin 1 associates with glycogen synthase kinase-3 β and its substrate tau. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 9637-41.
- Takashima, A., Noguchi, K., Sato, K., Hoshino, T., and Imahori, K. (1993). Tau protein kinase I is essential for amyloid beta-protein-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 7789-93.
- Theuring, F., Thuncke, M., Kosciessa, U., and Turner, J. D. (1997). Transgenic animals as models of neurodegenerative disease in humans. *Trends in Biotechnology* 15, 320-5.
- Yamamoto, A., Lucas, J. J., and Hen, R. (2000). Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* 101, 57-66.
- Yankner, B. A. (1996). Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron* 16, 921-32.

CAPÍTULO 7

DIANAS TERAPÉUTICAS COLINÉRGICAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

LUIS GANDÍA, JONATHAN ROJO,
JUANA M. GONZÁLEZ-RUBIO, LAURA TAPIA,
RICARDO DE PASCUAL y
JESÚS M. HERNÁNDEZ-GUIJO

*Instituto Teófilo Hernando,
Departamento de Farmacología y Terapéutica,
Facultad de Medicina,
Universidad Autónoma de Madrid*

Resumen

De los múltiples sistemas de neurotransmisores implicados en la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer, el mejor caracterizado es el sistema colinérgico. Fisiológicamente, la sinapsis colinérgica asegura su funcionalidad con la síntesis de acetilcolina (por la enzima colinoacetilasa) a nivel de la terminal presináptica, y su unión a receptores muscarínicos y nicotínicos tanto presinápticos como postsinápticos, y su rápida degradación por la enzima acetilcolinesterasa.

La actividad colinoacetilasa sólo se deteriora en estadios muy avanzados de la enfermedad. Los receptores muscarínicos parecen estar disminuidos y se sabe que los bloqueantes muscarínicos (p. ej. escopolamina) provocan un deterioro de la cognición y, por tanto un agonista muscarínico podría resultar útil para mejorar el aprendizaje en estos pacientes. Sin embargo, existen datos contradictorios entre algunos ensayos clínicos realizados con agonistas muscarínicos en pacientes de Alzheimer. La gran barrera que hay que salvar con los agonistas muscarínicos para convertirlos en herramientas terapéuticamente eficaces es la de sus efectos adversos periféricos. Puesto que existen, al menos, cinco subtipos de receptores muscarínicos, cabe pensar que si se encontraran agonistas selectivos para alguno de ellos pudieran paliarse sus efectos adversos periféricos, conservando la mejoría de la función cognitiva.

Por otro lado, ya es antigua la idea de que los agonistas nicotínicos mejoran la memoria y el aprendizaje y que los antagonistas que cruzan la barrera hematoencefálica la deterioran. Sin embargo, los agonistas nicotínicos (la propia nicotina, la epibatidina, la colina, la citisina, el dimetil-fenil-piperazinio) no se han labrado aún un claro camino clínico, quizás porque desensibilizan los receptores y modifican su expresión; pero se buscan con ahínco agonistas más selectivos para los distintos subtipos de receptores nicotínicos neuronales a los que se les ha relacionado con los procesos cognitivos (receptores $\alpha 4\beta 2$) o con efectos neuroprotectores (receptores $\alpha 7$).

Finalmente cabe destacar la atención centrada recientemente en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa que, al prevenir la hidrólisis de la acetilcolina, aumenta la biodisponibilidad del neurotransmisor en las sinapsis colinérgicas. Al inhibir la enzima, se van a elevar indiscriminadamente los niveles de acetilcolina sináptica, facilitando los efectos del neurotransmisor, tanto a nivel nicotínico como a nivel muscarínico.

1. Introducción

En los últimos tiempos la esperanza de vida de la población ha aumentado considerablemente y con ello se está produciendo un significativo incremento en la incidencia y prevalencia de ciertas patologías características de la población anciana. Así, la demencia, y más concretamente aquella relacionada con la enfermedad de Alzheimer, constituye un claro ejemplo de este aumento, estimándose que esta patología afecta hasta al 10% de los individuos mayores de 65 años y hasta al 40% de los individuos de 90 años (Evans y col., 1989; Launer et al., 1999), estimándose en unos 600.000 los pacientes que la padecen en nuestro país.

En la fisiopatología del Alzheimer se han implicado diversas alteraciones histopatológicas, entre las que cabe destacar una marcada atrofia de la corteza cerebral, con pérdida de neuronas corticales y subcorticales; y la formación de las denominadas "placas seniles", consistentes en acumulaciones de la proteína beta-amiloide, con degeneraciones neuríticas y ovillos neurofibrilares, compuestos de pares de filamentos helicoidales y de otras proteínas, entre otras la proteína tau hiperfosforilada (Whitehouse et al., 1982; Selkoe 1989, 1994; Avila 2000). El deterioro cognitivo de los pacientes con Alzheimer presenta una correlación directa con la presencia y el número de estas formaciones, que son particularmente notables a nivel del hipocampo y en

zonas asociativas de la corteza cerebral, mientras que la pérdida neuronal afecta particularmente a las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert (Whitehouse et al., 1982).

Desde la óptica neuroquímica, en la enfermedad de Alzheimer se produce una superexpresión de la proteína precursora amiloidea, la hiperfosforilación de la proteína tau (Avila, 2000) y la disminución de los niveles de las enzimas colino-acetiltransferasa (Coyle et al., 1983) y acetilcolinesterasa y del número de receptores nicotínicos para la acetilcolina. De los cambios bioquímicos observados, tan solo la reducción del número de receptores nicotínicos funcionales guarda relación con los síntomas neurológicos y la gravedad de la enfermedad, lo que ha llevado al establecimiento de la que podríamos denominar "teoría colinérgica" (Bartus et al., 1982; García, 2002), que ha proporcionado la primera aproximación racional para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Entre los hallazgos que han conducido a postular esta "teoría colinérgica del Alzheimer" podemos destacar:

- 1- Diferentes estudios postmortem de unión de [³H]-nicotina a membranas y rodajas cerebrales (autorradiografía), estudios de imagen con tomografía de emisión de positrones (PET) utilizando [¹¹C]-nicotina y estudios inmunohistoquímicos utilizando anticuerpos selectivos, muestran una reducción en la densidad de receptores nicotínicos (Perry et al., 1995; Nordberg et al., 1993, 1995; Shiver et al., 1999; Martín-Ruiz et al., 1999; Wevers et al., 1999; Guan et al., 2000; Burghaus et al., 2000) en diferentes áreas cerebrales.
- 2- Se ha observado una disminución del número de placas necróticas en cerebros de fumadores, en comparación con los de no fumadores (Ulrich et al., 1997), si bien no está claramente establecido si el hábito de fumar puede ser considerado o no como un factor de protección frente al desarrollo de la enfermedad, encontrándose tanto datos que sugieren una correlación negativa entre el hábito de fumar y el desarrollo de la enfermedad (Brenner et al., 1993), como estudios que sugieren la existencia de una correlación positiva entre estos dos factores (Shalat et al., 1987).
- 3- Por otro lado, en pacientes fumadores existe una mayor densidad de receptores nicotínicos cerebrales, al mismo tiempo que se observa una menor neurodegeneración (Nordberg et al., 1995). Esta acción "neuroprotectora" de la nicotina se relacionaría con la capacidad de ésta de inducir la síntesis de factores de crecimiento nervioso o de reducir la citotoxicidad para glutamato; recientemente se ha descrito que este papel neuroprotector de los agentes nicotínicos estaría mediado por los receptores del subtipo $\alpha 7$ (Donnelly-Roberts et al., 1996; Kaneko et al., 1997; Shimohama

et al., 1998) probablemente debido a la mayor permeabilidad al catión Ca^{2+} de este subtipo receptorial.

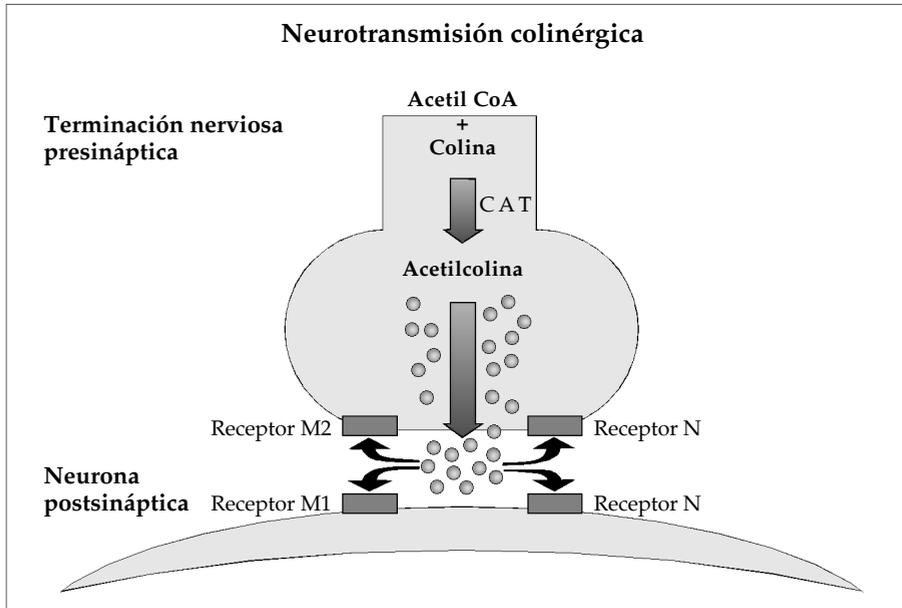
- 3- La neurotransmisión colinérgica nicotínica está también implicada en los procesos de aprendizaje y memoria y así se ha podido observar que la administración de agonistas nicotínicos mejoran el aprendizaje en modelos animales (Summers y Giacobini, 1995), así como una mejoría de las funciones cognitivas en pacientes con enfermedad de Alzheimer a los que se administró nicotina por vía sistémica (Newhouse et al., 1988; Shaha-kian et al., 1989), mientras que la administración de un antagonista de los receptores nicotínicos como la mecamilamina puede empeorar estas funciones en sujetos sanos (Newhouse et al., 1994).

Por otro lado, los cambios en el estado de ánimo, así como las crisis depresivas que pueden aparecer en estos pacientes, sobre todo en estadios avanzados de la enfermedad, parecen relacionarse con déficits en la neurotransmisión serotoninérgica, fundamentalmente debidos a una reducción en los niveles de serotonina a nivel de estas sinapsis.

2. Neurotransmisión colinérgica y enfermedad de Alzheimer

Como ya hemos mencionado, de los múltiples sistemas neurotransmisores implicados en la patogenia y fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer, el mejor caracterizado es el colinérgico. En esta sección revisaremos breve y esquemáticamente las principales características de la neurotransmisión colinérgica, lo que nos ayudará a entender las aproximaciones terapéuticas que se han aplicado para tratar de incrementar la neurotransmisión colinérgica deficitaria.

La sinapsis colinérgica (figura 1) asegura su funcionalidad mediante la síntesis de acetilcolina (ACh) por acción de la enzima colinoacetilasa, también conocida como colino-acetil-transferasa (CAT). Esta enzima es sintetizada en el soma de las neuronas colinérgicas siendo posteriormente transportada hacia el axón donde va a intervenir en la síntesis de la ACh a partir de sus precursores fisiológicos acetyl-coenzima A y colina. La colina procede del medio extracelular, donde existe a concentraciones micromolares bajas, siendo captada hacia la terminal colinérgica por acción de un transportador, siendo por tanto éste un factor limitante en la síntesis de ACh. La síntesis de la ACh se produce en el citosol, siendo posteriormente almacenada, gracias a la acción de un transportador, en vesículas sinápticas que, mediante un proceso de exocitosis dependiente de calcio, serán liberadas al espacio sináptico.

**Figura 1**

Representación esquemática de los pasos implicados en la neurotransmisión a nivel de una sinapsis colinérgica.

Una vez liberada, la ACh se va a unir a receptores muscarínicos y nicotínicos presentes tanto a nivel presináptico como a nivel postsináptico. Los receptores muscarínicos localizados a nivel postsináptico, fundamentalmente del subtipo M1, parecen estar relacionados con procesos de aprendizaje, mientras que los localizados a nivel presináptico, generalmente del subtipo M2 parecen ejercer un efecto de retroalimentación negativa, reduciendo la liberación de ACh. Con respecto a los receptores nicotínicos, existe una amplia variedad de ellos que ejercen múltiples funciones a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), si bien en términos generales puede decirse que los receptores nicotínicos presinápticos ejercen un papel modulador de la liberación de neurotransmisores, mientras que los postsinápticos median procesos de transmisión sináptica excitatoria. Además, algunos subtipos de receptores nicotínicos parecen relacionarse con procesos de plasticidad y desarrollo neuronal, así como con efectos neuroprotectores, como más adelante comentaremos.

Una vez ejercida su acción sobre los diferentes receptores colinérgicos, la ACh va a ser rápidamente eliminada de la hendidura sináptica mediante la

acción de la acetilcolinesterasa (AChE). Esta enzima también es sintetizada por las propias neuronas colinérgicas, siendo liberada a la hendidura sináptica donde se va a asociar a las membranas colinérgicas de la terminal axónica. La AChE degrada la ACh en colina y ácido acético, siendo la colina recaptada en su mayor parte por la terminal presináptica para ser reutilizada para la síntesis de nueva ACh.

3. Estrategias farmacoterápicas enfocadas a mejorar la neurotransmisión colinérgica

Tomando como base el esquema de funcionamiento fisiológico de una sinapsis colinérgica descrito en el apartado anterior, podemos identificar varias aproximaciones terapéuticas que pueden contribuir a mejorar la neurotransmisión colinérgica deficitaria, entre las que podemos destacar las siguientes (figura 2):

- Precusores de la síntesis de acetilcolina
- Agonistas/antagonistas de los receptores muscarínicos
- Agonistas de los receptores nicotínicos
- Inhibidores de la acetilcolinesterasa
- Moduladores alostéricos de los receptores nicotínicos neuronales

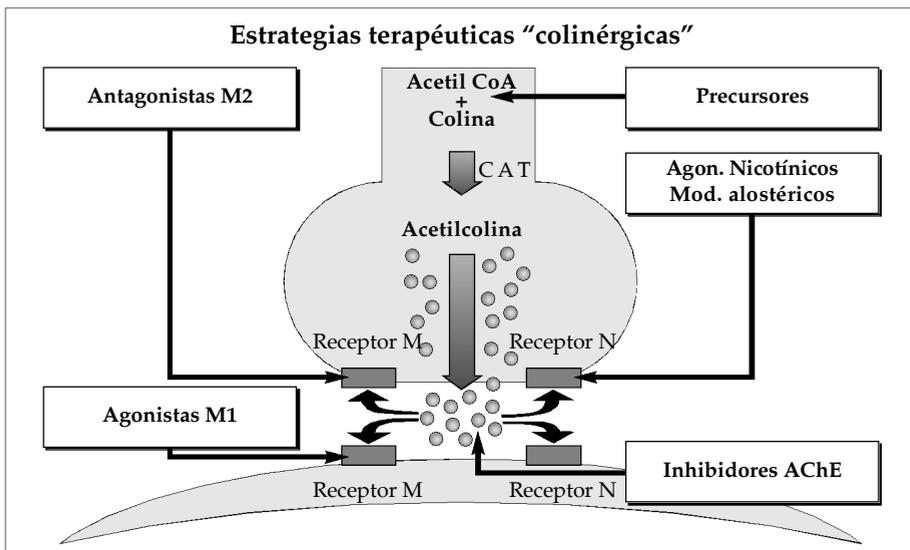


Figura 2

Posibles dianas terapéuticas para mejorar la neurotransmisión colinérgica.

a) Precursores de la síntesis de acetilcolina

Al postularse la “teoría colinérgica del Alzheimer” (Bartus et al., 1982) se pensó que, de forma similar a lo que ocurría en otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson en la que se obtenían buenos resultados terapéuticos administrando el precursor L-Dopa, este mismo tipo de abordaje terapéutico podría resultar de utilidad clínica en pacientes de Alzheimer (Davis et al., 1993). Sin embargo, los primeros intentos de tratamiento de pacientes de Alzheimer con precursores colinérgicos (principalmente colina y lecitina) no resultaron satisfactorios, no pudiéndose confirmar la utilidad clínica de estos agentes mediante ensayos clínicos controlados (Amenta et al., 2001).

Las razones de este “fracaso terapéutico” con los precursores colinérgicos no están claramente establecidas. La colina necesaria para la síntesis de ACh proviene fundamentalmente de la dieta, aunque cuando este aporte resulta insuficiente, se puede obtener colina a partir de la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana, un mecanismo denominado de “autocanibalismo” y que podría estar implicado en la degeneración de las neuronas colinérgicas que ocurre en el Alzheimer (Wurtman et al., 1990). Se sabe que la administración de suplementos dietéticos de colina incrementa la biodisponibilidad de este compuesto a nivel cerebral pero sin embargo no se ha podido demostrar con rotundidad que esta aproximación se correlacione con un incremento significativo de la síntesis y/o la liberación de ACh en las neuronas colinérgicas (Wecker, 1990), aunque tampoco se puede descartar que la administración exógena de colina ejerza un efecto preventivo del daño de membrana que resultaría de una actividad colinérgica intensa (Davis et al., 1993), pensándose que los precursores de la ACh deben incorporarse y almacenarse en forma de fosfolípidos de membrana como paso previo a su incorporación a la ruta biosintética de la ACh (Blusztajn et al., 1987).

Los primeros ensayos clínicos con lecitina (fosfatidilcolina) se realizaron en el año 1986, administrándose en combinación con otros agentes, principalmente con inhibidores de la colinesterasa. Estos estudios se basaron en el hecho de que la lecitina constituye la principal fuente dietética de colina y que, en determinadas circunstancias, podría ser transformada en ACh (Jope, 1982; Blusztajn et al., 1987; Chung et al., 1995). Los resultados de un total de 12 ensayos clínicos controlados en los que se compara la eficacia de la administración de lecitina en monoterapia con placebo en pacientes con demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia mixta, demencia en pacientes con Parkinson y problemas subjetivos de memoria han sido revisados recientemente por la colaboración Cochrane (Higgins y Flicker, 2000).

Entre las conclusiones de este estudio cabe destacar que la lecitina parece efectiva en problemas subjetivos de memoria pero no existen datos significativos que apoyen su uso en pacientes con demencia de la edad adulta.

Otros fosfolípidos implicados en las rutas biosintéticas de la colina, como la CDP-colina, la colina-alfoscerato y la fosfatidilserina sí que parecen incrementar la síntesis y liberación de la ACh, habiéndose descrito una pequeña mejoría de las funciones cognitivas en pacientes de Alzheimer a los que se administró estos compuestos. Si bien estos resultados parecen prometedores (especialmente los obtenidos con colina-alfoscerato), lamentablemente no pueden ser generalizados debido al pequeño número de pacientes incluidos en estos estudios, siendo necesario confirmar estos efectos beneficiosos mediante la realización de más ensayos clínicos controlados que incluyan un mayor número de pacientes (Amenta et al., 2001).

b) Agonistas/antagonistas de los receptores muscarínicos

Entre los hechos que llevaron a postular la hipótesis colinérgica del Alzheimer cabe destacar la observación de que la administración de escopolamina, un antagonista de los receptores muscarínicos, a voluntarios sanos jóvenes inducía un deterioro cognitivo similar al encontrado en pacientes adultos con demencia (Drachman y Leavitt, 1974). La escopolamina sume al sujeto que la ingiere en la "fuente del olvido" y por ello se utilizó un tiempo como medicación preanestésica (Safer y Allen, 1971).

Lógicamente, un fármaco con actividad agonista de los receptores muscarínicos debería poseer los efectos opuestos a los de escopolamina, devolviendo al individuo a la "fuente de la memoria". Y, de hecho, así ocurre en modelos animales de aprendizaje (Leveley, 1996; Avery et al., 1997); sin embargo, los diferentes estudios desarrollados con agonistas muscarínicos no han contribuido a generar fármacos de uso clínico, habiéndose obtenido datos dudosos sobre su beneficio clínico que, junto a la baja biodisponibilidad oral de los productos empleados (por ejemplo oxotremorina, arecolina y pilocarpina), su elevada incidencia de efectos adversos periféricos de tipo parasimpático sobre corazón (bradicardia), glándulas (hipersecreción), fibra lisa (hiperperistaltismo intestinal, calambres abdominales, náuseas, vómitos), y su corta duración de acción han frenado el desarrollo de este grupo de agentes terapéuticos (Caine, 1980).

Las razones de esta complejidad radican en primer lugar en la diversidad de receptores muscarínicos presentes en el SNC. Actualmente se conocen hasta 5 subtipos de receptores muscarínicos en base a su respuesta a diferen-

tes ligandos, así como por sus propiedades de fijación de radioligandos y segundos mensajeros implicados en las respuestas mediadas por estos subtipos de receptores (Caulfield, 1993). Entre estos 5 subtipos cabe destacar el papel de los receptores M1, de localización preferentemente postsináptica, y los receptores M2, de localización presináptica e implicados en un efecto de retroalimentación negativa sobre el control de la liberación de ACh (Davis et al., 1993). El significado funcional de los receptores M3-M5 todavía no está claramente establecido. Esta complejidad receptorial hace que el fármaco anti-Alzheimer ideal fuese aquel que pudiese estimular los receptores postsinápticos M1 y antagonizar los receptores presinápticos M2 simultáneamente, combinación de efectos que se traduciría en un incremento en las funciones cognitivas.

Aunque en los últimos años se han desarrollado innumerables esfuerzos para conseguir este fármaco ideal, éste no se ha podido todavía conseguir ya que muchos de los agonistas M1 sintetizados muestran solo una modesta selectividad por este subtipo de receptor, con lo que no ha sido posible evitar los efectos adversos debidos fundamentalmente a efectos sobre los receptores M3 localizados a nivel intestinal, urinario y pulmonar. Por otra parte, la ausencia de selectividad receptorial también va a limitar la eficacia del fármaco, debido a su efecto sobre los autorreceptores presinápticos M2, que conduce a una reducción de la liberación de ACh (Greenlee et al., 2001). A pesar de estas aparentes limitaciones, y gracias a los esfuerzos desarrollados por la industria farmacéutica, actualmente se dispone de al menos seis nuevos agonistas muscarínicos con cierta selectividad por receptores M1 en fase III de ensayos clínicos (xanomelina, milamelina, sabcomelina, cevimelina, talsaclidina y alvamelina), así como otros fármacos en fase II (arecolina, SR-46559-A, YM-796 y CI-1017), muchos de los cuales han demostrado eficacia clínica, medida mediante diversas escalas de aprendizaje y de conducta (Greenlee et al., 2001).

También se están desarrollando nuevos y potentes antagonistas de los receptores muscarínicos M2 (p. ej. BIBN-99, SCH-57790, SCH-217443) que, aunque no han conseguido resolver totalmente el problema de la selectividad M2 frente a otros subtipos de receptores muscarínicos (Clader, 1999), sí que han demostrado mejorar el aprendizaje en diversos modelos animales (Doods, 1995; Clader, 1999; Greenlee et al., 2001), esperándose que este tipo de fármacos pueda resultar de utilidad clínica para el tratamiento de los pacientes con Alzheimer, bien en monoterapia o en combinación con otros agentes como los inhibidores de la acetilcolinesterasa.

Por otro lado, debemos destacar la gran controversia existente actualmente sobre si el número de receptores muscarínicos está o no disminuido

en pacientes con Alzheimer. Así, estudios basados en la fijación de radioligandos muestran que no hay diferencias significativas en el número de receptores muscarínicos entre pacientes de Alzheimer e individuos normales en áreas como el hipocampo (Perry et al., 1977; Davies y Verth, 1977; Palacios, 1982; Lang y Henke, 1983; Probst et al., 1988) o en corteza cerebral (Lang y Henke, 1983; Kellar et al., 1987; Flynn et al., 1995; Pavía et al., 1998), mientras que otros estudios describen un descenso, generalmente moderado, del número de receptores muscarínicos tanto en hipocampo (Reisine et al., 1978; Rinne et al., 1985; Araujo et al., 1988; Smith et al., 1988) como en córtex (Mash et al., 1986; Araujo et al., 1988; Smith et al., 1989). Estudios en los que se ha realizado una cuantificación del número de receptores muscarínicos mediante el uso de anticuerpos marcados describen una reducción del número de receptores muscarínicos m_1 y m_2 en diversas áreas del hipocampo y de la corteza, junto a un incremento de receptores muscarínicos de tipo m_4 en córtex (Flynn et al., 1995).

Finalmente, cabe destacar que frente a esta controversia existente respecto al número de receptores muscarínicos, lo que está más claramente establecido es la existencia de alteraciones en los mecanismos de transducción de la señal. El receptor M1 se encuentra funcionalmente acoplado a una proteína G que, activando la fosfolipasa C, va a generar diacilglicerol e IP_3 , movilizándolo en última instancia calcio desde los depósitos intracelulares sensibles a IP_3 . Diversos estudios han mostrado que los niveles de proteína G se encuentran normales en pacientes con Alzheimer, no así su funcionalidad (Greenwood et al., 1995), ocurriendo lo mismo con la fosfolipasa C, cuyos niveles son normales pero cuya activación por proteínas G se encuentra reducida en un 50% en pacientes con Alzheimer (Li et al., 1996). El metabolismo de los fosfoinosítoles también se encuentra alterado en estos pacientes, habiéndose observado unos niveles de fosfoinosítol en el córtex un 40% inferiores respecto a cerebros controles (Stokes y Hawthorne, 1987), una marcada reducción (40-50%) en la hidrólisis de fosfoinosítoles en el córtex (Crews et al., 1994), y una reducción en el número de receptores para IP_3 a nivel de los depósitos intracelulares de Ca^{2+} (Garlind et al., 1995).

c) Agonistas nicotínicos

Otra estrategia con potencialidad terapéutica en la enfermedad de Alzheimer consistiría en la aportación exógena de agentes agonistas selectivos de los receptores nicotínicos neuronales para suplir el déficit colinérgico de estos pacientes. Ya es antigua la idea de que los agonistas nicotínicos mejo-

ran la memoria, el aprendizaje, la atención y la ansiedad (Sahakian et al., 1989; Newhouse et al., 1993), mientras que los antagonistas que cruzan la barrera hematoencefálica la deterioran. A pesar de esto, los agonistas nicotínicos actualmente disponibles (entre otros la propia nicotina, la epibatidina, la colina, la citisina, el dimetil-fenil-piperazinio) no se han labrado aún un claro camino clínico, quizás porque desensibilizan los receptores y modifican su expresión, lo que hace difícil poder predecir su utilidad durante tratamientos crónicos; pero se buscan con ahínco agonistas más selectivos para algunos subtipos de receptores nicotínicos, por ejemplo para los receptores $\alpha 7$ o para los $\alpha 4\beta 2$.

Hace 20 años nadie creía que existieran receptores nicotínicos en el sistema nervioso central; los receptores nicotínicos eran de dominio periférico, la placa motora, el ganglio autonómico y la médula suprarrenal. Desde hace 10 años comenzamos a aceptar que también el cerebro expresaba receptores nicotínicos, pero que carecían de función. Hoy ya se habla de la implicación de estos receptores en procesos como la atención, el aprendizaje y la memoria, y en enfermedades tan variadas como el Alzheimer, el Parkinson, la demencia con cuerpos de Lewy, la epilepsia, la esquizofrenia, o la percepción del dolor y, por supuesto, en la adicción a nicotina (Decker et al., 1995; Lindstrom, 1997; Dani, 2001).

A diferencia de lo que ocurre con los receptores muscarínicos postsinápticos, cuyo número no parece afectarse de manera significativa en pacientes con enfermedad de Alzheimer, en el caso de los receptores nicotínicos neuronales sí que parece observarse una reducción de éstos en ciertas áreas cerebrales (Whitehouse et al., 1988; Nordberg et al., 1989; Wevers y Schroder, 1999; Wevers et al., 1999; Guan 2000), lo que ha despertado el interés por la síntesis de nuevos fármacos capaces de estimular más o menos selectivamente los diferentes subtipos de receptores nicotínicos.

En este proceso de búsqueda de un agonista nicotínico ideal para tratar el Alzheimer cabe preguntarse si es mejor un fármaco superselectivo para un subtipo de receptor nicotínico, u otro que bloquee o active dos o más subtipos de receptores. Así, este fármaco ideal debería ser capaz de mejorar los procesos cognitivos por estimular los receptores nicotínicos neuronales pre- y postsinápticos, pero, para evitar efectos adversos debería mostrar una baja o nula afinidad por receptores nicotínicos musculares y por receptores $\alpha 3$ (que parecen asociarse a los efectos adversos gastrointestinales y cardíacos por estimulación de estos receptores ubicados a nivel de los ganglios periféricos).

Parece lógico que en un campo nuevo como el de los receptores nicotínicos neuronales, de los que se han identificado ocho subunidades alfa ($\alpha 2$ a $\alpha 9$) y tres beta ($\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$), más una novena subunidad que acaba de aparecer ($\alpha 10$),

el esfuerzo deba canalizarse a la consecución de moléculas lo más selectivas posibles; y no sólo pensando en su eventual aplicabilidad terapéutica, sino también en su utilización como herramientas farmacológicas para conocer la implicación de tal o cual receptor ($\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, $\alpha 3\beta 4$) en una determinada función fisiológica o fisiopatológica (conducta, memoria, atención, dolor, convulsiones, neurodegeneración, apoptosis, neuroprotección; Lindstrom, 1997; Dani, 2001).

Moléculas superselectivas y con muy baja CI_{50} suelen poseer también una alta toxicidad. Por ejemplo, la epibatidina, aislada hace casi una década a partir de un extracto de la piel de una rana ecuatoriana, es mil veces más potente que la nicotina. Pero, por eso mismo, nunca podrá utilizarse terapéuticamente, a pesar de que se comporta como un analgésico 200 veces más potente que la morfina (Li et al., 1993; Badio y Dali, 1994). Su elevada potencia hace que sus efectos sobre receptores nicotínicos autonómicos sean tan pronunciados, que las alteraciones cardiovasculares que produciría hacen impensable su eventual utilización clínica. Ello no quita para que esta neurotoxina natural haya prestado servicios impagables a la investigación en este campo, particularmente para identificar un nuevo y poderoso mecanismo antinociceptivo, asociado a receptores nicotínicos e independiente de receptores opiáceos (Badio y Dali, 1994).

Igual podemos decir de los antagonistas selectivos naturales que se identificaron y caracterizaron en el laboratorio de Baldomero Olivera (Universidad de Utah, EEUU), partiendo de venenos de caracoles marinos; estas α -conotoxinas bloquean selectivamente un tipo de receptor nicotínico cerebral. Estas herramientas fármaco-toxicológicas, junto con los ratones transgénicos a los que se les ha practicado la ablación de un gen que codifica una determinada subunidad de los receptores nicotínicos, los oligonucleótidos antisentido y los anticuerpos específicos, están ayudando a esclarecer las funciones fisiológicas específicas asociadas a cada uno de los subtipos de receptores nicotínicos cerebrales y periféricos. Hoy por hoy, los más abundantes e interesantes parecen ser los receptores $\alpha 4\beta 2$ (relacionados con la mejora del aprendizaje y la memoria) y los $\alpha 7$ (relacionados con procesos de neuroprotección y con la modulación de la liberación de otros neurotransmisores) a nivel central, y los $\alpha 3\beta 4$ a nivel periférico. En este sentido resultan particularmente interesantes los receptores $\alpha 7$, que muestran una alta permeabilidad al Ca^{2+} (Vijayaraghaven, 1992; Seguela et al., 1993), habiéndose demostrado que la estimulación de éstos puede resultar neuroprotectora, evitando la toxicidad debida a una entrada excesiva de Ca^{2+} a través de otros receptores, como por ejemplo frente a la excitotoxicidad mediada por glutamato (Kaneko et al., 1997; Shimohama et al., 1998), o frente a la muerte neuronal inducida por β -amiloide (Kihara et al., 1997).

Por otro lado, algunos autores defienden la idea de que una molécula menos selectiva podría tener más sentido terapéutico, como ocurre con los neurolepticos atípicos para la esquizofrenia, clozapina y risperidona, que bloquean no sólo receptores dopaminérgicos (D_2) sino también los serotoninérgicos ($5HT_2$); este bloqueo "balanceado" de más de un tipo de receptor cerebral ha dotado a estos fármacos de un perfil terapéutico más amplio (eficacia para corregir tanto los síntomas positivos como los negativos de la esquizofrenia) y de una mejor tolerabilidad (escasez de síntomas extrapiramidales). También son ejemplo los opiáceos, con sus agonistas totales, que no discriminan entre receptores μ , κ y δ (morfina), los agonistas parciales (buprenorfina) y los agonistas-antagonistas. En otras palabras, quizás necesitemos una molécula agonista para receptores α_7 y $\alpha_4\beta_2$, los más abundantes en cerebro, o un agonista α_7 / antagonista $\alpha_4\beta_2$. En este sentido tampoco debemos olvidar los receptores muscarínicos; en teoría, un agonista mixto α_7 (que ejercería un efecto neuroprotector) y muscarínico M1/M3 (que favorecería la síntesis y liberación de factores neurotróficos, iniciada por señales intracelulares de Ca^{2+}) podría ser un fármaco ideal para tratar los defectos cognitivos del paciente de Alzheimer (García, 2002).

d) Inhibidores de la acetilcolinesterasa

La única estrategia farmacoterápica que ha demostrado hasta ahora cierta eficacia para detener el progreso de la enfermedad de Alzheimer es la encaminada a evitar la degradación de la acetilcolina, con la pretensión de contrarrestar su déficit cerebral (Standaert y Young, 2001). Así, por ejemplo, fármacos que inhiben de forma reversible la acetilcolinesterasa cerebral, como la tacrina, el donepezilo, la rivastigmina o la galantamina, evitan la degradación del neurotransmisor y de esta manera favorecen la elevación de los niveles de acetilcolina en la hendidura sináptica. La inhibición que producen estos agentes es relativamente inespecífica, ya que van a inhibir no solo la acetilcolinesterasa cerebral sino también otras colinesterasas, entre ellas la butirilcolinesterasa (Giacobini et al., 1997, 1998).

La inhibición de la acetilcolinesterasa entra en aparente contradicción con el menosprecio que algunos autores hacen de la hipótesis muscarínica, y su aprecio por la nicotínica. Obviamente, al inhibir la enzima se elevan los niveles de acetilcolina sináptica, facilitando los efectos del neurotransmisor, tanto a nivel nicotínico como a nivel muscarínico, lo que en ambos casos contribuye a mejorar la cognición y resultando, por tanto, dudoso que atribuyamos las acciones beneficiosas de los inhibidores de la acetilcolinesterasa solo a su unión a uno u otro tipo de receptor.

Pero independientemente de qué receptor sea protagonista a nivel central, debemos volver también nuestra mirada hacia los receptores nicotínicos y muscarínicos periféricos, fuente posible de los efectos secundarios de esta medicación. Los efectos de la inhibición de la acetilcolinesterasa periférica por la fisostigmina o la neostigmina los conocen muy bien los enfermos de miastenia gravis, ya que estos fármacos mejoran, en minutos, su vigor muscular. Pero los efectos adversos más frecuentes, asociados a una hiperactividad colinérgica periférica, se atribuyen a la hiperestimulación muscarínica: náuseas, vómitos, diarreas, calambres abdominales, hipersecreción glandular.

En términos generales podemos decir que estos fármacos han demostrado que son capaces de proporcionar una mejoría modesta y transitoria de la sintomatología del paciente de Alzheimer y de estabilizar durante algunos meses el deterioro progresivo de la situación cognitiva y funcional de estos pacientes, pudiéndose encontrar algunas diferencias entre ellos.

La tacrina fue el primer inhibidor de la acetilcolinesterasa aprobado por la FDA (en 1994) para el tratamiento sintomático de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Es un bloqueante reversible e inespecífico de las colinesterasas caracterizado por presentar una absorción muy variable, una extensa distribución con buena penetración en sistema nervioso y una corta vida media (Giacobini 1997, 1998). El principal problema que ha presentado este fármaco ha sido su hepatotoxicidad lo que ha llevado a su retirada progresiva. En una reciente revisión de los ensayos clínicos realizados con tacrina no se ha podido concluir convincentemente que tacrina fuese un tratamiento realmente útil frente a la sintomatología del paciente con Alzheimer (Qizilbash et al., 2000).

El donepezilo es un representante de una segunda generación de inhibidores reversibles de la acetilcolinesterasa, siendo altamente selectivo y presentando pocos efectos sobre otras colinesterasas. Este fue el segundo fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento sintomático del Alzheimer (en 1998). A diferencia de la tacrina, el donepezilo muestra una farmacocinética lineal, una vida media más prolongada (lo que permite su administración en una sola dosis diaria) y menores efectos adversos. Los ensayos clínicos en los que se ha administrado donepezilo a pacientes con Alzheimer leve-moderado durante 12-24 semanas muestran que este fármaco es capaz de producir una pequeña, pero significativa, mejoría en la función cognitiva y en el estado clínico global del paciente (Birks y Melzer, 2000).

La rivastigmina fue el tercer inhibidor de la acetilcolinesterasa aprobado por la FDA. Se trata de un inhibidor pseudo-irreversible y selectivo de la enzima. En una revisión reciente de los ensayos clínicos desarrollados con este fármaco se ha podido constatar sus beneficios mejorando la función cognitiva de los pacientes tratados (Birks et al., 2000).

Finalmente, el último inhibidor de la acetilcolinesterasa comercializado ha sido la galantamina, fármaco que, además de un débil efecto inhibitor de la enzima se ha mostrado como un potenciador alostérico de los receptores nicotínicos neuronales, efecto que contribuye a mejorar la liberación sináptica de ACh (Parys, 1998). Los ensayos clínicos realizados con pacientes con enfermedad de Alzheimer leve-moderada muestran que la galantamina es efectiva y bien tolerada y que retrasa el deterioro cognitivo y funcional de los pacientes tratados (Wilcock et al., 2000). En otros capítulos de este libro se analizarán en mayor detalle los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de la galantamina, así como los datos sobre su eficacia clínica.

d) Moduladores alostéricos de los receptores nicotínicos neuronales

La conversación entre un fármaco y su receptor no siempre se apoya en tonos blancos (agonismo) o negros (antagonismo). Los matices grises son cada vez más frecuentes y en el campo de la farmacología de los receptores nicotínicos, aunque joven, ya ha surgido uno, que se ha dado en llamar modulación alostérica por co-agonistas. Un co-agonista no es capaz de activar por sí mismo al receptor pero sí se une a él, aunque en un lugar distinto al de la acetilcolina, de ahí el apellido alostérico. Dicha unión produce una modificación conformacional que provoca una hipersensibilidad del receptor nicotínico neuronal a su neurotransmisor natural acetilcolina. Este efecto lo producen la fisostigmina o eserina y la galantamina, inhibidores de la acetilcolinesterasa cerebral, así como el precursor fisiológico del neurotransmisor colinérgico, la colina.

Este curioso concepto de modulador alostérico está emergiendo de la mano de la galantamina, que como hemos comentado en el apartado anterior, aunque inhibe débilmente la acetilcolinesterasa, mejora de forma significativa la cognición y retrasa el deterioro del paciente, lo que nos hace plantearnos si podría ser su efecto alostérico, a nivel de receptores nicotínicos cerebrales, el responsable de su eficacia para prevenir el deterioro cognitivo. Esto nos lleva a una segunda pregunta sobre cuál puede ser la relevancia clínica, no solo en el Alzheimer, sino también en otras enfermedades neurodegenerativas, del efecto alostérico de estas nuevas moléculas nicotínicas.

Alostérico significa "otro sitio". O sea que la galantamina se une al receptor nicotínico, pero en un lugar distinto al de acetilcolina. Ello ocasiona una modificación del receptor, de tal forma que cuando la acetilcolina se libera en la sinapsis colinérgica y se une a un receptor "galantaminizado" (es decir,

sensibilizado por la galantamina), el receptor en cuestión responde con más viveza para transmitir la señal que le indica el neurotransmisor. Este efecto modulador alostérico positivo de los receptores nicotínicos neuronales ha sido confirmado en experimentos “*in vitro*” utilizando distintos tipos celulares que expresan diferentes subtipos de receptores nicotínicos (Albuquerque et al., 1996; Maelicke et al., 2000), en los que la galantamina, al unirse al receptor nicotínico, produce un cambio en su conformación. Esta nueva conformación hace más eficaz la acción del agonista fisiológico acetilcolina, de tal forma que éste produce, en presencia de galantamina, una corriente mayor, que debe traducirse, obviamente, en una mejoría de la neurotransmisión colinérgica. Ahora falta demostrar si ese efecto alostérico está relacionado con una previsible facilitación de la neurotransmisión glutamatérgica (y quizás de otros neurotransmisores como GABA, serotonina o dopamina) en hipocampo, corteza cerebral y ganglios basales, facilitación que ya se ha demostrado para la nicotina (Santos et al., 2002). Los mecanismos de acción y la eficacia clínica de la galantamina se exponen con más detenimiento en los capítulos de los Dres. García Ribas, Arias et al., Blesa, y García et al.

Bibliografía

- Albuquerque, E.X., Pereira, E.F., Bonfante-Cabarcas, R., Marchioro, M., Matsubayashi, H., Alkondon, M. and Maelicke, A. (1996). Nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal neurons: cell compartment-specific expression and modulatory control of channel activity. *Prog. Brain. Res.* **109**: 111-124.
- Amenta, F., Parnetti, L., Gallai, V. and Wallin, A. (2001). Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer’s disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments of inappropriate approaches?. *Mech. Ageing Dev.* **12**: 2025-2040.
- Araujo, D.M., Lapchak, P.A., Robitaille, Y., Gauthier, S. and Quirion, R. (1988). Differential alteration of various cholinergic markers in cortical and subcortical regions of human brain in Alzheimer’s disease. *J. Neurochem.* **50**: 1914-1923.
- Avery, E.E., Baker, L.D. and Asthana, S. (1997). Potential role of muscarinic agonists in Alzheimer’s disease. *Drugs Aging* **11**: 450-459.
- Avila, J. (2000). Tau aggregation into fibrillar polymers: taupathies. *FEBS Lett.* **30**: 89- 92.
- Badio, B. and Daly, J.W. (1994). Epibatidine, a potent analgesic and nicotinic agonist. *Mol. Pharmacol.* **45**: 563-569.
- Bartus, R.T., Dean, R.L., Beer, B. and Lippa, A.S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* **217**: 408-414.
- Birks, J.S., Iakovidou, V. and Tsolaki, M. (2000). Rivastigmine for Alzheimer’s disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 001191.

- Birks, J.S., Melzer, D. (2000). Donepezil for mild to moderate Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD001190.
- Blusztajn, J.K., Liscovitch, M., Mauron, C., Richardson, U.I. and Wurtman, R.J. (1987). Phosphatidylcholine as a precursor of choline and acetylcholine synthesis. *J. Neural Transmiss. Suppl.* **24**: 247-259.
- Brenner, M.W., Kukull, W.A., van Belle, G., Bowen, J.D., McCormick, W.C., Teri, L. and Larson, E.B. (1993). Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study. *Neurology* **43**: 293-300.
- Burghaus, L., Schutz, U., Krempel, U., de Vos, R.A., Steur, E.N., Wevers, A., Lindstrom, J. and Schroder, H. (2000). Quantitative assessment of nicotinic acetylcholine receptor proteins in the cerebral cortex of Alzheimer patients. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **76**: 385-388.
- Caine, E.D. (1980). Cholinomimetic treatment fails to improve memory disorders. *N. Eng. J. Med.* **315**: 585-586.
- Caulfield, M.P. (1993). Muscarinic receptors: characterization, coupling and function. *Pharmacol. Ther.* **58**: 319-379.
- Chung, S.Y., Moriyama, T., Uezuy, E., Uezu, K., Hirata, R., Yohena, N., Masuda, Y., Kokubu, T. and Yamamoto, S. (1995). Administration of phosphatidylcholine increases brain acetylcholine concentration and improves memory in mice with dementia. *J. Nutr.* **125**: 1484-1489.
- Clader, J.W. (1999). Recent advances in cholinergic drugs for Alzheimer's disease. *Curr. Opin. Drug Discov. Develop.* **2**: 311-320.
- Coyle, J.T., Price, D.L. and DeLong, M.R. (1983). Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*. **219**:1184-1190.
- Crews, F.T., Kurian, P. and Freund, G. (1994). Cholinergic and serotonergic stimulation of phosphoinositide hydrolysis is decreased in Alzheimer's disease. *Life Sci.* **55**: 1993-2002.
- Dani, J.A. (2001). Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biol. Psychiatry* **49**: 166-174.
- Davies, P. and Verth, A.H. (1977). Regional distribution of muscarinic acetylcholine receptor in normal and Alzheimer's-type dementia brains. *Brain Res.* **138**: 385-392.
- Davis, R.E., Emmerling, M.R., Jaen, J.C., Moos, W.H. and Spiegel, L. (1993). Therapeutic intervention in dementia. *Crit. Rev. Neurobiol.* **7**: 41-83.
- Decker, M.W., Brioni, J.D., Bannon, A.W. and Arneric, S.P (1995). Diversity of neural nicotinic acetylcholine receptors: Lessons from behavior and implication for CNS therapeutic. *Life Sci.* **56**: 545-570.
- Donnelly-Roberts, D.L., Xue, I.C., Aretic, S.P. and Sullivan, J.P. (1996). In vitro neuroprotective properties of the novel cholinergic channel activator (ChCA), ABT-418. *Brain Res.* **719**: 36-44.
- Doods, H.N. (1995). Lipophilic muscarinic M₂ antagonists as potential drugs for cognition disorders. *Drugs Future* **20**: 157-164.
- Drachman, D.A. and Leavitt, J. (1974). Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging?. *Arch. Neurol.* **30**: 113-121.
- Evans, D.A., Funkenstein, H.H., Albert, M.S., Scherr, P.A., Cook, N.R., Chown, N.R., Herbert, L.E., Hennekens, C.H. and Taylor, J.O. (1989). Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. Higher than previously reported. *JAMA* **262**: 2551-2556.
- Flynn, D.D., Ferrari-DiLeo, G., Levey, A.I. and Mash, D.C. (1995). Differential alterations in muscarinic receptor subtypes in Alzheimer's disease: implications for cholinergic-based therapies. *Life Sci.* **56**: 869-876.
- García, A.G. (2002). Teoría colinérgica del Alzheimer. *JANO* **62**:1104.

- Garlind, A., Cowburn, R.F., Forsell, C., Ravid, R., Winblad, B. and Fowler, C.J. (1995). Diminished [3H]inositol(1,4,5)P3 but not [3H]inositol(1,3,4,5)P4 binding in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* **681**: 160-166.
- Giacobini, E. (1997). From molecular structure to Alzheimer's therapy. *Jpn. J. Pharmacol.* **74**: 225-241.
- Giacobini, E. (1998). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease : from tacrine to future applications. *Neurochem. Int.* **32**: 413-419.
- Greenlee, W., Clader, J.K., Asberom, T., McCombe, S., Ford, J., Guzik, H., Kozlowski, J., Li, S., Liu, C., Lowe, D., Vice, S., Zhao, H., Zhou, G., Billard, W., Binch, H., Crosby, R., Duffy, R., Lachowicz, J., Coffin, V., Watkins, R., Ruperto, V., Strader, C., Taylor, L. and Cox, K. (2001). Muscarinic agonists and antagonists in the treatment of Alzheimer's disease. *Il Farmaco* **56**: 247-250.
- Greenwood, A.F., Powers, R.E. and Jope, R.S. (1995). Phosphoinositide hydrolysis, G alpha q, phospholipase C, and protein kinase C in post mortem human brain: effects of post mortem interval, subject age, and Alzheimer's disease. *Neuroscience* **69**: 125-138.
- Guan, Z.Z., Zhang, X., Ravid, R. and Nordberg, A. (2000). Decreased protein levels of nicotinic receptor subunits in the hippocampus and temporal cortex of patients with Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **74**: 237-243.
- Higgins, J.P. and Flicker, L. (2000). Lecitin for dementia and cognitive impairment. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2), CD001015.
- Jope, R.S. (1982). Effects of phosphatidylcholine administration to rat on choline in blood and choline and acetylcholine in brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **220**: 322-328.
- Kaneko, S., Maeda, T., Jume, T., Kochiyama, H., Akaike, A., Chimohama, S. and Kimura, J. (1997). Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via $\alpha 7$ -neuronal receptors and neuronal CNS receptors. *Brain Res.* **765**: 135-140.
- Kellar, K.J., Whitehouse, P.J., Martino-Barrows, A.M., Marcus, K. and Price, D.L. (1987). Muscarinic and nicotinic cholinergic binding sites in Alzheimer's disease cerebral cortex. *Brain Res.* **436**: 62-68.
- Kihara, T., Shimohama, S., Sawada, H., Kimura, J., Kume, T., Kochiyama, H., Maeda, T. and Akaike, A. (1997). Nicotinic receptor stimulation protects neurons against beta-amyloid toxicity. *Ann. Neurol.* **42**: 159-163.
- Lang, W. and Henke H. (1983). Cholinergic receptor binding and autoradiography in brains of non-neurological and senile dementia of Alzheimer-type patients. *Brain Res.* **267**:271-280.
- Launer, L.J., Andersen, K., Dewey, M.E., Letenneur, L., Ott, A., Amaducci, L.A., Brayne, C., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Kragh-Sorensen, P., Lobo, A., Martinez-Lage, J.M., Stijnen, T. and Hofman, A. (1999). Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. *European Studies of Dementia. Neurology.* **52**:78-84.
- Levey, A.I. (1996). Muscarinic acetylcholine receptor expression in memory circuits: implications for treatment of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 13541-13546.
- Li, X., Greenwood, A.F., Powers, R. and Jope, R.S. (1996). Effects of postmortem interval, age, and Alzheimer's disease on G-proteins in human brain. *Neurobiol. Aging* **17**: 115-122.
- Li, T., Qian, C., Eckman, J., Huang, D.F. and Shen, T.Y. (1993). The analgesic effect of epibatidine and isomers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **3**: 2759-2764.
- Lindstrom, J. (1997). Nicotinic acetylcholine receptors in health and disease. *Mol. Neurobiol.* **15**: 193-222.

- Maelicke, A., Schranttenholz, A., Samochoki, M., Radina, M. and Alburquerque, E.X. (2000). Allosterically potentiating ligands of nicotinic receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Behav. Brain Res.* **113**: 199-206
- Martin-Ruiz, C.M., Court, J.A., Molnar, E., Lee, M., Gotti, C., Mamalaki, A., Tsouloufis, T., Tzartos, S., Ballard, C., Perry, R.H. and Perry, E.K. (1999). Alpha4 but not alpha3 and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunits are lost from the temporal cortex in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **73**: 1635-1640.
- Mash, D.C., Potter, L.T. (1986). Autoradiographic localization of M1 and M2 muscarine receptors in the rat brain. *Neuroscience* **19**: 551-564.
- Newhouse, P.A., Potter, A., Corwin, J. and Lenox, R. (1994). Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study. *Psychopharmacology* **95**: 171-175.
- Newhouse, P.A., Potter, A. and Lenox, E. (1993). The effects of nicotinic agents on human cognition, possible therapeutic applications in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Med. Chem. Res.* **2**: 628-642.
- Newhouse, P.A., Sunderland, T., Tariot, P.N., Blumhardt, C.L., Weingartner, H., Mellow, A. and Murphy, D.L. (1988). Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study. *Psychopharmacology* **95**: 171-175.
- Nilsson, L., Adem, A., Hardy, J., Winblad, B. and Nordberg, A. (1987). Do tetrahydroaminoacridine (THA) and physostigmine restore acetylcholine release in Alzheimer brains via nicotinic receptors? *J. Neural Transm.* **70**, 357-368.
- Nordberg A. (1993). In vitro detection of neurotransmitter changes in Alzheimer's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **695**: 27-33.
- Nordberg, A., Lundqvist, H., Hartwing, P., Lilja, A. and Längström, B. (1995). Kinetic analysis of regional (s)(-)¹¹C-nicotine binding in normal and Alzheimer brains: in vivo assessment using positron emission tomography. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **9**: 21-27.
- Nordberg, A., Nilsson-Hakansson, L., Adem, A., Hardy, J., Alafuzoff, I., Lai, Z., Herrera-Marschitz, M. and Winblad, B. (1989). The role of nicotinic receptors in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Prog. Brain Res.* **79**: 353-362.
- Palacios, J.M. (1982). Autoradiographic localization of muscarinic cholinergic receptors in the hippocampus of patients with senile dementia. *Brain Res.* **243**: 173-175.
- Parys, W. (1998). Development of Reminyl (galantamine), a novel acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Rep.* **1** (Suppl. 1): S19-S20.
- Pavía, J., de Ceballos, M.L. and Sánchez de la Cuesta, F. (1998). Alzheimer's disease: relationship between muscarinic cholinergic receptors, beta-amyloid and tau proteins. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **12**: 473-481.
- Perry, E.K., Morris, C.M., Court, J.A. Cheng, A., Fairbairn, A.F., Mckeith, I.G., Irving, D., Brown, A. and Perry, R.J. (1995). Alteration in nicotine binding sites in Parkinson's disease, Lewy body dementia and Alzheimer's disease: possible index of early neuropathology. *Neuroscience* **64**: 385-395.
- Perry, E.K., Perry, R.H., Blessed, G. and Tomlinson, B.E. (1977). Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet.* **8004**:189.
- Probst, A., Cortes, R., Ulrico, J. and Palacios, J.M. (1988). Differential modification of muscarinic cholinergic receptors in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease: an autoradiographic study. *Brain Res.* **450**: 190-201.
- Qizilbash, N., Birks, J., López-Arrieta, J., Lewington, S. and Szeto, S. (2000). Tacrine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD000202.

- Reisine, T.D., Yamamura, H.I., Bird, E.D., Spokes, E. and Enna, S.J. (1978). Pre- and postsynaptic neurochemical alterations in Alzheimer's disease. *Brain Res.* **159**: 477-481.
- Rinne, J.O., Laakso, K., Lonnberg, P., Molsa, P., Paljarvi, L., Rinne, J.K., Sako, E. and Rinne U.K. (1985). Brain muscarinic receptors in senile dementia. *Brain Res.* **336**: 19-25.
- Safer, D.J. and Allen, R.P. (1971). The central effects of scopolamine in man. *Biol. Psychiatry* **3**: 347-355.
- Sahakian, B., Jones, G., Levy, R., Gray, J. and Warburton, D. (1989). The effects of nicotine on attention, information processing, and short-term memory in patients with dementia of the Alzheimer type. *Br. J. Psychiatry* **154**: 797-800.
- Santos, M.D., Alkondon, M., Pereira, E.F.R., Aracava, Y., Eisenberg, H.M., Maelicke, A. and Albuquerque, E.X. (2002). The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system. *Mol. Pharmacol.* **61**: 1222-1234.
- Selkoe, D.J. (1989) Biochemistry of altered brain proteins in Alzheimer disease. *Annu. Rev. Neurosci.* **12**: 463-490.
- Seguela, P., Wadiche, J., Dineley-Miller, K., Dani, J.A. and Patrick, J.W. (1993). Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J. Neurosci.* **13**: 596-604.
- Shalat, S.L., Seltzer, B., Pidcock, C. and Baker, E.L. (1987). Risk factors for Alzheimer's disease: a case-control study. *Neurology.* **37**: 1630-1633.
- Shimohama, S., Greenwald, D.L., Shafron, D.H., Akaika, A., Maeda, T., Kaneko, S., Kimura, J., Simpkins, C.E., Day, A.L. and Meyer, E.M. (1998). Nicotinic $\alpha 7$ receptors protect against glutamate neurotoxicity neuronal ischemic damage. *Brain Res.* **779**, 359-363.
- Sihver, W., Gillberg, P.G., Svensson, A.L. and Nordberg, A. (1999). Autoradiographic comparison of [3H](-)nicotine, [3H]cytisine and [3H]epibatidine binding in relation to vesicular acetylcholine transport sites in the temporal cortex in Alzheimer's disease. *Neuroscience* **94**: 685-696.
- Smith, C.J., Court, J.A., Keith, A.B. and Perry, E.K. (1989). Increases in muscarinic stimulated hydrolysis of inositol phospholipids in rat hippocampus following cholinergic deafferentation are not paralleled by alterations in cholinergic receptor density. *Brain Res.* **485**: 317-324.
- Smith, C.J., Perry, E.K., Perry, R.H., Candy, J.M., Johnson, M., Bonham, J.R., Dick, D.J., Fairbairn, A., Blessed, G., Birdsall, N.J. (1988). Muscarinic cholinergic receptor subtypes in hippocampus in human cognitive disorders. *J. Neurochem.* **50**: 847-856.
- Standaert, D.G. and Young, A.B. (2001). Treatment of central nervous system degenerative disorders. En: "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics", Madrid: McGraw-Hill, 10th edition; pp. 549-568.
- Stokes, C.E. and Hawthorne, J.N. (1987). Reduced phosphoinositide concentrations in anterior temporal cortex of Alzheimer-diseased brains. *J. Neurochem.* **48**: 1018-1021.
- Summers, K.L. and Giacobini, E. (1995). Effects of local and repeated systemic administration of (-)nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem. Res.* **20**: 753-759.
- Ulrich, J., Johansson-Locher, G., Seiler, W.O., Stahelin, H.B. (1997). Does smoking protect from Alzheimer's disease? Alzheimer-type changes in 301 unselected brains from patients with known smoking history. *Acta Neuropathol (Berl)* **94**:450-454.
- Vijayaraghavan, S., Pugh, P.C., Zhang, Z.W., Rathouz, M.M. and Berg, D.K. (1992). Nicotinic receptors that bind alpha-bungarotoxin on neurons raise intracellular free Ca^{2+} . *Neuron.* **8**: 353-362.

- Wecker, L. (1990). Dietary choline: a limiting factor for the synthesis of acetylcholine by the brain. En: "Wurtman, R.J. et al. (eds). *Advances in Neurology*. Raven Press Ltd. New York, pp. 139-145.
- Wevers, A., Monteggia, L., Nowacki, S., Bloch, W., Schutz, U., Lindstrom, J., Pereira, E.F., Eisenberg, H., Giacobini, E., de Vos, R.A, Steur, E.N., Maelicke, A., Albuquerque, E.X. and Schroder, H. (1999). Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the cerebral cortex in Alzheimer's disease: histotopographical correlation with amyloid plaques and hyperphosphorylated-tau protein. *Eur. J. Neurosci. 11*: 2551-2565.
- Wevers, A. and Schroder, H. (1999). Nicotinic Acetylcholine Receptors in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis. 1*: 207-219.
- Whitehouse, P.J., Martino, A., Marcus, K.A., Zweig, R.M., Singer, H.S., Price, D.L. and Kellar, K.J. (1988). Reductions in acetylcholine and nicotine binding in several degenerative diseases. *Arch. Neurol. 45*: 722-724.
- Whitehouse, P.J., Price, D.L., Struble, R.G., Clark, A.W., Coyle, J.T. and Delon, M.R. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science. 215*:1237-1239.
- Wilcock, G.K., Lilenfeld, S. and Gaens, E. (2000). The galantamine study group 2000. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicenter randomized controlled trial. *Br. Med. J. 321*: 1445-1449.
- Wurtman, R.J., Blusztajn, J.K. and Ulus, I.I (1990). *Advances in neurology*. En: "Alzheimer disease". Wurtman, R. J. (ed). Raven Press, New Cork, pp. 117.

CAPÍTULO 8

INHIBIDORES CLÁSICOS Y NUEVOS INHIBIDORES DE LA ACETILCOLINESTERASA PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JOSÉ L. MARCO

*Laboratorio de Radicales Libres
Instituto de Química Orgánica General
Consejo Superior de Investigaciones Científicas*

1. Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo, lento y progresivo, clínicamente caracterizado por un paulatino deterioro de las funciones cognitivas e intelectuales¹, que se traduce en pérdida de la memoria, incapacidad del individuo afectado para hacer por sí mismo las actividades vitales rutinarias, pudiendo presentarse también un cuadro de ansiedad, irritabilidad, depresión o halucinaciones.

La EA es la tercera causa de mortalidad entre adultos mayores de 65 años en los países desarrollados, después de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer². Teniendo en cuenta además el aumento de la expectativa de vida media en estas sociedades, y el hecho de que la incidencia de la EA aumenta con la edad, así como sus devastadores efectos, parece evidente que la EA representa un grave problema de salud pública y presumiblemente ha de ser una de las patologías más relevantes en el siglo XXI en el mundo occidental.

2. Estrategias terapéuticas para tratar la EA

A pesar de la naturaleza multifactorial de la EA³, las estrategias que se han diseñado en el I+D de fármacos para el tratamiento de la EA se han dirigido básicamente hacia dos objetivos:

- a) El péptido β -amiloide ($A\beta$) y
- b) La neurotransmisión colinérgica.

La primera estrategia se orienta hacia la prevención de los procesos neurodegenerativos que finalmente provocan el daño irreversible en el cerebro. La EA está neurohistopatológicamente caracterizada por la aparición de placas seniles extracelulares, mayoritariamente formadas por placas del péptido β -amiloide ($A\beta$)⁴, redes o nudos neurofibrilares debido a la hiperfosforilación de la proteína tau, y la degeneración o atrofia de las neuronas colinérgicas. El péptido $A\beta$ procede de la hidrólisis de la proteína β -amiloide precursora (APP). Este proceso puede ocurrir por dos vías mutuamente excluyentes⁵, ya sea por hidrólisis de la proteína por una α -secretasa que da lugar a fragmentos solubles de APP no tóxicos y neuroprotectores o, alternativamente, por sucesivas hidrólisis de APP por las enzimas β - y γ -secretasas que generan el péptido $A\beta$. Aunque trazas del péptido $A\beta$ están siempre presentes en el metabolismo normal de APP, un aumento de la producción del péptido, su agregación y depósito como placas amiloides insolubles puede ser el desencadenante del inicio de la enfermedad. Por lo tanto, cualquier agente que impida la génesis y depósito de $A\beta$ será útil para impedir el progreso de la enfermedad. En cualquier caso, a pesar del reciente desarrollo de inhibidores de β - y γ -secretasas⁶ o inhibidores de la agregación de las placas amiloides⁷, estas aproximaciones están aún en su desarrollo inicial y no hay, por lo tanto, datos clínicos al respecto.

La segunda aproximación para el tratamiento de la EA se basa en la llamada "hipótesis colinérgica"⁸ que postula que los síntomas que presentan los pacientes de la EA son el resultado de la deficiente transmisión colinérgica y del déficit en el nivel de neurotransmisores, principalmente acetilcolina (ACh). Entre los fármacos para restaurar la neurotransmisión colinérgica, están los que actúan a:

- a) **Nivel presináptico**, *elevando el nivel de ACh*, a través de productos que bloquean los canales de potasio voltaje-dependientes (linopirdina, DMP 543 ó besipirdina)⁹, antagonistas muscarínicos M_2 (PG-9, SCH-72788)¹⁰ o agonistas nicotínicos (nicotina, ABT-418)¹¹, o a través de *productos que aumentan la absorción de colina* (Ch), etapa clave en la síntesis de ACh (MKC-213)¹².

b) **Nivel postsináptico**, como los agonistas muscarínicos M_1 . En efecto, es bien sabido que en la EA los receptores muscarínicos M_1 no sufren degeneración alguna¹³, por lo que los agonistas muscarínicos M_1 pueden ser útiles en el tratamiento de la EA, independientemente del grado de degeneración de la transmisión colinérgica. Es ésta la razón por la que los agonistas muscarínicos M_1 (análogos de arecolina, espiropiperidinas/espiroquinuclidinas, o análogos heterocíclicos de acetilcolina) se han llegado a proponer como una alternativa estratégica más racional que los IChE para tratar la EA¹⁴.

c) **Nivel sináptico**, como los inhibidores de acetilcolinesterasa (IChE). La aparición de los IChE ha jugado un papel clave en el tratamiento sintomático de la EA. Es cierto que el balance global es limitado y no sin inconvenientes, ya que la respuesta clínica ha sido heterogénea, parecen idóneos sólo en las primeras etapas de la EA y sus efectos han sido más bien paliativos que decisivos para atajar la enfermedad, presumiblemente porque estos fármacos actúan más sobre una consecuencia de la enfermedad (el déficit colinérgico) que en las causas de la enfermedad¹⁵.

3. Acetilcolinesterasa

La función primordial de acetilcolinesterasa (AChE) (EC 3.1.1.7) es la hidrólisis rápida del neurotransmisor ACh en las sinapsis colinérgicas. La reacción de hidrólisis procede por ataque nucleófilo al grupo carbonilo, acilación de la enzima y liberación de Ch; a continuación, se hidroliza la enzima acilada dando ácido acético, regenerándose la enzima.

La estructura tridimensional de AChE de *Torpedo californica*, determinada por rayos-X con una resolución de 2.8Å¹⁶, ha mostrado que el centro activo de la enzima se encuentra al fondo de una estrecha y larga "garganta catalítica" (de unos 20Å). Los IChE pueden actuar, o en el sitio activo catalítico, y/o en el sitio periférico. Los inhibidores que actúan sobre el centro activo impiden la unión de una molécula de sustrato, o su hidrólisis, ya sea bloqueando el sitio por su alta afinidad o reaccionando irreversiblemente con la serina próxima al centro catalítico. El sitio periférico es una zona más difusa, situada a la entrada de la "garganta catalítica", y donde se unen preferentemente moléculas pequeñas (propidium) o toxinas de tipo peptídico, como las fasciculinas. Otras (decamethonium), interaccionan simultáneamente sobre uno u otro centro. Tal como se ha visto por los estudios cristalográficos de los complejos de AChE y sus inhibidores, el sitio activo de AChE está formado por tres aminoácidos (Ser200-His440-Glu327) localizados en el fondo de una larga

y estrecha "garganta", estando la mayor parte de su superficie recubierta por unos catorce restos aromáticos, y un subsitio que incluye al Trp84, localizado cerca del fondo de la cavidad¹⁷. Trp84 es el punto de interacción del grupo cuaternario de ACh, decamethonium y edrophonium. De la misma forma, en el sitio periférico, cerca de la entrada a la garganta se encuentra Trp279 donde se ha localizado la unión del segundo grupo cuaternario de decamethonium, y que sería el responsable de la adhesión a la enzima¹⁸.

Recientemente se ha descrito que la AChE podría también acelerar el depósito de placas del péptido A β ¹⁹. Esta actividad estaría favorecida por ligandos (como decamethonium y propidium) que se unen al sitio activo aniónico periférico de AChE, mientras que no se vería afectada por inhibidores específicos del centro activo de la enzima, como edrophonium, lo que indicaría posiblemente que es el centro activo periférico de AChE el que estaría implicado en la formación de las placas A β .

A continuación se presentará una visión actualizada del pasado y presente de diferentes y significativos IACHe.

4. Inhibidores de acetilcolinesterasa (IACHe)

Los IACHe se clasifican en cuatro categorías²⁰:

- Inhibidores pseudo-irreversibles
- Inhibidores irreversibles
- Inhibidores tipo-análogos de estados de transición, e
- Inhibidores reversibles.

4.1. Inhibidores pseudo-irreversibles

Esta clase de IACHe incluye un grupo de carbamatos (Figuras 1-3) que forman un complejo carbamoilado con el residuo de Ser200 de la tríada catalítica de AChE que se hidroliza más lentamente que la forma acilada resultante de la interacción con ACh.

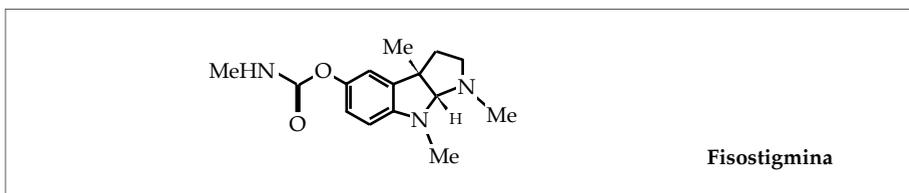


Figura 1

El prototipo de este grupo de inhibidores es **fisostigmina**²¹ (Figura 1), que fué el primer AChE clínicamente estudiado para el tratamiento de la EA. No superó la fase clínica III por problemas de corta vida-media, variable biodisponibilidad y estrecho índice terapéutico. A partir de este compuesto se han generado una gran cantidad de moléculas relacionadas, los llamados **carbamatos de 2ª generación** (Figura 2), entre los que hay que incluir:

Eptastigmina²², menos tóxico y con un tiempo de acción más prolongado, está en fase clínica III.

Quilostigmina (NXX-066) (en fase I) ha mostrado un perfil farmacológico interesante²³.

Rivastigmina (conocido por el nombre técnico SDZ-ENA-713, o comercial, Exelon[®])²⁴ es mucho menos potente *in vivo* e *in vitro* que fisostigmina y, además, inhibe butirilcolinesterasa (BChE). Por contra, presenta un perfil farmacológico global superior, incluyendo una buena combinación de selectividad cerebral, acción duradera *in vivo*, buena tolerancia y neuroprotección. Estos atributos han determinado que la UE aprobara rivastigmina en 1998 y la FDA (USA) en 2000, para el tratamiento de la EA.

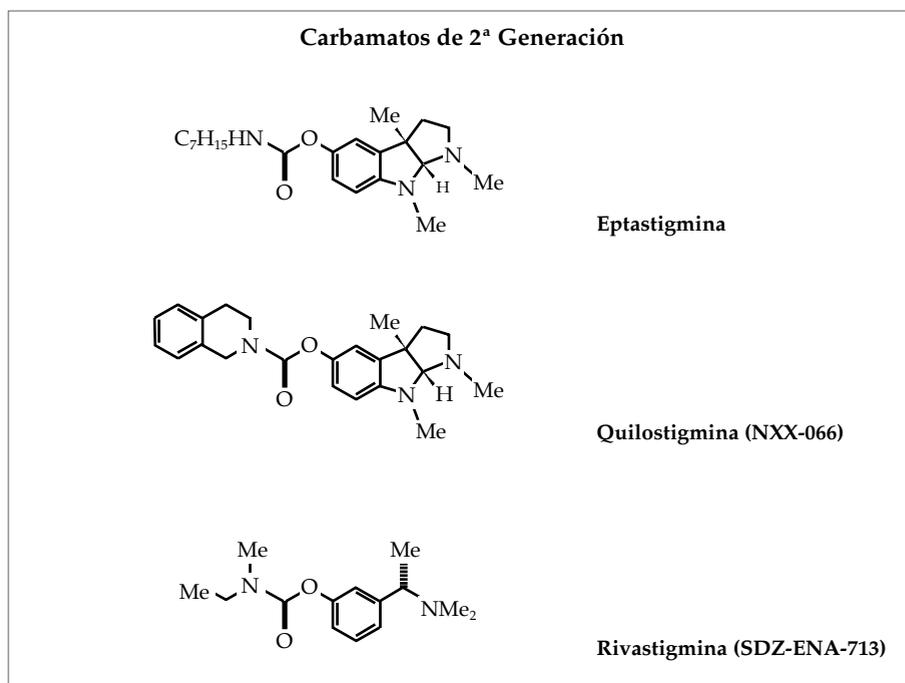


Figura 2

Carbamatos de 2ª generación

Más recientemente, se han desarrollado los llamados **carbamatos de 3ª generación** (Figura 3), que combinan una acción prolongada con una fuerte selectividad en la inhibición de AChE *versus* BChE, tales como:

Fenserina (en fase clínica I) y **tolserina**, que presentan un perfil terapéutico amplio, de gran potencia, para mejorar la memoria y la cognición en estudios preclínicos con animales modelo²⁵.

Ro 46-5934²⁶ es otro nuevo y potente IACHe, antagonista del receptor muscarínico M₂, que induce altos niveles de ACh a nivel extracelular.

CHF2819²⁷ es otro nuevo IACHe de acción prolongada que produce un simultáneo aumento de los niveles de ACh y serotonina en hipocampo de rata, y que podría ser útil en la depresión que acompaña a los enfermos de Alzheimer.

P10358²⁸ es un nuevo, no-selectivo IACHe, más eficaz y seguro que eptasigmina en estudios preclínicos con animales.

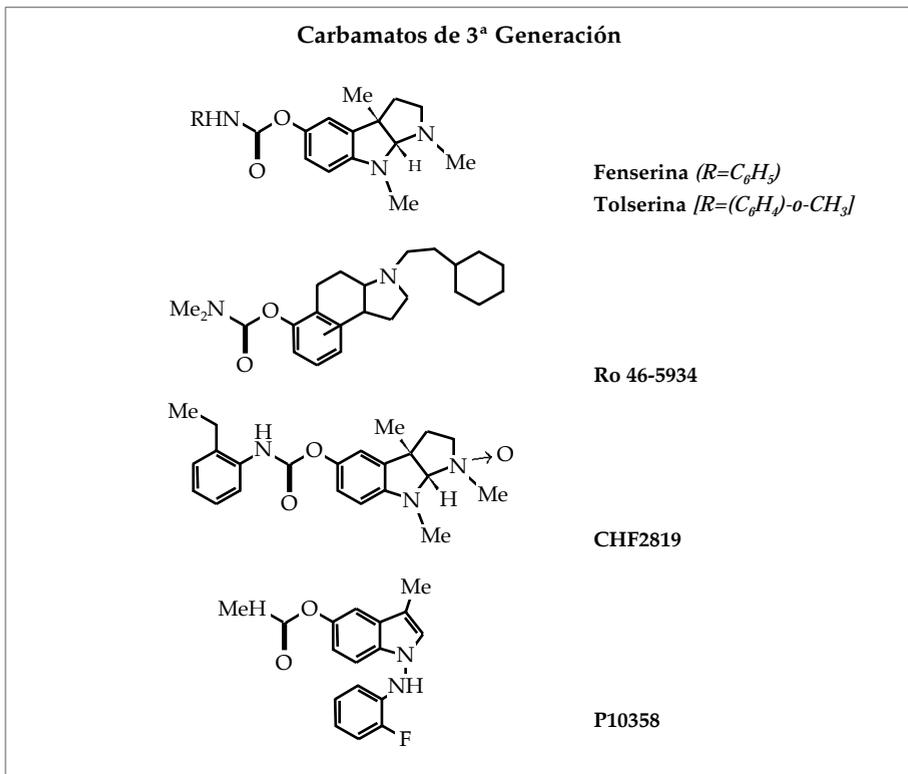


Figura 3
Carbamatos de 3ª generación

4.2. Inhibidores irreversibles

Esta familia de IACHe incluye una serie de organofosfatos que forman complejos estables fosforilados con el residuo de serina en el centro activo de AChE, y cuya desfosforilación es aún más lenta que la descarbamoilación.

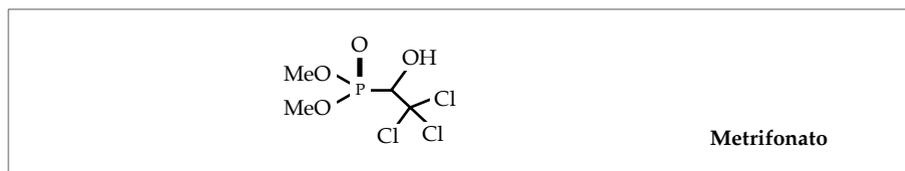


Figura 4

El único representante de este grupo que ha experimentado un amplio estudio clínico es **metrifonato**²⁹ (Figura 4). Este compuesto es un pro-fármaco, de por sí no-activo, que se transforma no-enzimáticamente en 2,2-diclorovinil-dimetilfosfonato (DDVP), el verdadero IACHe *in vivo* (y también de BChE) en pequeñas dosis y por largo tiempo (varias semanas), siendo pues el IACHe conocido de efecto más prolongado.

A pesar de haber superado la fase clínica III, la FDA finalmente no lo ha aprobado debido a problemas detectados en el sistema respiratorio y en músculo en un grupo pequeño de pacientes.

4.3. Inhibidores tipo-análogos de estados de transición

El **yoduro de *m*-(*N,N,N*-trimetilamonio)trifluoroacetofenona**³⁰ (Figura 5) es un poderoso (en el rango de lo femtomolar) IACHe, cuya potencia procede de la interacción covalente y reversible con el residuo de serina del centro activo de la enzima, formando un aducto hemicetálico, tetrahédrico, que recuerda el estado de transición en el mecanismo mismo de la enzima. No obstante, el carácter iónico de este compuesto impide su paso por la barrera hematoencefálica.

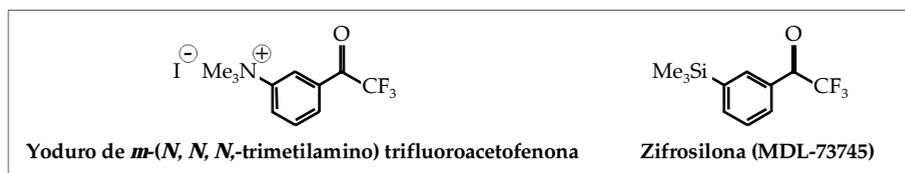


Figura 5

Este aspecto, pero con el mismo diseño, ha sido superado en **zifrosilona** (MDL-73745)³¹ (Figura 5), compuesto que se está evaluando como posible fármaco para el tratamiento de la EA. En efecto, se trata de un IChE selectivo y potente, con una K_I a nivel picomolar. MDL-73745 se ha mostrado eficiente en estudios con animales modelo, con baja toxicidad, aumentando el nivel de neuroaminas como adrenalina y dopamina.

4.3. Inhibidores reversibles

A diferencia de los anteriores, estos IChE interactúan con la enzima cerca del sitio catalítico, sin producir complejos covalentes. Tres son las grandes familias en este grupo: tacrinas (análogos de aminoacridinas) (Figura 6), las *N*-bencilpiperidinas (Figura 7) y algunos alcaloides (Figura 8).

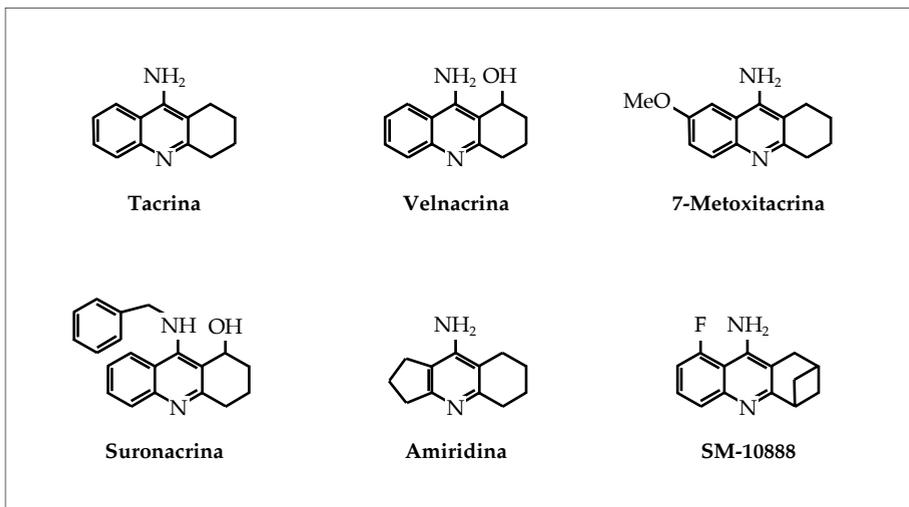


Figura 6

4.3.1. Tacrinas (análogos de aminoacridinas) (Figura 6)

Tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroacridina) (Cognex[®])³² fue el primer fármaco aprobado por la FDA en 1993 para el tratamiento de casos moderados de EA. Tacrina es mucho más potente sobre BChE que AChE, además de presentar un amplio perfil farmacológico³³. Sin embargo, varias desventajas, como la fuerte hepatotoxicidad inducida, la han expulsado del mercado, y desaconsejado su uso prolongado.

En el análisis por rayos-X del complejo tacrina-AChE se observa que tacrina se dispone paralelamente entre los restos de Trp84 y Phe330, el átomo de nitrógeno heterocíclico está formando un puente de hidrógeno con el grupo carbonilo de la cadena más larga de His440, y el grupo amino forma un puente de hidrógeno con una molécula de agua³⁴.

En torno a la estructura de tacrina se han descrito numerosos análogos.

Así, **velnacrina**, **suronacrina** y **7-metoxitacrina**³⁵⁻³⁷ se mostraron activos en modelos animales, con baja toxicidad, aunque en algunos casos, los pacientes tratados mostraron hepatotoxicidad.

Amiridina (NIK-247)³⁸ está en fase clínica III en Japón.

Estudios de estructura-reactividad han demostrado que la introducción de átomos de halógeno en los carbonos 6 u 8 de tacrina da lugar a buenos IACHe³⁹. Así, **SM-10888**, tan potente como tacrina y de 2 a 4 veces más que amiridina y velnacrina, está en fase clínica en Japón para el tratamiento de la EA.

4.3.2. *N-bencilpiperidinas* (Figura 7)

En este grupo el prototipo es **donepecilo** (Aricept[®]) (E-2020), la segunda molécula aprobada por la FDA en 1996 para el tratamiento de formas no severas de EA.

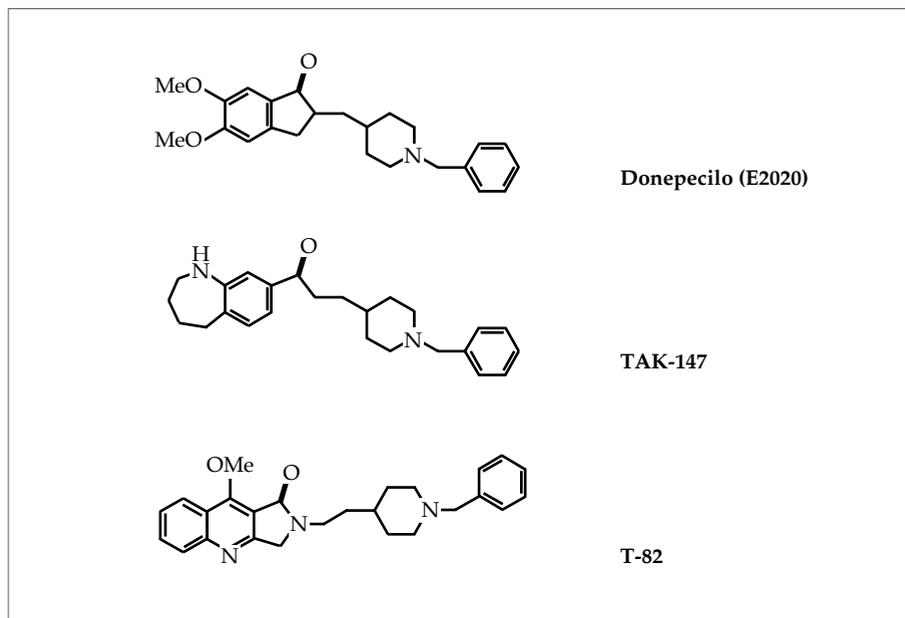


Figura 7

En el análisis por rayos-X del complejo donepecilo-AChE, donepecilo adopta una singular orientación, situándose desde el centro aniónico del centro catalítico hasta el sitio periférico de AChE, interaccionando con distintos restos aromáticos de los diferentes aminoácidos aromáticos y moléculas de agua. Se observa que el grupo bencilo se dispone en una posición paralela, dando lugar a una interacción p-p, con el anillo indólico de Trp84 y, por lo tanto, "ocupando" el sitio de unión de los grupos cuaternarios en el centro activo; el nitrógeno cuaternario del anillo de piperidina genera una interacción catión-p con el resto de Phe330; finalmente, el anillo de indanona se dispone paralelamente (interacción p-p) con el anillo de indol de Trp279 en el sitio periférico⁴⁰.

Donepecilo es un potente IACHe (a nivel nanomolar), de larga duración y altamente selectivo para AChE respecto de BChE (1250 veces)⁴¹. Debido a la bondad de donepecilo en cuanto a seguridad, selectividad y eficacia, en los últimos tiempos numerosos estudios se han llevado a cabo encaminados al desarrollo de nuevas *N*-bencilpiperidinas.

Así, **TAK-147**⁴² (fase clínica II), aunque menos potente que donepecilo, ha mostrado sus beneficiosos efectos en animales modelo, sin efectos secundarios.

T-82⁴³ es otro poderoso IACHe con actividad antagonista en los receptores 5-HT₃.

Finalmente, en algunas *N*-bencilpiperidinas recientemente sintetizadas el anillo de indanona de donepecilo se ha reemplazado por un sistema heterocíclico bioisótero, como el de benzisoxazol⁴⁴ o el de aminopiridacina⁴⁵.

4.3.3. **Alcaloides** (Figura 8)

En este grupo se encuentran **galantamina** y **huperzina A**.

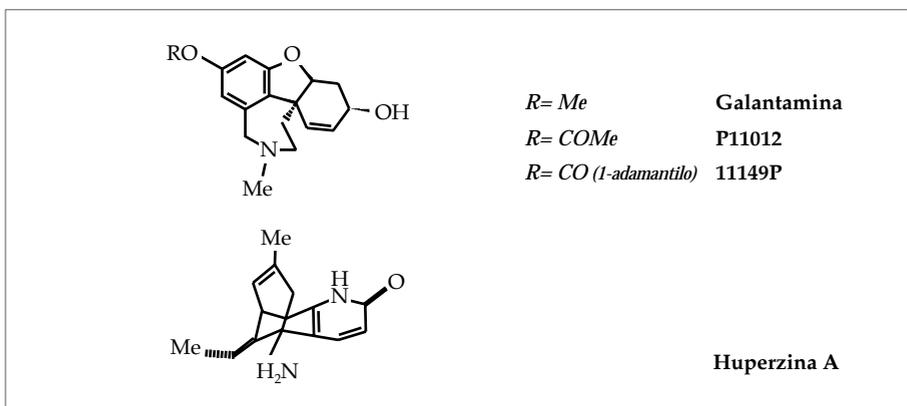


Figura 8

Galantamina⁴⁶ (Nivalina[®], Reminyl[®]) es un alcaloide aislado de *Galanthus woronowi* (*Amarillidaceae*) que ha sido recientemente aprobado en diferentes países para tratar la EA.

Galantamina es un IACHe reversible, competitivo y muy selectivo respecto de BChE. Ha demostrado ser también un modulador alostérico de los receptores nicotínicos *in vitro*⁴⁷ aumentando la respuesta de los receptores nicotínicos a ACh, lo que se manifiesta en un aumento del nivel de ACh adicional al procedente de la propia inhibición de AChE. Aunque no se ha podido probar aún clínicamente que esta acción dual es positiva, estos resultados son sin embargo interesantes para futuras investigaciones.

Entre los análogos de galantamina⁴⁸ hay que citar los ésteres **P11012** y **P11149**. Estos compuestos son pro-fármacos que *in vivo* se hidrolizan y se convierten en el principio activo, **6-desmetilgalantamina**, 10 veces más potente y 6 más selectivo que galantamina.

Galantamina se une a la base del sitio activo interno de la enzima interactuando con el bolsillo de unión del grupo acilo y con el sitio de unión del grupo amonio cuaternario. Sin embargo, la amina terciaria interactúa por medio de una molécula de agua con los restos de Trp84 y Phe330. Otros puntos de contacto son los puentes de hidrógeno del oxígeno del grupo metoxilo y del grupo hidroxilo de Ser200, y entre el grupo hidroxilo del anillo de ciclohexenol y el grupo carboxílico de Glu199⁴⁹.

Huperzina A, un alcaloide aislado de *Huperzia serrata*, una planta medicinal originaria de China^{50,51}, es un IACHe muy potente, de larga acción, baja toxicidad, que aumenta las funciones cognitivas en humanos y animales, y que exhibe neuroprotección en neuronas de hipocampo y córtex cerebral. Está en fase clínica en China, y en USA se expende como suplemento alimenticio dietético.

En el análisis por rayos-X del complejo huperzina A-AChE⁵² se observa que el grupo amino interactúa con los anillos aromáticos de Trp84 y Phe330, hay un puente de hidrógeno entre el grupo carbonilo del ligando y el grupo hidroxilo de Tyr130, una interacción entre el grupo etilideno y el oxígeno principal de His440, y varias moléculas de agua interactuando con distintos residuos en el bolsillo catalítico.

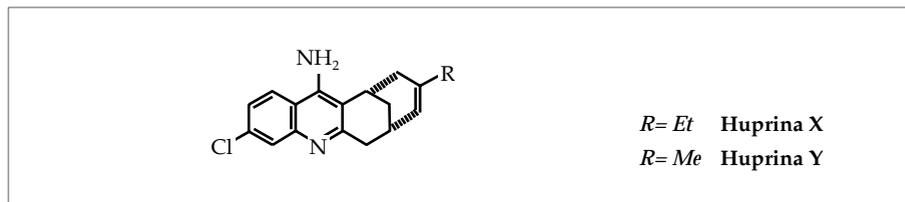


Figura 9

Los esfuerzos dedicados a preparar análogos de huperzina A no han conducido a mejores compuestos. En este contexto sí cabe destacar los *híbridos de huperzina A y tacrina*, conocidos por **huprinas**^{53,54}. Esta clase de IChE se han diseñado como una combinación de la subestructura de 4-aminoquinolina, presente en tacrina, y de huperzina A. De este análisis han resultado un gran número de productos, de los que **huprina X** y **huprina Y** (Figura 9) han sido los más potentes y selectivos. Son capaces de pasar la barrera hematoencefálica y se unen a AChE humana con una de las constantes de inhibición ($K_I = 26 \text{ pM}$) más altas conocidas.

Finalmente, hay que citar los *IChE de acción bivalente*, compuestos que son capaces de unirse simultáneamente al centro catalítico y periférico de AChE, mostrando gran potencia, afinidad y selectividad. Habitualmente se trata de homo o heterodímeros de algunos de los IChE que hemos presentado en esta sección. Aunque se han descrito compuestos "mezcla" de tacrina con fragmentos de huperzina A y galantamina, el más prometedor de los conocidos, hasta la fecha, es un **homodímero de tacrina**⁵⁵ (Figura 10), que es 149 veces más potente que tacrina, y se ha mostrado efectivo en ensayos cognitivos con animales modelo y como neuroprotector.

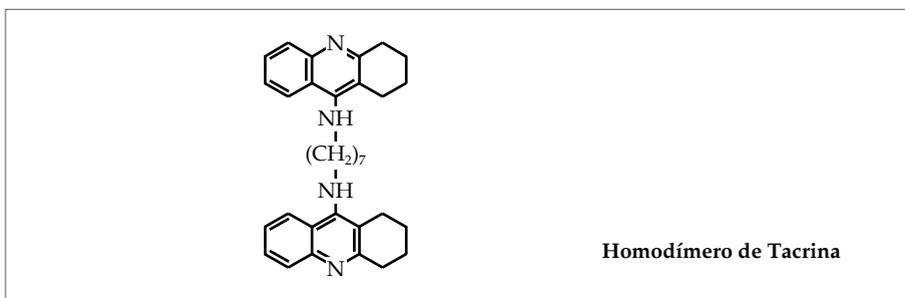


Figura 10

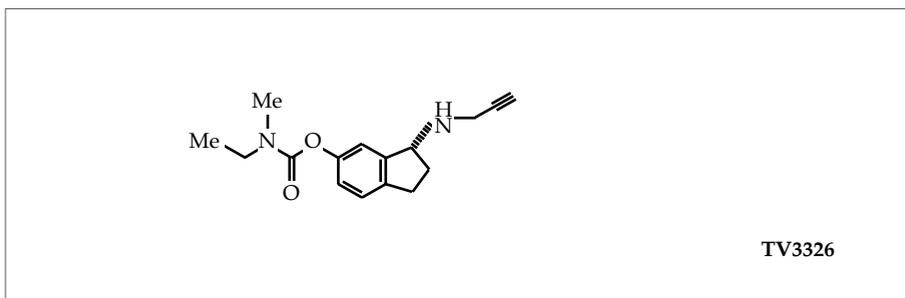


Figura 11

En este contexto hay que mencionar también *compuestos diseñados para inteaccionar con dos receptores pertenecientes a dos sistemas biológicos distintos*. Es el caso de **TV3326** (Figura 11), un híbrido que combinaría el fragmento de *N*-etil,*N*-metilarilcarbamato presente en **rivastigmina** con el de *N*-propargilaminoindano de **rasagilina**, un potente y selectivo inhibidor de MAO-B. En efecto, TV3326 no sólo es un IChE, sino también un inhibidor de MAO-A y MAO-B, con un perfil farmacológico, que incluye aumento de la capacidad cognitiva, neuroprotección y propiedades como antidepresivo, tan prometededor que está siendo desarrollado para el tratamiento de la EA⁵⁶.

5. Conclusiones y perspectivas

En primer lugar hay que decir que los enormes y evidentes avances experimentados en el conocimiento de la biología molecular y celular de la EA en los últimos quince años, apenas han tenido un reflejo práctico y positivo en el tratamiento de los enfermos de Alzheimer, quedando reducido el abanico de posibilidades a los IChE⁵⁷.

La hipótesis colinérgica ha generado una gran masa de resultados con productos en clínica, siendo efectivos en la mejora de la calidad de vida y capacidad intelectual en cortos espacios de tiempo, de seis a doce meses, además de ser positivos y beneficiosos para disminuir algunos síntomas psiquiátricos colaterales observados, tales como apatía y alucinaciones¹. No obstante, los efectos se han revelado modestos, ya que sólo se observan mejorías en un tercio de los pacientes, y se presentan efectos secundarios, suaves, pero frecuentes, particularmente, a nivel gastrointestinal.

Recientemente, se ha encontrado que la regulación colinérgica podría afectar también a la agregación y depósito del péptido A β ¹⁹, lo que sin duda ha renovado el interés por este tipo de productos. Así, hay evidencia de que los IChE y agonistas muscarínicos podrían ralentizar el progreso de la enfermedad⁵⁸. La activación de los receptores muscarínicos M₁ puede estimular la secreción de APP a través de la enzima α -secretasa, reduciendo la formación del péptido A β , lo que sugeriría, pues, que los colinmiméticos podrían impedir la formación de placas amiloides.

En resumen, dado lo complejo y multifactorial de esta enfermedad, no parece obvio que un sólo fármaco pueda ser una solución. Más realista parece una terapia combinada de IChE con agentes muscarínicos, con agentes agonistas nicotínicos, o bien, con agentes no colinérgicos, como estrógenos, antiinflamatorios, antioxidantes⁵⁹ o antagonistas del receptor NMDA, como la memantina⁶⁰.

Más aún, una terapia combinada basada en distintas estrategias podría ser muy eficiente. Así, hay evidencia de que la acción combinada de agentes colinérgicos y monoaminérgicos⁶¹ restauran aspectos de las funciones cognitivas a nivel cortical.

En definitiva, pues, en los próximos años, una investigación orientada en base a estas premisas y con estos retos, es plausible que genere nuevos fármacos más selectivos, potentes y eficientes para el tratamiento de la EA.

Bibliografía

- Cummings, J. L.; Askin-Edgar, S. *CNS Drugs* 2000, **13**, 385.
- Boyd, B. *Drug News Perspect.* 2000, **13**, 425.
- Cacabelos, R. et al. *Drugs Today* 2000, **36**, 415.
- Haas, C.; Selkoe, D. J. *Nature* 1998, **391**, 339.
- Coughlan, C. M.; Breen, K. C. *Pharmacol. Therapeut.* 2000, **86**, 111.
- Wolfe, M. S. *J. Med. Chem.* 2001, **44**, 2039.
- Talaga, P. *Mini Rev. Med. Chem.* 2001, **1**, 175.
- Bartus, R. T.; Dean III, R. L.; Beer, B.; Lippa, A. S. *Science* 1982, **217**, 408.
- Coghlan, M. J.; Carroll, W. A.; Gopalakrishnan, M. *J. Med. Chem.* 2001, **44**, 1627.
- Lachowicz, J. E. et al. *Life Sci.* 2001, **68**, 2585.
- Decker, M. W.; Curzon, P.; Brioni, J. D.; Arneric, S. P. *Eur. J. Pharmacol.* 1994, **261**, 217.
- Chaki, H. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1995, **5**, 1495.
- Harrison, P. J.; Barton, A. J. L.; Najlerahim, A.; McDonald, B.; Pearson, R. C. A. *Mol. Brain Res.* 1991, **9**, 15.
- Felder, C. C.; Bymaster, F. P.; Ward, J.; DeLapp, N. *J. Med. Chem.* 2000, **43**, 4333.
- Larner, A. J. *Mini Rev. Med. Chem.* 2002, **2**, 1.
- Sussman, J. L.; Harel, M.; Frolow, F.; Oefner, C.; Goldman, A.; Toker, L.; Silman, I. *Science* 1991, **253**, 872.
- Millard, C. B.; Koellner, G.; Ordentlich, A.; Shafferman, A.; Silman, I.; Sussman, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, **121**, 9883.
- Szegletes, T.; Mallender, W. D.; Thomas, P. J.; Rosenberry, T. L. *Biochemistry* 1999, **38**, 122.
- Álvarez, A.; Opazo, C.; Alarcón, R.; Garrido, J.; Inestrosa, N. C. *J. Mol. Biol.* 1997, **272**, 348.
- Camps, P.; Muñoz-Torrero, D. *Mini Rev. Med. Chem.* 2002, **2**, 11.
- Volger, B. W. *Clin. Pharm.* 1991, **10**, 447.
- Imbimbo, B. P. *CNS Drugs* 2001, **15**, 375.
- Snape, M. F.; Misra, A.; Murray, T. K.; De Souza, R. J.; Williams, J. L.; Cross, A. J.; Green, A. R. *Neuropharmacology* 1999, **38**, 181.
- Miguel-Hidalgo, J. J. *Curr. Opin. CPNS Invest. Drugs* 2000, **2**, 438.
- Patel, N.; Spangler, E. L.; Greig, N. H.; Yu, Q. S.; Ingram, D. K.; Meyer, R. C. *Neuroreport* 1998, **9**, 171.

- Borroni, E.; Damsma, G.; Giocacchini, C.; Mutel, V.; Jacob-Rötne, R.; Da Parda, M. *Biochem. Soc. Trans.* 1994, *22*, 755.
- Trabace, L.; Cassano, T.; Steardo, L.; Pietra, C.; Villetti, G.; Kendrick, K. M.; Cuomo, V. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000, *294*, 187.
- Smith, C. P. et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, *280*, 710.
- Ormrod, D.; Spencer, C. *CNS Drugs* 2000, *13*, 443.
- Nair, H. K.; Lee, K.; Quinn, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, *115*, 9939.
- Zhu, X.-D.; Giacobini, E.; Hornsperger, J.-M. *Eur. J. Pharmacol.* 1995, *276*, 93.
- Davis, M. *New Engl. J. Med.* 1992, *327*, 1253.
- Allain, H.; Bentué-Ferrer, D.; Belliard, S.; Derouesné, C. "Pharmacology of Alzheimer's Disease" in *Progress in Medicinal Chemistry*, Vol 34, pp 1-67; Ed. Ellis, G. P. and Luscombe, D. K.; Elsevier, Amsterdam, 1997.
- Harel, M.; Schalk, I.; Ehret-Sabatier, L.; Bouet, F.; Goeldner, M.; Hirth, C.; Axelsen, P. H.; Silman, I.; Sussman, J. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, *90*, 9031.
- Shutske, G. M.; Pierrat, F. A.; Cornfeldt, M. L.; Szewczak, M. R.; Huger, F. P.; Bores, G. M.; Haroutunian, V.; Davis, K. L. *J. Med. Chem.* 1988, *31*, 1278.
- Shutske, G. M.; Pierrat, F. A.; Kapples, K. J.; Cornfeldt, M. L.; Szewczak, M. R.; Huger, F. P.; Bores, G. M.; Haroutunian, V.; Davis, K. L. *J. Med. Chem.* 1989, *32*, 1805.
- Dejmek, L. *Drugs Future* 1990, *15*, 126.
- Yoshida, S.; Suzuki, N. *Eur. J. Pharmacol.* 1993, *250*, 117.
- Gregor, V. E.; Emmerling, M. R.; Lee, C.; Moore, C. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, *2*, 861.
- Kryger, G.; Silman, I.; Sussman, J. L. *Structure* 1999, *7*, 297.
- Sugimoto, H.; Yamanishi, Y.; Iimura, Y.; Kawakami, Y. *Curr. Med. Chem.* 2000, *7*, 303.
- Ishihara, Y.; Goto, G.; Miyamoto, M. *Curr. Med. Chem.* 2000, *7*, 341.
- Mucke, H. A.M.; Castaner, J. *Drugs Future* 1998, *23*, 1075.
- Villalobos, A. et al. *J. Med. Chem.* 1994, *37*, 2721.
- Wermuth, C. G.; Contreras, J. M.; Chayer, S.; Pinto, P. L.; Guilbaud, P.; Rival, Y.; Bourguignon, J. *Acta Pharm. Hung.* 1996, *53*.
- Sramek, J. J.; Frackiewicz, E. J.; Cutler, N. R. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2000, *9*, 2393.
- Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M. *Biol. Psychiatry* 2001, *49*, 279.
- Bores, G. M.; Kosley, R. W., Jr. *Drugs Future* 1996, *21*, 621.
- Pilger, C.; Bartolucci, C.; Lamba, D.; Tropsha, A.; Fels, G. *J. Mol. Graphics Model.* 2001, *19*, 288.
- Kozikowski, A.; Tückmantel, W. *Acc. Chem. Res.* 1999, *32*, 641.
- Bai, D. L.; Tang, X. C.; He, X. C. *Curr. Med. Chem.* 2000, *7*, 355.
- Yamada, F.; Kozikowski, A. P.; Reddy, E. R.; Pang, Y. P.; Miller, J. H.; McKinney, M. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, *113*, 4695.
- Camps, P.; Muñoz-Torrero, D. *Mini Rev. Med. Chem.* 2001, *1*, 163.
- Ros, E.; Aleu, J.; Gómez de Aranda, I.; Muñoz-Torrero, D.; Camps, P.; Badia, A.; Marsal, J.; Solsona, C. *Eur. J. Pharmacol.* 2001, *421*, 77.
- Pang, Y. P.; Quiram, P.; Jelacic, T.; Hong, F.; Brimijoin, S. *J. Biol. Chem.* 1996, *271*, 23646.
- Weinstock, M.; Goren, T.; Youdim, M. B. H. *Drug Dev. Res.* 2000, *50*, 216.
- Jones, R. W. *Drug treatment in dementia*. Oxford, Blackwell Science, 2000.
- Giacobini, E. *Neurochem. Res.* 2000, *25*, 1185.
- Korczyn, A. D. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2000, *9*, 2259.
- Wenk, G. L.; Quack, G.; Moebius, H.-J.; Danysz, W. *Life Sci.* 2000, *66*, 1079.
- Benzi, G.; Moretti, A. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, *346*, 1.

CAPÍTULO 9

GALANTAMINA PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER: HISTORIA, FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA

GUILLERMO GARCÍA RIBAS

Neurólogo

Departamento Médico Janssen-Cilag España

Introducción

La galantamina es un alcaloide terciario aislado por primera vez en 1952 del bulbo del *Galanthus woronowii*¹. Pronto se describió su actividad anticolinesterásica y, desde esas fechas, la galantamina ha sido utilizada en la clínica para revertir los efectos de los anestésicos generales utilizados por aquella época. Posteriormente la galantamina fue aislada de otras plantas pertenecientes a la familia de las amarilidáceas, entre las que se cuentan diversas especies de narcisos, y en especial del *Galanthus nivalis*² que ha sido la planta empleada para su extracción industrial. Actualmente, la galantamina se obtiene mediante síntesis de laboratorio³.

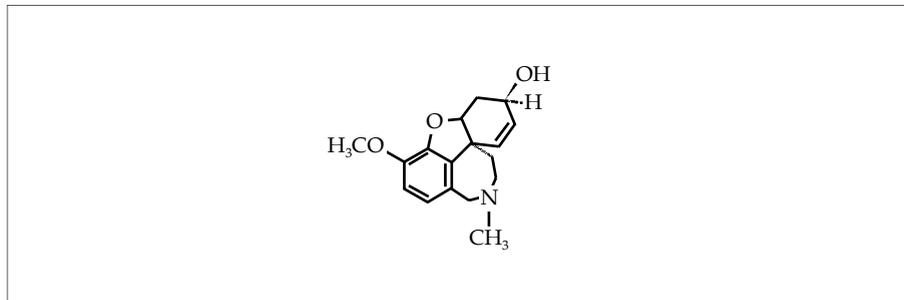
Sobre la base de las investigaciones que detallaban un déficit colinérgico en los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA)⁴, aquellos fármacos con actividad anticolinesterásica fueron desarrollados como terapia para el tratamiento de esta enfermedad. La galantamina fue ensayada por vez primera en la EA en 1989⁵ y desde entonces se han realizado los ensayos clínicos de registro que culminaron con la comercialización del fármaco con el nombre de Reminyl® en los albores de este siglo.

***Galanthus nivalis*: una planta de la memoria**

El novelista Robert Graves plantea en su libro sobre la mitología griega que estas figuras representaban los conocimientos de remedios tradicionales⁶ y en uno de los pasajes de la Odisea, Homero describe como Ulises y su tripulación arriban a las costas de la isla de Eea habitada por Circe, la hechicera⁷. Circe acoge en su palacio a parte de la tripulación de Ulises y mientras comen les administra “drogas perniciosas, para que los míos olvidaran por entero”. Circe los convierte después en cerdos y los echa a las pocilgas. Ulises enterado del suceso corre a rescatar a sus compañeros y se encuentra con el dios Hermes que le previene del riesgo de enfrentarse a la hechicera. Le ofrece su ayuda dándole un antídoto “que apartará de tu cabeza el día cruel”. Hermes le da el remedio “arrancando de tierra una planta cuya naturaleza me enseñó. Tenía negra la raíz y era blanca como la leche su flor, llamándola *moly* los dioses, y es muy difícil de arrancar para un mortal, pero las deidades lo pueden todo”. Durante siglos se han buscado candidatos para la droga de Circe y el antídoto de Hermes. Las plantas de la familia de las solanáceas y en particular el estramonio (*Datura stramonium*) son ricas en alcaloides con propiedades anticolinérgicas centrales y ya desde tiempos antiguos es conocida la intoxicación por estas plantas con un característico cuadro amnésico alucinatorio como el representado por la tripulación de Ulises. En cuanto al antídoto, Plaitakis y Duvoisin⁸ plantean la posibilidad del *Galanthus nivalis*. La palabra *galanthus* se origina del griego *gala* (leche) y *anthos* (flor) tal y como se describe en la Odisea. Además, es una planta cuyo bulbo es parduzco y difícil de arrancar por entero ya que las raíces se entremezclan unas con otras y su tallo herbáceo es bastante endeble. La distribución geográfica es extensa en nuestro continente y abundante en Italia⁹ donde se sitúa la isla de Circe. La galantamina contenida en el bulbo por sus propiedades colinomiméticas bien podría haber servido de antídoto contra los preparados de Circe.

Estructura química, formulación y presentaciones de galantamina

La galantamina ((4aS,6R,8aS)-6-hidroxi-3-metoxi-11-metil-5,6,9,10,11,12-hexahidro-4aH-benzofuro [3a,3,2-e,f][2] benzazepina) es un alcaloide (sustancia nitrogenada natural derivada de plantas) con un grupo nitrógeno terciario. Es un polvo blanco con un peso molecular de 368,27 y una solubilidad en agua (pH= 6,0) de 3,1 g/100 ml (Figura 1). Se comercializa en forma de comprimidos con 3 formulaciones de 4, 8 y 12 mg y en solución oral a concentración de 4 mg /100 ml.

**Figura 1**

Estructura química de la Galantamina

Propiedades farmacocinéticas

La farmacocinética de Reminyl se ha estudiado tanto en voluntarios sanos como en pacientes con enfermedad de Alzheimer y en pacientes con alteraciones hepáticas o renales. También se han realizado estudios de interacciones farmacocinéticas *in vitro* e *in vivo*¹⁰⁻¹³. Los principales parámetros farmacocinéticos se resumen en la Tabla 1.

La galantamina se absorbe rápidamente en el tubo digestivo tras la administración oral y la concentración plasmática máxima se alcanza tras 1,2 horas. La biodisponibilidad oral absoluta es elevada (88,5-100%) y, aunque la administración conjunta con comidas retrasa su absorción, su biodisponibilidad oral total no se afecta. Presenta una baja unión a proteínas plasmáticas (17,7%) a concentraciones terapéuticas. La vida media de la galantamina es de unas 7-8 horas, lo que permite ser administrado dos veces al día. El estado de equilibrio se alcanza en 2 días y su volumen de distribución medio es de 170 L. La farmacocinética de galantamina es lineal en el intervalo posológico de 4-16 mg dos veces al día. Su aclaramiento plasmático es extenso (300 ml/min) del cual un 23% corresponde al aclaramiento renal.

En cuanto a su metabolismo, el 75% se realiza en el hígado siguiendo varias vías metabólicas (oxidación, desmetilación, glucuronidación y epimerización). Ninguno de los metabolitos presenta actividad terapéutica *in vivo*. Estudios *in vitro* han demostrado que las isoenzimas 3A4 y 2D6 del citocromo P450 (CYP450) son las que intervienen en el metabolismo de galantamina. El polimorfismo genético del CYP2D6 (metabolizadores lentos frente a metabolizadores rápidos) no parece relevante para el ajuste de dosis¹⁴. La galantamina no se acumula en el organismo. Siete días después de la administración de una sola dosis oral de 4 mg, el 90-97% de la dosis se ha excre-

Tabla 1

Resumen de los parámetros farmacocinéticos de galantamina.

| Parámetro | Resultado | Comentario |
|---|---------------------------------------|--|
| Biodisponibilidad oral en ayunas (%) | 88,5-100% | Independiente de la administración con alimentos |
| Área total bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC) | 4,77 mg/L h | Valores similares tras la administración sin/con alimentos |
| Tiempo hasta concentración máxima en ayunas ($t_{m\acute{a}x}$) | 0,88-2 h | Discretamente retrasado con ingesta de alimentos |
| Concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) media | 42-137 mg/l | |
| Volumen de distribución (Vd) | 175 l | |
| Vida media plasmática ($t_{1/2}$) | 7,4 h | 10-11 h en pacientes con EA |
| Aclaramiento plasmático (Cl_p) | 300 ml/min | Menor en mujeres (20%). Valores independientes de la edad o raza |
| Aclaramiento renal (Cl_r) | 62 ml/min | Entre un 20-25% del aclaramiento plasmático |
| Unión a proteínas plasmáticas | 17,7% | Independiente de las concentraciones plasmáticas de galantamina |
| Metabolismo | Hepático (75%) vía CYP2D6 y CYP3A4 | |
| Farmacocinética | Lineal | Estudiada a dosis desde 4 mg/12h hasta 16 mg/12h |

tado en la orina y el 2-6% en las heces. El 18-22% de la dosis excretada en la orina corresponde a galantamina intacta.

En pacientes con insuficiencia hepática o renal la cinética de galantamina puede alterarse¹⁴. En enfermos con insuficiencia hepática moderada (índice de Child-Pugh < 9), el área bajo la curva (AUC) y la vida media de Reminyl aumentaron un 30%. En estos pacientes, se debe iniciar el tratamiento con dosis de 4 mg/día en una toma durante una semana, seguida de una dosis de 4 mg/12h en la siguiente semana y una dosis de mantenimiento de 8 mg/12h. En pacientes con insuficiencia renal y aclaramientos de creatinina (Cl_{Cr}) > 9 ml/min las concentraciones plasmáticas de galantamina se elevaron, pero no

fue preciso realizar ajuste de dosis. Sin embargo, no se recomienda utilizar galantamina en pacientes con insuficiencia renal terminal o hepática grave.

Entre los estudios preliminares llevados a cabo con galantamina, se evaluaron también los efectos de la edad, sexo y peso corporal en la farmacocinética. El volumen de distribución es mayor conforme se incrementa el índice de masa corporal y es menor en las mujeres, alrededor de un 20%, muy probablemente por su menor peso corporal. El aclaramiento plasmático de galantamina disminuye con la edad, muy probablemente por el peor aclaramiento hepato-renal, lo que produce un aumento de la semivida plasmática que en población anciana se sitúa sobre las 11 horas¹⁵. Se dispone de pocos datos de la farmacocinética de galantamina en razas no caucásicas, pero el aclaramiento y otros parámetros farmacocinéticos no parece estar alterado en estos grupos de población.

Farmacocinética en pacientes con enfermedad de Alzheimer

La farmacocinética de la galantamina ha sido determinada también en pacientes con EA a lo largo de varios de los ensayos clínicos fases II y III¹⁶⁻²⁰. Los datos obtenidos demuestran una cinética lineal y que el fármaco no se acumula durante el tratamiento prolongado. Las concentraciones plasmáticas de galantamina fueron entre un 30-40% más elevadas que en los sujetos jóvenes sanos y también la vida media era relativamente mayor (10-11 h). Estas diferencias pueden explicarse en razón de la edad avanzada, que disminuye las capacidades de aclaramiento hepático y renal y por la mayor proporción de mujeres que tienen un menor aclaramiento plasmático de galantamina debido a su menor peso corporal. No parece que la EA *per se* afecte a la farmacocinética de la galantamina.

Interacciones farmacocinéticas

Basándonos en los resultados de estudios *in vitro*, se puede concluir que la capacidad de galantamina para inhibir las formas principales del citocromo P450 es muy limitada y, probablemente, carece de importancia clínica¹⁴. Es improbable que la galantamina afecte a la cinética de los fármacos con metabolismo hepático extenso. Los datos *in vivo* han demostrado que la cinética de la warfarina y la digoxina no resulta afectada por la galantamina. Además, tampoco se alteró la farmacodinamia de la warfarina (medida con el tiempo de protrombina).

Las posibles interacciones farmacológicas con galantamina son previsibles y, por tanto, evitables porque su vías metabólicas se han definido con precisión¹⁴. Inhibidores conocidos del CYP2D6 son la fluoxetina, paroxetina, clorpromacina y tioridazina e inhibidores del CYP3A4 son el ketoconazol y la eritromicina. En pacientes tratados simultáneamente con galantamina y paroxetina el incremento de las concentraciones plasmáticas de galantamina fue de un 40%. En pacientes comedificados con eritromicina se observó un incremento de las concentraciones plasmáticas del 10% y del 30% en aquellos tratados con ketoconazol. Por tanto, durante el tratamiento simultáneo con fármacos inhibidores del CYP2D6 o CYP3A4, pueden potenciarse los efectos colinérgicos de la galantamina incluidos los adversos (p. ej.: náuseas y vómitos) lo que puede hacer necesaria una reducción de la dosis utilizada.

Toxicología experimental

En los estudios experimentales realizados, la galantamina no ha presentado potencial mutagénico ni genotóxico. La administración diaria a animales de experimentación de dosis entre 0,5 a 2 mg/kg no tuvo efectos sobre el peso, valores hematológicos o la morfología del encéfalo, hígado, riñón, glándulas suprarrenales, corazón o músculo.

Propiedades farmacodinámicas

La galantamina se une reversiblemente al lugar activo de la acetilcolinesterasa (AChE) como se ha valorado por estudios de cristalografía de rayos X²¹. Presenta una selectividad 53 veces mayor por la ACE comparada con la butirilcolinesterasa. La tasa de inhibición de la AChE en muestras de tejido cerebral varía, dependiendo linealmente de la concentración empleada (0,1-100 $\mu\text{mol/L}$), desde un 4,9 a un 93,1%. Asimismo, la concentración necesaria para obtener una inhibición del 50% de la AChE fue de 3,2 y 2,8 $\mu\text{mol/L}$ en muestras de corteza frontal e hipocampal respectivamente²². En estudios realizados *in vivo*, la inhibición de la ACE es del 39% tras 30 minutos de una toma única de 10 mg por parte de voluntarios sanos²². En pacientes con EA tratados durante 3 meses con dosis de 15 a 45 mg/día, la inhibición oscila entre un 21-41%²³. La actividad inhibitoria cesa por completo 30 horas después de la última toma del fármaco²⁴.

Además de esta propiedad inhibitoria enzimática, conocida desde su descubrimiento, más recientemente se ha visto que la galantamina es uno de los

pocos fármacos que modula alostéricamente el receptor nicotínico. Otros ejemplos son la fisostigmina y la codeína²⁵. El donepezilo aumenta el número de receptores nicotínicos, pero no actúa directamente sobre los mismos²⁶. Los compuestos con actividad moduladora interactúan con el receptor en un lugar distinto (alostérico) al que lo hace la sustancia agonista natural. La galantamina se une a la subunidad α del receptor nicotínico facilitando el paso de iones e incrementando así la respuesta a la acetilcolina (ACh) (Figura 2). En estudios realizados empleando técnicas de canales celulares aislados, la galantamina incrementa la frecuencia de apertura del receptor nicotínico y potencia las corrientes generadas por agonistas²⁷. También se ha demostrado que así como la ACh influye en la liberación de otros neurotransmisores, la adición de galantamina en cultivos neuronales facilita la liberación de neurotransmisores (glutamato, GABA, serotonina)²⁸. El anticuerpo monoclonal FK1, que se une al lugar alostérico del receptor nicotínico, bloquea la actividad potenciadora de la galantamina²⁹. Mediante estudios *in vitro* se ha demostrado que la estimulación nicotínica de la galantamina podría ejercer además un efecto neuroprotector³⁰.

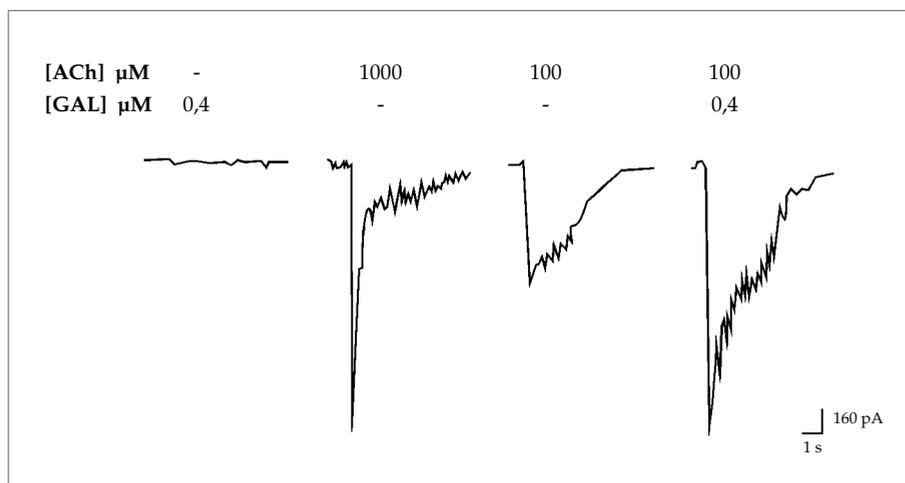


Figura 2

Administración de acetilcolina (ACh) y de galantamina (GAL) en cultivos de células embrionarias de riñón (HEK-293) con expresión ectópica del receptor nicotínico humano $\alpha 4/\beta 2$. La GAL no produce ninguna respuesta agonista (primer trazado), mientras que se observa una respuesta dosis-dependiente tras la aplicación de ACh en concentraciones de 100 y 1000 mmol/l (segundo y tercer trazados). En presencia de GAL, la respuesta a la ACh aumenta. Esta capacidad potenciadora no agonista se conoce como modulación alostérica positiva del receptor nicotínico (cortesía de A. Maelicke)

Interacciones farmacodinámicas

La galantamina no debe ser administrada simultáneamente con otros colinómiméticos, tanto inhibidores de la acetilcolinesterasa como agonistas colinérgicos directos. Al igual que otros fármacos con propiedades colinomiméticas, es posible una interacción farmacodinámica entre galantamina y fármacos que reduzcan significativamente la frecuencia cardíaca.

Resumen y conclusiones

La galantamina presenta unas propiedades farmacológicas interesantes. Su novedoso mecanismo de doble acción sobre el sistema colinérgico central, inhibiendo la degradación de acetilcolina y potenciando la acción de ésta sobre los receptores nicotínicos, hacen de ella un fármaco interesante. La modulación de receptores y su capacidad para modificar las respuestas intracelulares abren un nuevo campo de investigación cuyos resultados preliminares son muy prometedores para comenzar a evaluar en la clínica un efecto modificador del curso de la enfermedad. El comportamiento cinético y perfil de seguridad de galantamina en humanos hacen que sea cómodo su uso en una población anciana.

Tras disponer de varios fármacos de potente acción anticolinesterásica, la galantamina parece iniciar la inflexión hacia una nueva generación de agentes colinérgicos, con mecanismos de acción combinados para abordar el reto terapéutico difícil que suponen las demencias. Ante este panorama, alguien podría pensar que ya encaramos el principio del final en lo que respecta a terapias curativas. Aún así, el déficit colinérgico es sólo una parte de la patología de esta enfermedad, y la terapia colinérgica tiene un techo, probablemente no muy lejos del beneficio proporcionado por fármacos como la galantamina. Los nuevos avances en la investigación, en la búsqueda de terapias neuroprotectoras nos hacen albergar esperanza en la terapéutica de esta bien llamada epidemia del siglo XXI.

Bibliografía

1. Proskurnina N.F., Yakovleva A.P. *Alkaloids of Galanthus Woronowi*. Journal of General Chemistry of the USSR 1952, 22: 1941-4.
2. Bastida J., Viladomat F., Llabres J.M. et al. *Narcissus nivalis: a new source of galanthamine*. Planta Med. 1990, 56: 123-4.
3. Szewczyk J., Lewin A.H., Carroll F.I. *An improved synthesis of (+/-)-, (+)-, and (-)-galanthamine*. J. Heterocyclic Chem. 1995, 32: 195-9.
4. Perry E.K., Perry R.H., Blessed G., Tomilson B.E. *Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia*. Lancet 1977, i(8004): 189.
5. Rainer M., Mark T., Haushofer A. *Galanthamine hydrobromide in the treatment of senile dementia of Alzheimer's type*. En: Kewitz H., Thomsen T., Bickel H. (eds.) *Pharmacological Interventions on Central Cholinergic Mechanisms in Senile Dementia (Alzheimer's disease)*. W. Zuckschwerdt Verlag, Munich, Alemania, 1989: pp. 233-237.
6. Graves R. *The Greek Myths*. Penguin Books, Harmondsworth. Reino Unido, 1960.
7. Homero. *Odisea*. Espasa-Calpe, Madrid. España, 1951.
8. Plaitakis A., Duvoisin R.C. *Homer's moly identified as Galanthus nivalis L.: physiologic antidote to stramonium poisoning*. Clin. Neuropharmacol. 1983, 6: 1-5.
9. Venturi V.M., Piccinni G.L., Taddei I. *Ricerche farmacognostiche sul galanthus nivalis (var. Gracilis) spontaneo in Italia*. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 1965, 41: 593-7.
10. Harvey A.L. *The pharmacology of galanthamine and its analogues*. Pharmac. Ther. 1995, 68: 113-128.
11. Westra P., Van Thiel M.J., Vermeer G.A., Soeterbroek A.M., Scaf A.H., Claessens H.A. *Pharmacokinetics of galanthamine (a long-acting anticholinesterase drug) in anaesthetized patients*. Br. J. Anesth. 1986, 58: 1303-1307.
12. Bickel U., Thomsen T., Weber W., Fischer J.P., Bachus R., Nitz M., Kewitz H. *Pharmacokinetics of galanthamine in humans and corresponding cholinesterase inhibition*. Clin. Pharmacol. Ther. 1991, 50: 420-428.
13. Mihailova D., Yamboliev I., Zhivkova Z., Tencheva J., Jovovich V. *Pharmacokinetics of galanthamine hydrobromide after single subcutaneous and oral dosage in humans*. Pharmacology 1989, 39: 50-58.
14. Mannens G.S., Snel C.A., Hendrickx J., et al. *The metabolism and excretion of galantamine in rats, dogs, and humans*. Drug Metab. Dispos. 2002, 30: 553-63.
15. Scott L.J., Goa K.J. *Galantamine. A review of its use in Alzheimer's disease*. Drugs 2000, 60: 1095-1122.
16. Wilkinson D., Murray J.D. *Galantamine: a randomized, double-blind, dose-finding trial in patients with Alzheimer's disease*. Int. J. Geriatr. Psychiatry 2001, 16: 852-7.
17. Raskind M.A., Peskind E.R., Wessel T., Parys W., Yuan W., for the Galantamine USA-1 Study Group. *Galantamine in Alzheimer's disease - A 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension*. Neurology 2000, 54: 2261-68.
18. Tariot P.N., Solomon P.R., Morris J.C., et al. *A 5-month, randomised, placebo-controlled trial of galantamine in AD*. Neurology 2000, 54: 2269-76.
19. Wilcock G.K., Lilienfeld S., Gaens E. *Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial*. BMJ 2000, 321: 1-7.
20. Rockwood K., Mintzer J., Truyen L., Wessel T., Wilkinson D. *Effects of a flexible galantamine dose on cognition and function in Alzheimer's disease: a randomized, controlled trial*. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 2001, 71: 589-95.

21. Greenblatt H.M., Kryger G., Lewis T., Silman I., Sussman J.L. *Structure of acetylcholinesterase complexed with (-)-galanthamine at 2.3 Å resolution*. FEBS Lett. 1999, 463: 321-6.
22. Thomsen T., Kaden B., Fischer J.P., Bickel U., Barz H., Gusztony G., Cervos-Navarro J., Kewitz H. *Inhibition of acetylcholinesterase activity in human brain tissue and erythrocytes by galanthamine, physostigmine and tacrine*. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1991, 29: 487-92.
23. Thomsen T., Bickel U., Fischer J.P., Kewitz H. *Galanthamine hydrobromide in a long-term treatment of Alzheimer's disease*. Dementia 1990, 1: 46-51.
24. Tariot P. *Current status and new developments with galantamine in the treatment of Alzheimer's disease*. Expert Opin. Pharmacother. 2001, 2: 2027-49.
25. Storch A., Schrattenholz A., Cooper J.C., et al. *Physostigmine, galanthamine and codeine act as 'noncompetitive nicotinic receptor agonists' on clonal rat pheochromocytoma cells*. Eur. J. Pharmacol. 1995, 290: 207-19.
26. Svensson A.L., Nordberg A. *Tacrine and donepezil attenuate the neurotoxic effect of A beta(25-35) in rat PC12 cells*. Neuroreport. 1998, 9: 1519-22.
27. Samochocki M., Zerlin M., Jostock R., Groot Kormelink P.J., Luyten W.H., Albuquerque E.X., Maelicke A. *Galantamine is an allosterically potentiating ligand of the human alpha4/beta2 nAChR*. Acta Neurol. Scand. Suppl. 2000, 176: 68-73.
28. Santos M.D., Alkondon M., Pereira E.F., Aracava Y., Eisenberg H.M., Maelicke A., Albuquerque E.X. *The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system*. Mol. Pharmacol. 2002, 61: 1222-34.
29. Schroder B., Reinhardt-Maelicke S., Schrattenholz A., et al. *Monoclonal antibodies FK1 and WF6 define two neighboring ligand binding sites on Torpedo acetylcholine receptor alpha-polypeptide*. J. Biol. Chem. 1994, 269: 10407-16.
30. Arias E., Cano-Abad M.F., García A.G., López M.G. *Neuroprotectant mechanism of galantamine*. Fundam. Clin. Pharmacol. 2002, 15 (suppl. 1): 35.

CAPÍTULO 10

RECEPTORES NICOTÍNICOS, NEUROPROTECCIÓN Y GALANTAMINA

ESPERANZA ARIAS, CAMILO OROZCO y
MANUELA G. LÓPEZ

*Instituto Teófilo Hernando
Departamento de Farmacología y Terapéutica
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

La enfermedad de Alzheimer afecta a un 10% de los individuos mayores de 65 años y hasta el 40% de los individuos de 90 años (Evans y cols., 1989). Esto constituye un problema de grandes dimensiones sociales, sanitarias y económicas, ya que se trata de un cuadro clínico crónico de instauración insidiosa. El paciente pierde progresivamente su autonomía y requiere cuidados y atenciones especiales que crean una situación familiar devastadora, con el consiguiente deterioro de la calidad de vida no sólo del paciente sino también de sus cuidadores. De ahí la imperiosa necesidad de encontrar tratamientos que palién las consecuencias de esta enfermedad.

En este sentido, los efectos neuroprotectores de la nicotina, tanto en modelos "in vivo" como "in vitro", han hecho surgir la hipótesis de que agonistas de los receptores nicotínicos podrían tener utilidad clínica en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson. De hecho la nicotina incrementa los procesos de atención en pacientes con Alzheimer (Newhouse y cols., 1988), y existen datos epidemiológicos en los que se demuestra una correlación negativa entre sujetos fumadores y la aparición de la enfermedad de Alzheimer o Parkinson (Fratiglioni y Wang, 2000). Sin embargo, el uso de la nicotina y otros análogos de la misma muestran dos inconvenientes que hacen que su paso a la clínica sea comprometido: uno, su

efecto desensibilizador de los propios receptores nicotínicos y, otro, los efectos secundarios asociados a la activación de los receptores nicotínicos periféricos; estos síntomas incluyen alteraciones gastrointestinales y cardiovasculares fundamentalmente. Posiblemente un modulador alostérico de los receptores nicotínicos, como la galantamina, sería una buena alternativa al agonista nicotínico puro, ya que conservaría los efectos neuroprotectores de la nicotina, pero estaría desprovisto de los efectos desensibilizantes del receptor nicotínico y los efectos periféricos secundarios. Por ello, el desarrollo de nuevas moléculas con el perfil de modulador alostérico de los receptores nicotínicos podría ser una buena estrategia para el desarrollo de nuevos fármacos neuroprotectores con el objeto de tratar o paliar enfermedades degenerativas que cursan con pérdida neuronal.

En este artículo analizaremos cuales son las alteraciones de los receptores nicotínicos en la enfermedad de Alzheimer, los estudios "in vitro" e "in vivo" de neuroprotección por nicotina y sus análogos, y de un novedoso fármaco, la galantamina, el primer modulador alostérico de los receptores nicotínicos que llega a la clínica.

Disfunción de los receptores nicotínicos y enfermedades neurodegenerativas

La muerte neuronal acompaña a varias enfermedades neurodegenerativas entre las que se incluye la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Huntington y varias neuropatías. Dentro de las enfermedades neurodegenerativas, una de las que ha revestido mayor atención debido a su incidencia, es la Enfermedad de Alzheimer. Aunque en su fisiopatología se han implicado diversos sistemas de neurotransmisión, el sistema colinérgico ha sido el más estudiado. Existen datos que apoyan que el déficit cognitivo que acompaña a los pacientes con demencia está relacionado con la pérdida de receptores nicotínicos en la región cortical (ver tabla I). En este sentido, los fármacos que incrementan la transmisión colinérgica mejoran la memoria, mientras que los antagonistas colinérgicos la empeoran (Bartus y cols., 1982). En la enfermedad de Alzheimer los sujetos sufren pérdidas significativas de la memoria que incrementa con la evolución de la enfermedad. Dicha pérdida de memoria está relacionada con la muerte de neuronas colinérgicas en los núcleos basales (Whitehouse y cols., 1982).

En una revisión reciente, J. Court y colaboradores (2000) muestran que en la corteza cerebral de enfermos de Alzheimer existe una pérdida de receptores nicotínicos de alta afinidad que oscila entre el 20 y el 50 %. Mediante técnicas de inmunocitoquímica se ha observado que el déficit de receptores es

Tabla I

Resumen de las alteraciones de los receptores nicotínicos neuronales en cerebros de pacientes de Alzheimer

| Modificación del receptor | Región | Referencia |
|---|--|--|
| Reducción de los receptores $\alpha 3$ | Corteza temporal | Guan et al., 2000 |
| Sin modificación significativa de los receptores $\alpha 3$ | Corteza temporal | Martin-Ruiz y col., 1999 Terzano y col., 1998 Hellstrom-Lindahl y col., 1999 |
| Reducción de los receptores $\alpha 4$ nAChRs | Corteza temporal Corteza frontal | Martin -Ruiz y col., 1999 Guan y col., 2000 Burghaus y col., 2000 Wevers y col., 1999 |
| Sin modificación significativa de los receptores $\alpha 4$ | Corteza temporal | Hellstrom-Lindahl y col., 1999 |
| Reducción de los receptores $\alpha 7$ nAChRs | Corteza temporal Giro temporal Corteza frontal | Guan y col., 2000 Burghaus y col., 2000 Wevers y col., 1999 |
| Sin modificación significativa de los receptores $\alpha 7$ | Corteza temporal Corteza temporal e hipocampo | Martin-Ruiz y col., 1999 Guan y col., 2000 Hellstrom-Lindahl y col., 1999 |

fundamentalmente del subtipo $\alpha 4$ (30-50%) aunque en algunas regiones puede haber disminución del subtipo $\alpha 3$ (25-29%). No se han observado reducciones ni en la expresión ni en los niveles de la proteína de la subunidad $\beta 2$ y tampoco se han observado modificaciones en los ARN mensajeros que codifican para las subunidades $\alpha 3$ o $\alpha 4$. En cuanto a los receptores $\alpha 7$, la disminución de la fijación de [125 I] α -bungarotoxina y la expresión de la proteína no parecen ser tan amplias como las encontradas para la disminución de los $\alpha 4$ (0-40%). Además, no se ha encontrado reducción del ARN mensajero que codifica para la subunidad $\alpha 7$. El que no exista una disminución del ARN mensajero para las distintas subunidades nicotínicas indicaría que la disminución de receptores encontrada en estos pacientes, con técnicas de inmucitoquímica o fijación de radioligandos, puede atribuirse a una disminución en el número de neuronas (muerte neuronal) colinérgicas más que a una inhibición de la expresión de dichas proteínas.

Todas las alteraciones de los receptores nicotínicos neuronales halladas en los pacientes de Alzheimer difieren de las encontradas debidas al propio envejecimiento, ello podría contribuir a explicar las manifestaciones clínicas y, posiblemente, la neuropatología de la enfermedad de Alzheimer.

Receptores nicotínicos y neuroprotección

Neuroprotección por nicotina en modelos "in vitro"

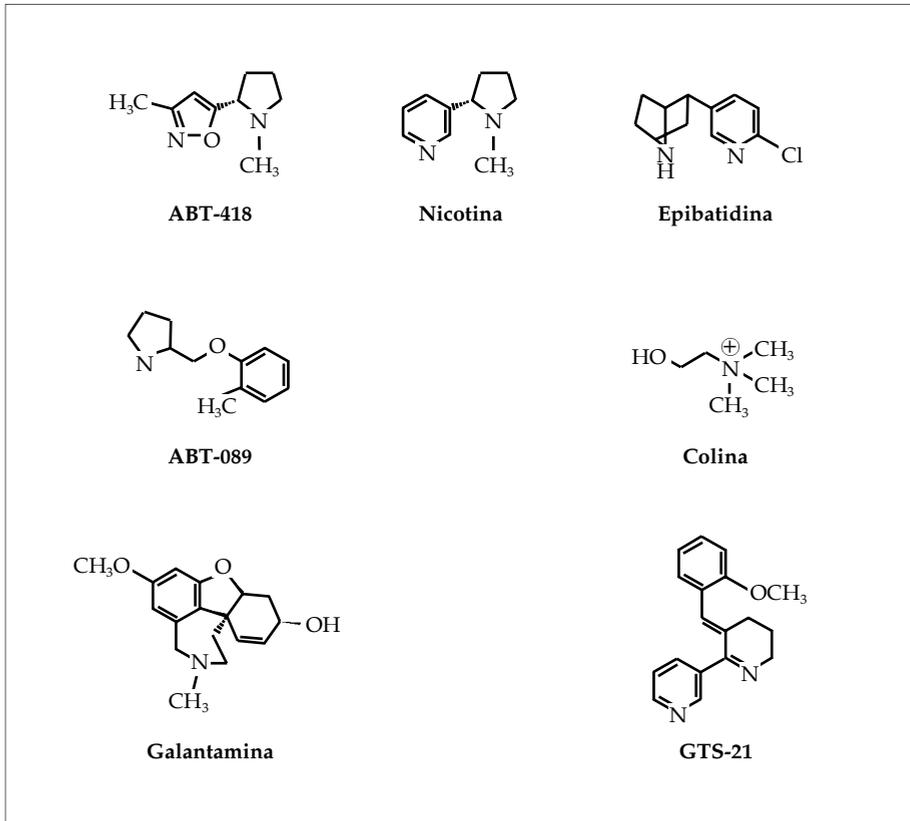
Tal como puede observarse en la Tabla II existen múltiples estudios realizados en cultivos celulares neuronales que demuestran protección por la propia nicotina u otros agonistas nicotínicos en varios modelos "in vitro" que remedan diversas enfermedades neurodegenerativas. En los modelos de toxicidad inducida por glutamato, varios grupos han observado neuroprotección por nicotina en cultivos primarios de neuronas corticales, de cerebelo y de estriado (Akaike y cols., 1994; Marin y cols., 1994; Donnelly-Roberts y cols., 1996; Kaneko y cols., 1997; Minana y cols., 1998). Estos efectos neuroprotectores se revirtieron total o parcialmente en presencia de inhibidores de los receptores nicotínicos como la mecamilamina o el hexametonio. La protección por nicotina es concentración y tiempo dependiente, siendo dos horas de preincubación con nicotina el tiempo mínimo para observar dicho efecto (Akaike y cols., 1994; Donnelly-Roberts y cols., 1996). Además, el efecto neuroprotector inducido por nicotina es calcio dependiente, ya que, en ausencia de calcio extracelular se pierde la protección (Donnelly-Roberts y cols., 1996).

Distintas industrias farmacéuticas, en el afán de buscar compuestos con propiedades neuroprotectoras, han desarrollado diversos análogos de la nicotina como fármacos potencialmente neuroprotectores (ver Figura 1). Así, el agonista nicotínico ABT-418 ha mostrado una potencia similar a la nicotina ($CE_{50} = 8 \text{ mM}$) para proteger a las neuronas corticales de rata frente a la lesión inducida por glutamato (Donnelly Roberts y cols., 1996; Akaike y cols., 1994). Sin embargo, estos resultados difieren de los obtenidos por Marin y cols (1994), que observaron que el ABT-418 poseía una potencia 26 veces menor que la nicotina. Otro agonista nicotínico, el ABT-089 posee propiedades neuroprotectoras agudas similares al ABT-418 en neuronas corticales lesionados por glutamato pero su potencia es mayor cuando se administra de forma subaguda (0.01-10 mM).

Existen varios trabajos que demuestran que la neuroprotección mediada por nicotina está íntimamente relacionado con los receptores nicotínicos del subtipo $\alpha 7$ ya que su efecto neuroprotector desaparece en presencia de antagonistas $\alpha 7$ como la α -bungarotoxina (Li y cols., 1999, Shimohama y cols., 1998; Dajas-Bailador y cols., 2000). El GTS-21, un análogo de la anabasina, es un agonista parcial de los receptores nicotínicos del subtipo $\alpha 7$ versus $\alpha 4\beta 2$ o $\alpha 3\beta 4$ (Briggs y cols., 1997); este compuesto ha mostrado neuroprotección en células PC12 privadas de NGF (Martin y cols., 1994; Li y cols., 1999) y

Tabla II
Estudios de neuroprotección por agonistas nicotínicos en modelos "in vitro"

| MODELO | AGONISTA | ESTIMULO TOXICO | REFERENCIA |
|--|--|-------------------------------------|---|
| Cultivos primarios de Hipocampo | Nicotina | NMDA | Dajas-Ballador y col., 2000. |
| Cultivos Organotípicos de Hipocampo | Nicotina | NMDA | Prendergast y col., 2001 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | Nicotina | NMDA | Carlson y col., 1998; Akaike y col., 1994 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | Nicotina | NMDA | Akaike y col., 1994 |
| Cultivos de Neuronas Estriatales | Nicotina | NMDA | Marin y col., 1994 |
| Cultivos primarios de neuronas cerebelares | Nicotina | NMDA Glutamato | Minana y col., 1998 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | ABT-418 | Glutamato | Donnelly-Roberts y col., 1996 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | Nicotina | Glutamato | Shimohama S, y col., 1996 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | Nicotina | Glutamato SNOC | Kaneko S, y col., 1997 |
| Cultivos primarios de Neuronas Corticales | Nicotina | β -amiloide | Kaneko y col., 1997; Kihara y col., 2001; Shimohama y col., 2001 |
| Cultivos de Células PC12 | GTS-21 | Etanol | Li . y col., 1999a |
| Cultivos primarios de Hipocampo | GTS-21 | Etanol | Li y col., 2002 |
| Cultivos de Células PC12 | GTS-21 | GTS-21 (altas concentraciones) | Li . y col., 1999b |
| Cultivo de Neuronas de Cordón Espinal | Nicotina | Ácido Araquidónico | Garrido y col., 2000; Garrido y col., 2001 |
| Cultivo de Células PC12 | Nicotina Epibatidina Metilcarbamilcolina | Deprivación de suero y NGF | Ramamohana y col., 1998 |
| Cultivos de Motoneuronas de Cordón Espinal | Nicotina | Deprivación de factores tróficos | Messi y col., 1997 |

**Figura 1**

Estructura química de algunos moduladores de los receptores nicotínicos que han mostrado neuroprotección.

frente a la lesión inducida por etanol en células PC12 y neuronas de hipocampo (Li y cols., 1999; Li y cols, 2002). Jonnala y Buccafusco (2001) compararon la acción neuroprotectora de diversos agonistas nicotínicos en células PC12 lesionadas mediante la privación de factores tróficos con el objeto de correlacionar el efecto neuroprotector con la inducción de la sobreexpresión de receptores $\alpha 7$. Observaron que el efecto neuroprotector no fue el mismo para todos los agonistas nicotínicos (nicotina > GTS-21 > metilcabamilcolina > dimetilpiperazinio > citisina) y, este efecto neuroprotector se relacionó con la inducción de la sobreexpresión de receptores $\alpha 7$. La nicotina que fue la más neuroprotectora duplicó el número de sitios de fijación para $[I^{25}]\text{-}\alpha\text{-bungarotoxina}$ mientras que la citisina, que careció de efecto neuroprotector, no modificó el número de receptores $\alpha 7$.

Por otra parte, el ABT-089 un agonista nicotínico parcial con mayor afinidad por los receptores $\alpha 4\beta 2$ ($K_i=16$ nM) que por los $\alpha 7$ ($K_i>10,000$ nM), también ha mostrado protección en neuronas corticales y en la línea neuronal IMR32 lesionadas por glutamato (Sullivan y cols., 1997).

Neuroprotección por nicotina en modelos "in vivo"

Los efectos neuroprotectores secundarios a la activación del receptor nicotínico también han sido observados en diferentes modelos "in vivo" de lesión cerebral (ver Tabla III). Así, el GTS-21 y la nicotina redujeron la muerte neuronal en el área CA1 del hipocampo después de sufrir un proceso de isquemia cerebral (Nanri M, 1997, 1998). El GTS-21 también ha mostrado ser

Tabla III

Estudios de neuroprotección por agonistas nicotínicos en modelos "in vivo"

| ANIMAL | AGONISTA Y VIA DE ADMINISTRACIÓN | MODELO DE LESIÓN | REFERENCIA |
|-------------------------|------------------------------------|---|---|
| Rata y Ratón | Nicotina Subcutánea | Dietilditiocarbamato intraperitoneal Metanfematina intraperitoneal | Maggio y col. 1998 |
| Rata | Nicotina Subcutánea 1 - 14 días | Metanfematina intraperitoneal | Ryan y col., 2001 |
| Rata | Nicotina Subcutánea | Hemitransección parcial a nivel de la unión mesoencefálica | Janson y col., 1988 |
| Rata | Nicotina Subcutánea 2 semanas | Hemitransección unilateral a nivel del mesodiencefalo | Owman y col., 1989 |
| Rata | Nicotina Subcutánea | Lesión del nucleus basalis mediante inyección de ácido iboténico | Sjak-Shie y Meyer, 1993 Socci y col., 1993 |
| Rata | Nicotina Subcutánea 4 semanas | Hemitransección unilateral a nivel de la unión mesoencefálica | Fuxe y col., 1994 |
| Rata | Nicotina Subcutánea | Asfisia perinatal (15-22 min) | Chen y col, 1997 |
| Rata | Nicotina Subcutánea | Isquemia Cerebral | Shimohama y col., 1998 |
| Ratón de 5 días de edad | Nicotina Subcutánea | Inyección intracraneal de ibotenato | Laudenbach y col., 2002 |

neuroprotector en neuronas colinérgicas septales lesionadas tras realizar una transección fimbrial (Martín y cols., 1994). En un modelo de lesión neuronal que consiste en la infusión intraseptal de metanfetamina, tanto la nicotina como el ABT-418 mejoraron el déficit de memoria con respecto a los animales no tratados (Levin ED y cols., 1993; Decker MW., 1992; Decker MW., 1994); estos tratamientos también previnieron la degeneración de las neuronas dopaminérgicas (Maggio R., 1998).

El tratamiento crónico con el agonista selectivo para receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$:SIB-1508Y, mejoró algunas capacidades cognitivas en simios tratados crónicamente con MPTP; este resultado se relaciona con el obtenido en ratones "knockout" para la subunidad $\beta 2$ (-/-) que desarrollan atrofia cortical y pérdida de neuronas piramidales en el hipocampo, y sugiere la participación de dicha subunidad en el proceso de neuroprotección (Zoli M., 1999).

En modelos animales de Alzheimer en los que se lesionan los núcleos basales, por ejemplo mediante la inyección directa en dichos núcleos de ácido iboténico, se ha observado que el tratamiento crónico con nicotina (3 meses mediante una minibomba Alzet) o GTS-21 (20 semanas p.o/24h) reduce la pérdida neuronal en las capas II y III de la corteza parietal (Sjak-Shie y Meyer, 1993; Nanri y cols., 1997).

Receptores nicotínicos y beta amiloide

El péptido beta-amiloide $A\beta_{1-42}$ está implicado en la formación de las placas seniles en los cerebros de los pacientes con la enfermedad de Alzheimer. Por ello, numerosos grupos se han interesado en estudiar si la neuroprotección por nicotina frente a otros estímulos neurotóxicos también se daría frente a las lesiones ocasionadas por este péptido. En este sentido, ya existen varios trabajos publicados donde se observa que el tratamiento con nicotina protege las neuronas corticales de rata lesionadas por el beta amiloide (Kihara y cols., 1998; Kihara y cols., 2001; Shimohama y cols., 2001).

Recientemente, se han encontrado receptores $\alpha 7$ en las placas seniles de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, estos receptores co-inmunoprecipitan con el fragmento amiloidogénico $A\beta_{1-42}$, sugiriendo una estrecha interrelación entre los dos (Wang y cols., 2000). Por otra parte, empleando técnicas de fijación de radioligandos se ha mostrado que el $A\beta_{1-42}$ se une de forma selectiva y competitiva a los receptores $\alpha 7$ con alta afinidad (en el rango pM) (Wang y cols., 2000). En estudios electrofisiológicos donde registraron corrientes nicotínicas en neuronas aisladas o en rodajas de hipocampo, mediante la técnica de patch-clamp, el $A\beta_{1-42}$ bloqueó de forma

reversible los receptores nicotínicos $\alpha 7$ (Pettit y cols., 2001). Estudios posteriores, midiendo corrientes nicotínicas en ovocitos que expresan receptores $\alpha 7$, el $A\beta_{1-42}$ activó los receptores $\alpha 7$ entre 1-100 pM, mientras que en el rango nM se perdía dicha activación (Dineley y cols., 2002).

En conclusión, parece ser que el $A\beta_{1-42}$ en el rango nM puede estar inhibiendo los receptores $\alpha 7$. Aunque la concentración de $A\beta_{1-42}$ en el espacio extracelular cerebral se desconoce y dado que la mayor parte del $A\beta_{1-42}$ se encuentra concentrado en las placas seniles en su forma insoluble, los estudios en modelos animales transgénicos que sobreexpresan la forma humana de PPA (proteína precursora de amiloide) muestran que este péptido se encuentra en el tejido cerebral en el rango nanomolar. La hiperproducción de beta amiloide durante las fases tempranas de la enfermedad de Alzheimer podría bloquear los receptores $\alpha 7$ y, como consecuencia, no se activarían los mecanismos de neuroprotección relacionados con este subtipo de receptor; ello podría hacer que las células entraran en apoptosis con la consecuente pérdida neuronal y neurodegeneración.

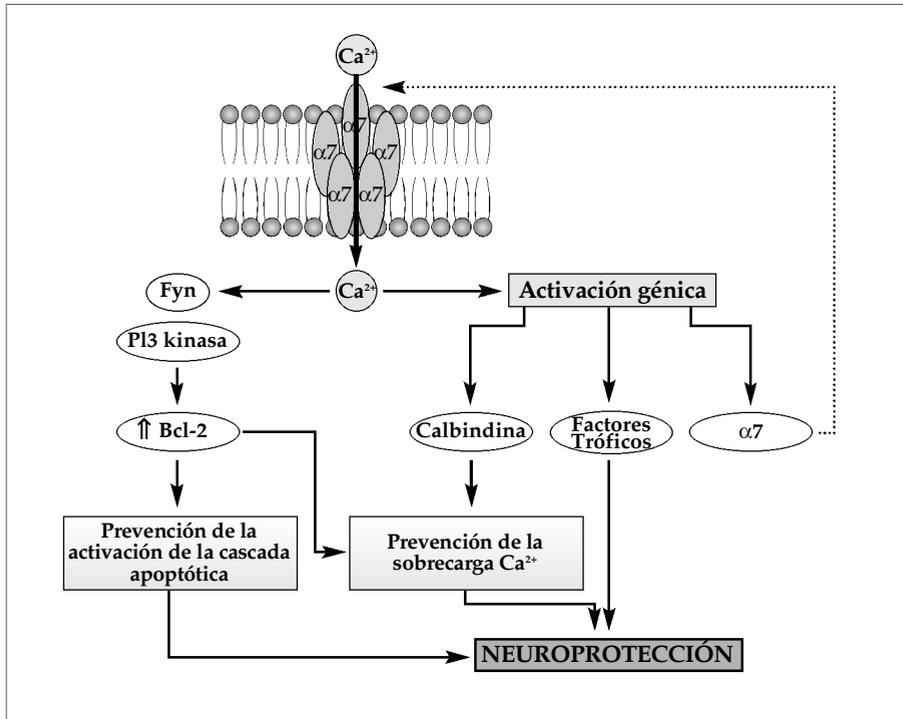


Figura 2
Propuesta de eventos que participan en la neuroprotección por nicotina.

Mecanismos implicados en la neuroprotección mediada por activación de receptores nicotínicos

Los receptores $\alpha 7$ tienen la particularidad de ser los que poseen una mayor permeabilidad al calcio (Changeux y cols., 1982) y ser rápidamente inactivantes (Olale y cols., 1997). Se ha propuesto que la activación de estos receptores daría lugar a un incremento transitorio de los niveles de calcio citosólico que podría activar una serie de procesos entre los que se encontrarían la activación de protein-quinasas, iniciación de genes tempranos y síntesis de nuevas proteínas, que en última instancia llevarían a cambios de plasticidad sináptica y remodelado neuronal. En este sentido, hay datos que sugieren que la señal ocasionada por la activación de receptores nicotínicos $\alpha 7$ puede regular la expresión de factores tróficos (Belluardo y cols., 2000), de proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2 (Kihara y cols., 2001) e incluso de proteínas fijadoras de calcio como la calbindina D28K, (Prendergast y cols., 2001) así como de receptores nicotínicos "neuroprotectores" del subtipo $\alpha 7$ (Jonhalla y Buccafusco, 2001); todos estos efectos podrían explicar el efecto neuroprotector/trófico secundario a la activación de los receptores nicotínicos.

En la figura 3 se representa el posible mecanismo neuroprotector de la nicotina en base a los resultados disponibles en la bibliografía. La entrada de

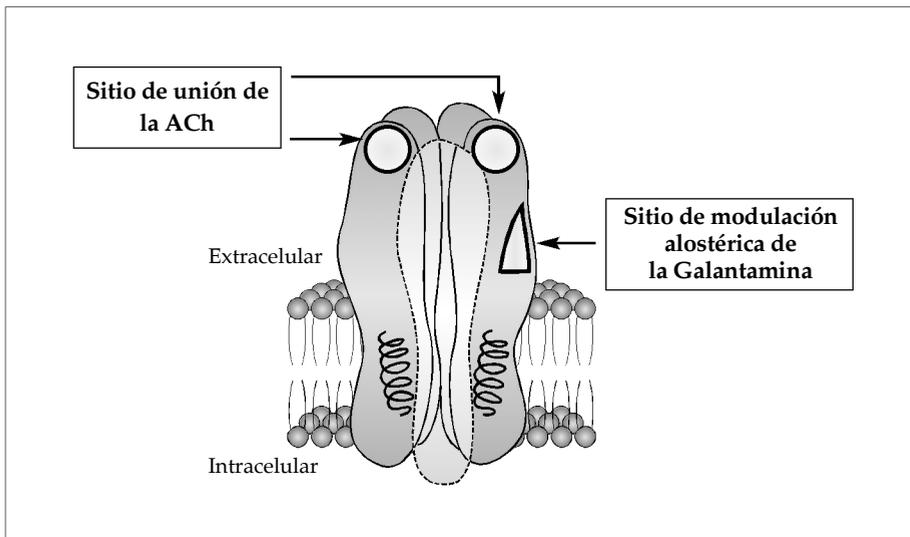


Figura 3

Estructura molecular del receptor nicotínico con los sitios de unión para la acetilcolina y para los moduladores alostéricos como la galantamina.

calcio por receptores nicotínicos del subtipo $\alpha 7$ activaría la cascada de la kinasa PI3K que secundariamente induciría la sobreexpresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 (Kihara y cols., 2001), ésta prevendría la activación de la cascada apoptótica inhibiendo la salida del citocromo C de la mitocondria. La entrada de calcio por los $\alpha 7$ también activaría los genes responsables de la síntesis de factores tróficos como BDNF, NGF y FGF-2 (Belluardo y cols., 2000). Además, se induciría la sobreexpresión de la proteína fijadora de calcio calbindina D28K que, junto con la sobreexpresión de Bcl-2 amortiguarían la sobrecarga calcio intracelular letal para la célula. A su vez, la señal de calcio mediada por la entrada a través de los $\alpha 7$ regularía al alza la expresión de receptores $\alpha 7$ que ayudaría, no sólo a potenciar el efecto neuroprotector en tejidos neuronales donde ya existe pérdida neuronal y de receptores nicotínicos, sino también a mejorar la neurotransmisión colinérgica mediada por dichos receptores.

Galantamina y neuroprotección

La galantamina es un alcaloide terciario derivado de los bulbos de la campanilla de invierno (*Galanthus nivalis*) y de varias especies de narcisos pertenecientes a la familia de las amarilidáceas obtenido actualmente por síntesis. El derivado comercializado bajo el nombre de Reminyl® (Janssen) es una sal, el bromhidrato de galantamina.

En la búsqueda de nuevos tratamientos que incrementen y mantengan la mejoría clínica de los pacientes con enfermedad de Alzheimer se le está dando especial protagonismo a los que combinan más de un mecanismo de acción. La galantamina es una de estas moléculas que actúa en el sistema colinérgico a diferentes niveles:

Inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE). La galantamina aumenta la disponibilidad sináptica de acetilcolina (ACh) al inhibir de forma competitiva y reversible la AChE (Bores y cols., 1996; Thomsen y cols., 1991). Su selectividad por la AChE es cincuenta veces superior que por la butirilcolinesterasa (Thomsen y cols., 1991), aunque se desconoce la importancia clínica exacta de esta selectividad, se cree que podría mejorar su tolerabilidad (Pacheco y cols., 1995).

Modulación alostérica del receptor nicotínico (APL). La galantamina, a diferencia de los otros inhibidores de la acetilcolinesterasa disponibles en la clínica, posee este segundo mecanismo de acción, es decir, puede potenciar la respuesta de la ACh (Maelicke y cols., 2001; Samochocki y cols., 2000); este

efecto es independiente de la inhibición de la acetilcolinesterasa (Maelicke y cols., 2001). La galantamina se une al nAChR en un sitio de unión distinto al de la ACh, denominado sitio alostérico (Maelicke y cols., 1997; Pereira y cols., 1993) (Figura 3). Cuando la galantamina y la ACh se unen simultáneamente a sus sitios de unión, el receptor nicotínico presináptico se hace más sensible a la ACh y se amplifica su respuesta (Maelicke y cols., 1997). La estimulación presináptica del nAChR produce una retroalimentación positiva incrementando la liberación de ACh en la terminal sináptica. Este mecanismo, que incrementa la neurotransmisión nicotínica, se denomina regulación alostérica positiva de los receptores nicotínicos (Maelicke y cols., 2000).

Dado que la galantamina no posee una elevada capacidad intrínseca por el receptor nicotínico, mediante la modulación alostérica, puede facilitar la neurotransmisión colinérgica evitando una estimulación excesiva de los receptores nicotínicos (Maelicke y cols., 1997). Por tanto, los moduladores alostéricos como la galantamina, evitarían el problema de la desensibilización de los receptores nicotínicos inducida por los agonistas nicotínicos y, en consecuencia, el desarrollo de tolerancia y disminución de la de la eficacia clínica (Samochocki y cols., 2000). Además, dado que la regulación alostérica no implica la activación directa del nAChR puesto que sólo potencia las respuestas submáximas inducidas por ACh, seguramente este mecanismo, por sí mismo, no produciría tantos efectos secundarios periféricos (Maelicke y cols., 2000).

Los resultados de estudios recientes señalan que, además de aumentar la liberación de ACh, la estimulación de los receptores nicotínicos presinápticos incrementa la liberación de otros neurotransmisores, como el glutamato, determinadas monoaminas y el ácido gamma amino butírico (GABA) (Newhouse y cols., 1997; Ashworth-Preece y cols., 1998; Levin y cols., 1998). Recientemente, Santos y colaboradores (2002) han mostrado que la galantamina a 1 mM incrementa la liberación de GABA inducida por 10 mM de ACh. Por otra parte, la acción de la galantamina sobre los receptores presinápticos, que están tónicamente activos, potencia la liberación glutamatérgica o GABA-érgica en la colaterales de Schaffer y en las neuronas de la zona CA1 en rodajas de hipocampo.

Neuroprotección por galantamina en modelos "in vitro".

Nuestro grupo de investigación ha observado que la galantamina previene la apoptosis inducida por taspigargina (un inhibidor irreversible de la bomba ATPasa calcio-dependiente del retículo endoplásmico) tanto en células cromafines bovinas como en una línea de neuroblastoma humano, a concentraciones

submicromolares (Arias y cols., 2002). El efecto neuroprotector parece estar asociado a receptores $\alpha 7$ dado que el tratamiento de las células con α -bungarotoxina revirtió los efectos citoprotectores de la galantamina. El tratamiento crónico de las células con concentraciones neuroprotectoras de galantamina (300 nM) indujo la sobreexpresión de receptores $\alpha 7$ y de la proteína antiapoptótica Bcl-2. Estos resultados remedan a los encontrados en los estudios de neuroprotección por nicotina indicando un mecanismo de acción semejante.

Neuroprotección por galantamina en modelos "in vivo".

Existen estudios "in vivo" que apoyan el efecto neuroprotector de galantamina, uno de ellos está realizado en un modelo animal que presenta un deterioro neuronal similar al que presentan los cerebros de los enfermos de Alzheimer, se trata de los ratones que han sufrido una ablación del gen que codifica para el factor de crecimiento nervioso (NGF). En estos ratones transgénicos Capsoni y colaboradores (2002) han observado que el tratamiento con NGF ó galantamina prevenía o mejoraba el progreso neurodegenerativo secundario al déficit de NGF.

También existe otro estudio realizado en ratas sometidas a isquemia cerebral global con reperfusión (Iliev y cols., 2000), donde se ha descrito que el tratamiento post-isquémico con galantamina permitió la recuperación de la capacidad de aprendizaje respecto a los animales no tratados. Los resultados de estos dos estudios podrían estar relacionados con los efectos neuroprotectores observados previamente para la galantamina (Arias y cols., 2002).

En conjunto, tanto los resultados de neuroprotección "in vitro" como "in vivo" podrían explicar el beneficio clínico a largo plazo (3 años) observado en pacientes de Alzheimer tratados con galantamina (Olin y cols., 2002), que resultaría difícil de explicar a través de la simple inhibición de la acetilcolinesterasa o la disponibilidad de neurotransmisores mediante su efecto potenciador alostérico de la acetilcolina.

Ensayos clínicos

La eficacia y seguridad de la galantamina se ha evaluado en diferentes ensayos clínicos aleatorizados y controlados con placebo. Entre los rangos de dosis terapéuticas evaluados, desde 8 a 36 mg/día, se han seleccionado las dosis de 16, 24 y 32 mg/día para su comercialización. Suecia fue el primer país en el que se aprobó la galantamina para este tratamiento en marzo de 2000.

Recientemente se ha publicado una revisión sistemática de los ensayos clínicos realizados con galantamina (Olin y cols., 2002). Se han analizado siete ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo, en pacientes con afectación leve (MMSE 10-12) o moderada (MMSE 22-24). La duración de los ensayos fue de 12 semanas (2 estudios), 13 semanas (1 estudio), 5 meses (1 estudio), 29 semanas (1 estudio) y 6 meses (2 estudios). El número total de pacientes fue de 3,587. De forma global, la galantamina mostró eficacia clínica a las dosis diarias de 16-32 mg/d en los ensayos de 3-6 meses de duración.

En el estudio GAL-USA-1 (Raskind y cols., 2001) se observó que tras un año de tratamiento con 24 mg/día se mantuvo la función cognitiva a nivel basal, mientras que en el grupo placebo descendía. Por tanto, el tratamiento con galantamina retrasó un año el deterioro cognitivo de los pacientes y frenó claramente la progresión de la enfermedad.

Además de los estudios en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve-moderada, Blesa y colaboradores (2000) han observado que la galantamina mejora la cognición en un grupo de pacientes con EA moderada-avanzada.

De forma global, los estudios realizados hasta ahora con galantamina, muestran datos positivos en cuatro áreas fundamentales: función cognitiva, actividades cotidianas, síntomas psicológicos y de conducta, y estrés de los cuidadores. La mejoría de la función cognitiva con la galantamina parece ser independiente de la gravedad inicial de la enfermedad, la edad o sexo del paciente o del genotipo de la apolipoproteína E4 (Aeressens y cols., 2001).

La eficacia clínica de la galantamina podría interpretarse no sólo por su efecto inhibitor de la AChE, que mejora los niveles del neurotransmisor en la hendidura sináptica, sino también a la capacidad de galantamina de incrementar el número de receptores nicotínicos y retrasar la muerte neuronal por sus efectos antiapoptóticos. La simple inhibición de la acetilcolinesterasa no parece ser suficiente para explicar la mejora clínica de los pacientes de Alzheimer tratados con galantamina debido, entre otras razones, a que una mayor potencia para inhibir la acetilcolinesterasa no implica necesariamente una mayor eficacia clínica. Por tanto, la neuroprotección ofrecida por la modulación de los receptores nicotínicos ya sea por la propia nicotina, análogos de la nicotina o, un modulador alostérico como la galantamina, pueden abrir nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento sintomático de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas.

Bibliografía

- Aerssens J, Raeymaekers P, Liliensfeld S, Geerts H, Konings F, Parys W. (2001). APOE genotype: no influence on galantamine treatment efficacy nor on rate of decline in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 12, 69-77.
- Akaike A, Tamura Y, Yokota T, Shimohama S, Kimura J. (1994). Nicotine-induced protection of cultured cortical neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate cytotoxicity. *Brain Res.* 644, 181-7.
- Ashworth-Preece MA, Jarrott B, Lawrence AJ. (1998). Nicotinic acetylcholine receptor mediated modulation of evoked excitatory amino acid release in the nucleus tractus solitarius of the rat: evidence from in vivo microdialysis. *Brain Res.* 806, 287-91.
- Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, Lippa AS. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science.* 217, 408-14. Review.
- Belluardo N, Mudo G, Blum M, Amato G, Fuxe K. (2000). Neurotrophic effects of central nicotinic receptor activation. *J Neural Transm Suppl.* 60, 227-45. Review.
- Blesa R. (2000). Galantamine: therapeutic effects beyond cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 11 Suppl 1, 28-34. Review.
- Bores GM, Huger FP, Petko W, Mutlib AE, Camacho F, Rush DK, Selk DE, Wolf V, Kosley RW Jr, Davis L, Vargas HM. (1996). Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *J Pharmacol Exp Ther.* 277, 728-38.
- Briggs CA, Anderson DJ, Brioni JD, Buccafusco JJ, Buckley MJ, Campbell JE, Decker MW, Donnelly-Roberts D, Elliott RL, Gopalakrishnan M, Holladay MW, Hui YH, Jackson WJ, Kim DJ, Marsh KC, O'Neill A, Prendergast MA, Ryther KB, Sullivan JP, Arneric SP. (1997). Functional characterization of the novel neuronal nicotinic acetylcholine receptor ligand GTS-21 in vitro and in vivo. *Pharmacol Biochem Behav.* 57, 231-41.
- Burghaus L, Schutz U, Krempel U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Wevers A, Lindstrom J, Schroder H. et al (2000) Quantitative assessment of nicotinic acetylcholine receptor proteins in the cerebral cortex of Alzheimer patients. *Brain Res Mol Brain* 76:385-8
- Capsoni S, Giannotta S, Cattaneo A. (2002). Nerve growth factor and galantamine ameliorate early signs of neurodegeneration in anti-nerve growth factor mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 12432-12437.
- Carlson NG, Bacchi A, Rogers SW, Gahring LC. (1998). Nicotine blocks TNF-alpha-mediated neuroprotection to NMDA by an alpha-bungarotoxin-sensitive pathway. *J Neurobiol.* 35, 29-36.
- Court JA, Martin-Ruiz C, Graham A, Perry E. (2000). Nicotinic receptors in human brain: topography and pathology. *J Chem Neuroanat.* 20, 281-98. Review.
- Changeux JP, Dennis SG. (1982). Signal transduction across cellular membranes. *Neurosci Res Program Bull.* 20, 267-426.
- Chen Y, Herrera-Marschitz M, Bjelke B, Blum M, Gross J, Andersson K. (1997) Perinatal asphyxia-induced changes in rat brain tyrosine hydroxylase-immunoreactive cell body number: effects of nicotine treatment. *Neurosci Lett* 221, 77-80
- Dajas-Bailador FA, Lima PA, Wonnacott S. (2000). The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subtype mediates nicotine protection against NMDA excitotoxicity in primary hippocampal cultures through a Ca(2+) dependent mechanism. *Neuropharmacology.* 39, 2799-807.
- Decker MW, Curzon P, Brioni JD, Bannon AW, Arneric SP. (1994). Effects of ABT-418, a novel cholinergic channel ligand, on place learning in septal-lesioned rats. *Eur J Pharmacol.* 261, 217-22.

- Decker MW, MAjchrzak MJ, Anderson DJ. (1992). Effects of nicotine in spatial memory deficits in rats septal lesions. *Brain Res.* 572, 281-5.
- Dineley KT, Bell KA, Bui D, Sweatt JD. (2002). beta -Amyloid peptide activates alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem.* 277, 25056-61.
- Donnelly-Roberts DL, Xue IC, Arneric SP, Sullivan JP. (1996). In vitro neuroprotective properties of the novel cholinergic channel activator (ChCA), ABT-418. *Brain Res.* 719, 36-44.
- Evans DA, Funkenstein HH, Albert MS, Scherr PA, Cook NR, Chown NR, Herbert LE, Hennekens CH, Taylor JO. (1989). Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. Higher than previously reported. *JAMA.* 262, 2551-6.
- Fratiglioni L, Wang HX (2000) Smoking and Parkinson's and Alzheimer's disease: review on the epidemiological studies. *Behav. Brain Res.* 113, 117-120.
- Fuxe K, Rosen L, Lippoldt A, Andbjør B, Hasselrot U, Finnman UB, Agnati LF. (1994) Chronic continuous infusion of nicotine increases the disappearance of choline acetyltransferase immunoreactivity in the cholinergic cell bodies of the medial septal nucleus following a partial unilateral transection of the fimbria fornix. *Clin Invest* 72, 262-8
- Garrido R, Malecki A, Hennig B, Toborek M. (2000). Nicotine attenuates arachidonic acid-induced neurotoxicity in cultured spinal cord neurons. *Brain Res.* 861,59-68.
- Garrido R, Mattson MP, Hennig B, Toborek M. (2001). Nicotine protects against arachidonic acid-induced caspase activation, cytochrome c release and apoptosis of cultured spinal cord neurons. *J Neurochem.* 76,1395-403.
- Guan ZZ, Zhang X, Ravid R, Nordberg A. (2000) Decreased protein levels of nicotinic receptor subunits in the hippocampus and temporal cortex of patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 74:237-43
- Hellstrom-Lindahl E, Court JA. (2000) Nicotinic acetylcholine receptors during prenatal development and brain pathology in human aging. *Behav Brain Res* 113:159-68
- Iliev AI, Traykov VB, Mantchev GT, Stoykov I, Prodanov D, Yakimova KS, Krushkov IM. (2000). A post-ischaemic single administration of galanthamine, a cholinesterase inhibitor, improves learning ability in rats. *J Pharm Pharmacol.* 52, 1151-6.
- Janson AM, Fuxe K, Agnati LF, Kitayama I, Harfstrand A, Andersson K, Goldstein M. (1988) Chronic nicotine treatment counteracts the disappearance of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive nerve cell bodies, dendrites and terminals in the mesostriatal dopamine system of the male rat after partial hemitranssection. *Brain Res* 455,332-45
- Jonnala RR, Buccafusco JJ. (2001). Relationship between the increased cell surface alpha7 nicotinic receptor expression and neuroprotection induced by several nicotinic receptor agonists. *J Neurosci Res.* 66, 565-72.
- Kaneko S, Maeda T, Kume T, Kochiyama H, Akaike A, Shimohama S, Kimura J. (1997). Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via alpha7-neuronal receptors and neuronal CNS receptors. *Brain Res.* 765, 135-40.
- Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Honda K, Nakamizo T, Shibasaki H, Kume T, Akaike A. (2001). Alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block a beta-amyloid-induced neurotoxicity. *J Biol Chem.* 276, 13541-6.
- Kihara T, Shimohama S, Urushitani M, Sawada H, Kimura J, Kume T, Maeda T, Akaike A. (1998). Stimulation of alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors inhibits beta-amyloid toxicity. *Brain Res.* 792, 331-4.
- Laudenbach V, Medja F, Zoli M, Rossi FM, Evrard P, Changeux JP, Gressens P. (2002). Selective activation of central subtypes of the nicotinic acetylcholine receptor has opposite effects on neonatal excitotoxic brain injuries. *FASEB J.* 16, 423-5.

- Levin ED, Christopher NC, Briggs SJ, Rose JE. (1993). Chronic nicotinic reverses working memory deficits caused by lesions of the fimbria or medial basolocortical projection. *Brain Res Cogn.* 1:137-43.
- Levin ED, Simon BB. (1998). Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology.* 138, 217-30. Review.
- Li Y, Meyer EM, Walker DW, Millard WJ, He YJ, King MA. (2002). Alpha7 nicotinic receptor activation inhibits ethanol-induced mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and neurotoxicity in primary rat hippocampal neuronal cultures. *J Neurochem.* 81, 853-8.
- Li Y, King MA, Grimes J, Smith N, de Fiebre CM, Meyer EM. (1999a). Alpha7 nicotinic receptor mediated protection against ethanol-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Brain Res.* 816, 225-8.
- Li Y, Papke RL, He YJ, Millard WJ, Meyer EM. (1999b). Characterization of the neuroprotective and toxic effects of alpha7 nicotinic receptor activation in PC12 cells. *Brain Res.* 830, 218-25.
- Maelicke A, Samochocki M, Jostock R, Fehrenbacher A, Ludwig J, Albuquerque EX, Zerlin M. (2001). Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galantamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 49, 279-88. Review.
- Maelicke A, Albuquerque EX. (2000). Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol.* 393, 165-70.
- Maelicke A, Coban T, Storch A, Schrattenholz A, Pereira EF, Albuquerque EX. (1997). Allosteric modulation of Torpedo nicotinic acetylcholine receptor ion channel activity by noncompetitive agonists. *J Recept Signal Transduct Res.* 17, 11-28.
- Maggio R, Riva M, Vaglini F, Fornai F, Molteni R, Armogida M, Racagni G, Corsini GU. (1998). Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors. *J Neurochem.* 71, 2439-46.
- Marin P, Maus M, Desagher S, Glowinski J, Premont J. (1994). Nicotine protects cultured striatal neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity. *Neuroreport.* 5, 1977-80.
- Martin EJ, Panickar KS, King MA, Deyrup M, Hunter BE, Wang G, Meyer EM. (1994). Cytoprotective action of 2,4-dimethoxybenzylidene anabaseine in differentiated PC12 cells and septal cholinergic neurons. *Drug Dev Res.* 31, 135-41.
- Martin-Ruiz CM, Court JA, Molnar E, Lee M, Gotti C, Mamalaki A, Tsouloufis T, Tzartos S, Ballard C, Perry RH, Perry EK. (1999) Alpha4 but not alpha3 and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunits are lost from the temporal cortex in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 73:1635-40
- Messi ML, Renganathan M, Grigorenko E, Delbono O. (1997). Activation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor promotes survival of spinal cord motoneurons. *FEBS Lett.* 411, 32-8.
- Minana MD, Montoliu C, Llansola M, Grisolia S, Felipe V. (1998). Nicotine prevents glutamate-induced proteolysis of the microtubule-associated protein MAP-2 and glutamate neurotoxicity in primary cultures of cerebellar neurons. *Neuropharmacology.* 37, 847-57.
- Nanri M, Kasahara N, Yamamoto J, Miyake H, Watanabe H. (1997). GTS-21, a nicotinic agonist, protects against neocortical neuronal cell loss induced by the nucleus basalis magnocellularis lesion in rats. *Jpn J Pharmacol.* 74, 285-9.
- Nanri M, Yamamoto J, Miyake H, Watanabe H. (1998). Protective effect of GTS-21, a novel nicotinic receptor agonist on delayed neuronal death induced by ischemia in gerbils. *Jpn J Pharmacol.* 76, 23-9.
- Navarro HA, Seidler FJ, Eylers JP, Baker FE, Dobbin SS, LAppi SE, Slotkin TA. (1989). Effects of prenatal nicotine exposure on development on central and peripheral cholinergic neurotransmitter systems. Evidence for cholinergic trophic influences in developing brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 251, 894-900.

- Newhouse P, Suderland T, Tariot P, Blumhardt CL, Weingartner H, Mellow A. (1988). Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study. *Psychopharmacology*. 95: 171-175.
- Newhouse PA, Potter A, Levin ED. (1997). Nicotinic system involvement in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Implications for therapeutics. *Drugs Aging*. 11, 206-28. Review.
- Olale F, Gerzanich V, Kuryatov A, Wang F, Lindstrom J. (1997). Chronic nicotine exposure differentially affects the function of human alpha3, alpha4, and alpha7 neuronal nicotinic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*. 283, 675-83.
- Olin J, Schneider L. (2002). Galantamine for Alzheimer's disease (Cochrane Review). *Cochrane Database Syst Rev*. CD001747.
- Owman C, Fuxe K, Janson AM, Kahrstrom J. (1989) Chronic nicotine treatment eliminates asymmetry in striatal glucose utilization following unilateral transection of the mesostriatal dopamine pathway in rats. *Neurosci Lett* 102, 279-83
- Pacheco G, Palacios-Esquivel R, Moss DE. (1995). Cholinesterase inhibitors proposed for treating dementia in Alzheimer's disease: selectivity toward human brain acetylcholinesterase compared with butyrylcholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther*. 274, 767-70.
- Pereira EF, Reinhardt-Maelicke S, Schratzenholz A, Maelicke A, Albuquerque EX. (1993). Identification and functional characterization of a new agonist site on nicotinic acetylcholine receptors of cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 265, 1474-91.
- Petit A, Barelli H, Morain P, Checler F. (2000). Novel proline endopeptidase inhibitors do not modify Abeta40/42 formation and degradation by human cells expressing wild-type and swedish mutated beta-amyloid precursor protein. *Br J Pharmacol*. 130, 1613-7.
- Prendergast MA, Harris BR, Mayer S, Holley RC, Hauser KF, Littleton JM. (2001). Chronic nicotine exposure reduces N-methyl-D-aspartate receptor-mediated damage in the hippocampus without altering calcium accumulation or extrusion: evidence of calbindin-D28K overexpression. *Neuroscience*. 102, 75-85.
- Raskind MA, Peskind ER. (2001). Alzheimer's disease and related disorders. *Med Clin North Am*. 85, 803-17. Review.
- Ryan RE, Ross SA, Drago J, Loiacono RE. (2001). Dose-related neuroprotective effects of chronic nicotine in 6-hydroxydopamine treated rats, and loss of neuroprotection in alpha4 nicotinic receptor subunit knockout mice. *Br J Pharmacol*. 132, 1650-6.
- Ramamohana R, Jonnala, Jerry J, Buccafusco. (2001). Relationship between the increased cell surface $\alpha 7$ nicotinic receptor expression and neuroprotection induced by several nicotinic receptor agonists. *J Neurosci Res*. 66, 565-72.
- Samochocki M, Zerlin M, Jostock R, Groot Kormelink PJ, Luyten WH, Albuquerque EX, Maelicke A. (2000). Galantamine is an allosterically potentiating ligand of the human alpha4/beta2 nAChR. *Acta Neurol Scand Suppl*. 176, 68-73.
- Santos MD, Alkondon M, Pereira EF, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A, Albuquerque EX. (2002). The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system. *Mol Pharmacol*. 61, 1222-34.
- Shimohama S, Akaike A, Greenwals DL, Shafron DH, Maeda T, Kaneko S, Kimura J, Simpkins CE, Day AL, Meyer EM. (1998). Nicotinic alpha 7 receptors protect against glutamate neurotoxicity and neuronal ischemic damage. *Brain Res*. 779, 359-63
- Shimohama S, Kihara T. (2001). Nicotinic receptor-mediated protection against beta-amyloid neurotoxicity. *Biol Psychiatry*. 49, 233-9.
- Shimohama S, Akaike A, Kimura J. (1996). Nicotine-induced protection against glutamate cytotoxicity. Nicotinic cholinergic receptor-mediated inhibition of nitric oxide formation. *Ann N Y Acad Sci*. 777, 356-61.

- Sjak-Shie NN, Meyer EM. (1993). Effects of chronic nicotine and pilocarpine administration on neocortical neuronal density and [3H]GABA uptake in nucleus basalis lesioned rats. *Brain Res.* 624, 295-8.
- Socci DJ, Arendash GW. (1993). Chronic nicotine treatment prevents neuronal loss in neocortex resulting from nucleus basalis lesioned rats. *Brain Res.* 624, 295-8.
- Sullivan JP, Donnelly-Roberts D, Briggs CA, Anderson DJ, Gopalakrishnan M, Xue IC, Piattoni-Kaplan M, Molinari E, Campbell JE, McKenna DG, Gunn DE, Lin NH, Ryther KB, He Y, Holladay MW, Wonnacott S, Williams M, Arneric SP. (1997). ABT-089 [2-methyl-3-(2-(S)-pyrrolidinylmethoxy)pyridine]: I. A potent and selective cholinergic channel modulator with neuroprotective properties. *J Pharmacol Exp Ther.* 283, 235-46.
- Terzano S, Court JA, Fornasari D, Griffiths M, Spurden DP, Lloyd S, Perry RH, Perry EK, Clementi F. (1998) Expression of the alpha3 nicotinic receptor subunit mRNA in aging and Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res.* 63:72-8
- Thomsen T, Kaden B, Fischer JP, Bickel U, Barz H, Gusztory G, Cervos-Navarro J, Kewitz H. (1991). Inhibition of acetylcholinesterase activity in human brain tissue and erythrocytes by galanthamine, physostigmine and tacrine. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 29, 487-92.
- Wang HY, Lee DH, D'Andrea MR, Peterson PA, Shank RP, Reitz AB. (2000). beta-Amyloid(1-42) binds to alpha7 nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology. *J Biol Chem.* 275, 5626-32.
- Wevers A, Monteggia L, Nowacki S, Bloch W, Schutz U, Lindstrom J, Pereira EF, Eisenberg H, Giacobini E, de Vos RA, Steur EN, Maelicke A, Albuquerque EX, Schroder H. (1999) Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the cerebral cortex in Alzheimer's disease: histotopographical correlation with amyloid plaques and hyperphosphorylated-tau protein. *Eur J Neurosci* 11:2551-65
- Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science.* 215, 1237-9.
- Zoli M, Picciotto MR, Ferrari R, Cocchi D, Changeux GP. (1999). Increased neurodegeneration during ageing in mice lacking high-affinity nicotine receptors. *EMBO J.* 18:1235-44.

CAPÍTULO 11

GALANTAMINA, UN NUEVO TRATAMIENTO PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

RAFAEL BLESÀ

*Servicio de Neurología
Hospital Clinic, Barcelona*

1. Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno cerebral degenerativo. Se caracteriza por el deterioro progresivo de las facultades mentales y su síntoma más perceptible es la pérdida de memoria, generalmente acompañada de desorientación, deterioro del habla y del juicio y trastornos emocionales y de la conducta. Estos síntomas pueden estar producidos por la pérdida neuronal que acompaña a la aparición de ovillos neurofibrilares y placas neuríticas, con acúmulo de proteína β -amiloide.

Aunque parece que la enfermedad ha existido desde siempre, no se identificó hasta 1907. El neuropatólogo Alois Alzheimer, quien posteriormente legaría su nombre a la enfermedad, estudió por primera vez este trastorno en una mujer de 51 años que presentaba un cuadro amnésico-conductual y que en el examen post mortem del cerebro se encontró formaciones neurofibrilares en ovillo y focos miliares. Describió el caso como una "demencia presenil" y una "enfermedad única que afectaba a la corteza cerebral"¹.

La gravedad y el alcance de las consecuencias de la EA han estimulado la investigación para el desarrollo de tratamientos eficaces. Durante las últimas dos décadas, el desarrollo farmacológico se ha centrado en estrategias para mejorar la función colinérgica central, un enfoque que ha permitido mejorar la memoria y otras deficiencias cognitivas producidas por la enfermedad. La

base de esta estrategia es la denominada "hipótesis colinérgica"², que establece que el deterioro de la neurotransmisión colinérgica en la corteza cerebral contribuye de forma significativa al deterioro de la función cognitiva observada en los pacientes con EA. Esta teoría está reforzada por el importante papel que la acetilcolina (ACh) desempeña en la memoria y en el aprendizaje³.

Se puede intentar mejorar la función colinérgica mediante tres mecanismos principales. Uno de ellos es la utilización de precursores de la ACh, como la lecitina⁴, pero no ha tenido éxito debido a su baja penetración de la barrera hematoencefálica y a una corta duración de la acción⁵. Otro mecanismo es la activación o modulación de los subtipos de receptores muscarínicos o nicotínicos^{6,7}. Aunque con este procedimiento de estimulación directa de los receptores colinérgicos mejoró la función cognitiva de los pacientes^{8,9}, su uso clínico se ha visto obstaculizado por la aparición de efectos secundarios⁶. El tercer mecanismo es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), la enzima que participa en la hidrólisis de la ACh en la sinápsis colinérgica. Aunque actualmente es el tratamiento habitual de la EA^{2,10}, no es seguro que comporte beneficios clínicos a largo plazo.

Existen evidencias en la actualidad de que la combinación de dos mecanismos colinérgicos puede producir una mayor eficacia en el tratamiento de la enfermedad. Por ejemplo, la adición de lecitina a la fisostigmina puede mejorar la memoria en mayor medida que el uso de fisostigmina sola¹¹. Siguiendo este enfoque de mecanismo doble, el uso de la galantamina se presenta como un nuevo tratamiento para la enfermedad de Alzheimer.

2. Bioquímica y fisiopatología de la galantamina

La galantamina es un alcaloide terciario que actúa sobre la vía colinérgica a través de dos mecanismos: a) bloquea la acción de la enzima acetilcolinesterasa (ACE), y b) modula alostéricamente el receptor nicotínico, favoreciendo las respuestas inducidas por la acetilcolina (ACh). La galantamina incrementa la disponibilidad de ACh en la sinápsis colinérgica al inhibir a la AChE¹². Es muy selectiva por esta enzima, especialmente si se compara con la butirilcolinesterasa¹³. Aunque no se conoce la importancia clínica exacta de esta selectividad por la AChE, parece que mejora la tolerabilidad. La actividad inhibitoria cesa por completo 30 horas después de la última toma del fármaco¹⁴, lo que significa que en un intervalo corto de tiempo se pueden administrar sin peligro compuestos anestésicos y relajantes musculares. La galantamina es uno de los pocos fármacos que modula alostéricamente el

receptor nicotínico. Otros ejemplos son la fisostigmina y la codeína^{15, 16}. Los compuestos con actividad moduladora interactúan con el receptor en un lugar distinto (alostérico) al que lo hace la sustancia agonista natural. Cuando la galantamina y la ACh se unen simultáneamente a sus respectivos lugares de unión, la respuesta de los receptores se amplifica (modulación alostérica positiva). Como los receptores nicotínicos presinápticos provocan liberación de ACh^{16, 17}, se supone que la modulación alostérica de estos receptores aumenta la liberación de ACh. La activación de los receptores nicotínicos también aumenta la liberación de otros neurotransmisores que se cree desempeñan un papel importante en la memoria, como por ejemplo el glutamato (18). Por lo tanto, facilitando la neurotransmisión nicotínica se pueden producir beneficios clínicos importantes en la EA, incluyendo el retraso del deterioro en la funcionalidad del paciente^{7, 19}.

3. Eficacia clínica

Hasta hace poco, la eficacia de los fármacos para la EA se medía exclusivamente en términos cognitivos y de valoración clínica global. En los últimos años se han añadido las dimensiones de beneficio funcional y conductual. Además de lo anterior, se ha medido el efecto de la galantamina en variables relacionadas con la carga del cuidador y con la farmacoeconomía. Se exponen a continuación los resultados obtenidos en las distintas áreas de valoración, extraídos de los cinco ensayos clínicos aleatorizados publicados (tabla 1). Se ofrece sólo el análisis por intención de tratar, más robusto en cuanto a que incluye a todos los pacientes incluidos y seguidos durante, al menos una visita, arrastrando los valores hasta el final del estudio en caso de abandono prematuro. El análisis de casos observados registra solamente los valores de los pacientes que terminan el ensayo y aumenta las diferencias positivas respecto a placebo, pero no modifica de forma relevante la significación estadística²⁰⁻²⁴.

3.1. Función cognitiva

Los parámetros cognitivos son los más sensibles a los efectos colinérgicos. La subescala cognitiva de la escala de valoración de la EA (ADAS-cog)²⁵ se utiliza como medida primaria de eficacia en la mayoría de los ensayos terapéuticos. Esta subescala se compone de ítems que valoran el aprendizaje verbal, el lenguaje, la orientación, la praxis ideacional y la praxis constructiva. La

puntuación máxima es de 70 puntos, y un incremento significa deterioro. Los pacientes tratados con placebo aumentan (empeoran) entre cinco y seis puntos al cabo de un año²⁶. En los ensayos de seis meses, los pacientes tratados con dosis de galantamina iguales o superiores a 16 mg/día descienden (mejoran) uno o dos puntos en el ADAS-cog, mientras que los tratados con placebo aumentan aproximadamente dos. De este modo, se obtiene una diferencia de tres o cuatro puntos respecto a placebo, que ha resultado estadísticamente significativa en todas las ocasiones (tabla 1). El efecto cognitivo positivo de la galantamina se obtiene tanto en pacientes con demencia ligera como en pacientes con demencia moderada²⁷.

Tabla 1

| Ensayo | n (total) | Duración (meses) | Dosis (mg/d) | ADAS-cog | CIBIC-plus | Abandonos por adversos (%) |
|--|-----------|------------------|---------------|-----------------------|-------------------|----------------------------|
| GAL-9505 ²⁰ | 554 | 6 | 32 | 2.9** | 17,2† | 29 |
| GAL-USA-1 ²¹ | 636 | 6 | 24 32 | 3.9** 3.4** | 16.4† 12.3* | 23 32 |
| GAL-INT-1 ²² | 653 | 6 | 24 32 | 2.9** 3.1** | 11.5* 16.5* | 14 22 |
| GAL-USA-10 ²³ | 978 | 5 | 8 16 24 | 1.3 3.1** 3.1** | 4 17** 15** | 6 7 10 |
| GAL-INT-2 ²⁴ | 386 | 3 | 24, 32 | 1.6† | 18.2† | 25 |
| GAL-INT-6 ⁵¹ EA posible más ECV | 239 | 6 | 24 | 2.7** | 21† | 20 |
| DV probable | 188 | 6 | 24 | 1.9° | NS | 20 |

Eficacia y tolerabilidad de la galantamina en los principales ensayos publicados. ADAS-cog: subescala cognitiva de la escala de valoración de la enfermedad de Alzheimer, como diferencia en el cambio respecto a placebo; CIBIC-plus: escala de impresión de cambio, como diferencia en % de pacientes que no cambian o que mejoran respecto a placebo.

DV: Demencia vascular; EA: enfermedad de Alzheimer; ECV: enfermedad cerebrovascular; GAL: galantamina; INT: Estados Unidos, Canadá, Europa, Oceanía y Sudáfrica; USA: Estados Unidos; °p < 0.06, *p < 0.05, †p < 0.01, **p < 0.001 respecto a placebo (análisis por intención de tratar).

En una prolongación de los ensayos clínicos²¹, se ofreció tratamiento con 24 mg/día de galantamina a todos los pacientes que habían completado el período doble ciego. Los pacientes tratados con 24 mg/día desde el principio mantuvieron su función cognitiva tras 12 meses de tratamiento. Esta mejoría sostenida en relación con los valores iniciales no ha sido descrita hasta la fecha para el donepezilo, la rivastigmina ni la tacrina²⁸⁻³¹. Los pacientes tratados inicialmente con grupo placebo y luego con 24 mg/día de galantamina, no llegaron a recuperar la puntuación basal y a los 12 meses permanecían dos puntos por debajo de los que habían recibido 24 mg/día de galantamina desde el inicio. Este hecho se ha interpretado como un beneficio del tratamiento precoz^{21, 32, 33}. Durante el segundo año de tratamiento, los pacientes tratados empeoraron a una velocidad más lenta de la estimada para un grupo no tratado, de modo que las diferencias obtenidas durante el primer año se mantendrían o incrementarían³³ (figura 1).

La respuesta al tratamiento con galantamina es, de todas formas, variable. Aproximadamente un tercio de los pacientes tratados mejora más de cuatro puntos en el ADAS-cog, y un 10% aproximadamente mejora 10 o más puntos, pero otro tercio continúa empeorando^{22, 23}. Esta variabilidad podría deberse a la contaminación de las muestras con otras entidades (errores diagnósticos, demencias combinadas), y a la propia heterogeneidad de la EA, que en algunos casos podría cursar con un perfil bioquímico de predominio no colinérgico^{34, 35}. La edad, el sexo y el genotipo apoE no modifican la respuesta a la galantamina^{21, 22, 36}. La consistencia y solidez de los resultados observados en la función cognitiva con galantamina no se ha descrito con ningún agente colinérgico³⁷.

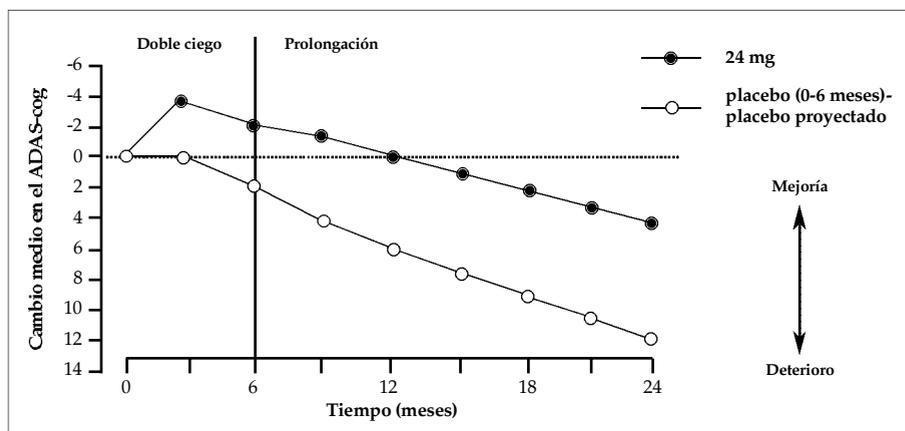


Figura 1

Ensayo USA-1 y su prolongación (elaboración aproximada a partir de las referencias 21 y 33).

3.4. Valoración clínica global

La escala de impresión de cambio basada en la entrevista del clínico (CIBIC-plus)³⁸ es la que habitualmente se utiliza en los ensayos para demostrar mejoría clínica global. A través de una entrevista semiestructurada realizada por separado al cuidador y al paciente, se toman datos cognitivos, conductuales y funcionales, que permiten realizar una valoración global de cambio mediante una puntuación de 1 a 7. Para las dosis de 16, 24 y 32 mg/día de galantamina, el porcentaje de pacientes que se estabilizan o que mejoran es siempre mayor que en el grupo placebo (tabla 1). Los resultados de la CIBIC-plus confirman la eficacia clínica de la galantamina y que la mejoría cognitiva repercute sobre la impresión global que el médico y el familiar tienen sobre el paciente.

3.3. Actividades cotidianas

Se observa un beneficio en la realización de las actividades de la vida diaria, en apariencia ligeramente inferior al cognitivo. La menor magnitud no indica necesariamente un menor efecto funcional de la galantamina, también podría deberse a la necesidad de un tratamiento a más largo plazo, o a una menor sensibilidad de las escalas³⁹. Como herramientas de medición se han utilizado la escala de discapacidad para la demencia (DAD)⁴⁰ y el inventario de actividades de la vida diaria (ADCS/ADL)⁴¹. En ambos casos se obtiene, a través de un cuidador, información relativa a actividades básicas, instrumentales y de ocio. Puntuaciones más altas indican mayor autonomía funcional. Los pacientes con EA leve y moderada tratados con placebo pierden 12 puntos en un año^{26,42}.

Como norma general, se observó un ligero empeoramiento a los seis meses en el grupo tratado, mientras que el grupo placebo desciende de forma significativa. En el ensayo INT-1 de 6 meses de duración, el grupo tratado con 24 mg/día bajó 3.2 puntos, mientras que el grupo placebo bajó 6. La diferencia fue por tanto de 2.8 puntos (IC 95% -0.6 a 6.1; $p = 0.01$). El grupo tratado con 32 mg/día bajó 2.5, obteniendo una diferencia respecto a placebo de 3.4 (IC 95% 0.1-6.7; $p < 0.05$)²². En el ensayo USA-10 de 5 meses de duración, el grupo placebo bajó 3.8 puntos en la ADCS/ADL y los grupos tratados con 8, 16 y 24 mg/día descendieron respectivamente 3.2, 0.7 y 1.5 puntos. Las diferencias respecto a placebo fueron significativas para los grupos de 16 mg/día ($p < 0.001$) y de 24 mg/día ($p < 0.01$)²³. En los estudios a largo plazo, los pacientes que habían recibido 24 mg/día de galantamina

desde el inicio sólo descendieron 1.7 puntos respecto a la puntuación que tenían doce meses antes²¹. Considerando que un grupo placebo histórico de similares características descendió 12 puntos, estos resultados deben considerarse clínicamente relevantes^{26,32}. Los beneficios funcionales de la galantamina se observan en las actividades básicas, en las actividades instrumentales y en los distintos componentes de las mismas (iniciación, planificación, finalización)^{21,24}.

3.4. Efectos sobre la conducta

Los pacientes tratados con galantamina presentaron una estabilización de los síntomas conductuales. Se valoró el efecto sobre la conducta en dos ensayos^{23,24}. La escala utilizada fue el inventario neuropsiquiátrico, que consiste en una entrevista con un informador que valora la frecuencia e intensidad de alteraciones en 10 áreas conductuales. La puntuación total oscila entre 0 (ausencia de problemas) y 120 (máxima alteración)⁴³. Los pacientes incluidos en los ensayos analizados parten de una puntuación basal que oscila en torno a los 9-13 puntos^{23,24}. En el ensayo de tres meses se detectaron cambios mínimos, favorables a la galantamina, que no alcanzaron significación estadística²⁴. En el ensayo de cinco meses los pacientes tratados con placebo y con 8 mg/día de galantamina aumentaron 2 y 2.3 puntos respectivamente, mientras que los tratados con 16 y 24 mg/día permanecieron en el valor basal ($p < 0.05$ frente a placebo)²³. Estos cambios no alcanzan la magnitud habitualmente considerada como clínicamente relevante (30% de la puntuación basal), pero ello podría ser debido a un efecto suelo.

Los mecanismos responsables de la estabilización conductual no están claros. Algunos trastornos, como las alucinaciones, podrían mejorar como consecuencia directa de la estimulación colinérgica, otros como la apatía, podrían beneficiarse de la mejoría cognitiva⁴⁴. Una particular aportación de la galantamina es la demostración de que no modifica la calidad del sueño²⁴.

3.5 Carga para los cuidadores y medidas de eficiencia

En respuesta a la necesidad de cuantificar el impacto del tratamiento en una enfermedad cuyas consecuencias trascienden al paciente individual, se han ido introduciendo nuevos parámetros de eficacia. En el caso de la galantamina se han utilizado tres variables novedosas: el tiempo que el cuidador dedica a ayudar al paciente en las actividades de la vida diaria, el tiempo que

el paciente puede “quedarse solo”, y el estrés que los problemas conductuales causan al cuidador. La galantamina produce beneficio en las tres variables mencionadas. Las dos primeras se midieron en el estudio INT-1 mediante un cuestionario para el cuidador. Al cabo de seis meses, los pacientes tratados con placebo necesitaban un promedio de 23 minutos diarios más de ayuda en las actividades de la vida diaria ($p < 0.05$ respecto al valor basal), mientras que los tratados con 24 y 32 mg/día de galantamina necesitaban 38 y 15 minutos menos respectivamente. El tiempo en que el paciente podía quedarse solo disminuyó dos horas en el grupo placebo ($p < 0.001$ respecto al valor basal), mientras que en los pacientes tratados con 24 y 32 mg/día solamente descendió 38 y 22 minutos respectivamente⁴⁵. Por otra parte, se midió el estrés que los problemas de la conducta producían en el cuidador mediante una escala derivada del inventario neuropsiquiátrico⁴⁶ que se aplicó en el ensayo USA-10. Hubo una reducción significativa del estrés en el grupo tratado con 24 mg de galantamina ($p < 0.05$ respecto a placebo)⁴⁷. Todos estos datos razonablemente apuntan hacia una disminución de la carga del cuidador^{45,47}.

También se han realizado estudios farmacoeconómicos para cuantificar la eficiencia (coste-eficacia) del tratamiento con galantamina. Los resultados indican que es preciso tratar a 5.6 pacientes con EA leve o moderada para evitar un año de cuidados a tiempo completo⁴⁸, con el consiguiente ahorro de costes que ello conlleva.

4. Tolerabilidad y seguridad

La mayoría de los efectos adversos de la galantamina aparecen durante el período de inicial y son gastrointestinales. Una vez alcanzada la dosis estable, la tolerabilidad es similar a la del grupo placebo. En ningún ensayo ha habido una incidencia significativa de efectos adversos graves o de muertes⁴⁹.

La galantamina se tolera mucho mejor si se introduce de forma lenta, con aumentos de 8 mg, repartidos en dos tomas, cada cuatro semanas. De hecho, cuando se ha seguido esta pauta, la tasa de abandonos por efectos adversos en los grupos tratados con 8 y 16 mg/día ha sido similar a la del grupo placebo²³ (tabla 1). En caso de mala tolerabilidad, los incrementos pueden hacerse aún más despacio. Los efectos adversos más frecuentes son: náuseas (13-16%), agitación (10-8%), pérdida de peso (6-11%), vómitos (6-10%), anorexia (6-9%) y diarrea (10-5%) (los porcentajes corresponden a las dosis de 16 y 24 mg/día, respectivamente). También se registran, con mucha menor frecuencia, vértigo, cefalea, somnolencia y temblor. En ningún caso se ha detectado debilidad muscular grave ni hepatotoxicidad^{21,49}.

En los pacientes tratados con 32 mg/día se ha observado alteraciones de la conducción auriculo-ventricular y síncope (2,8%)⁴⁹. A cualquier dosis, cabe esperar un ligero descenso en la frecuencia cardiaca y en la tensión arterial. Por esta razón está contraindicada en presencia de bradicardia sintomática o de bloqueo cardíaco, salvo si existe marcapasos implantado. Tampoco deben emplearse en pacientes con broncoespasmo no controlado. La supresión brusca de la galantamina, tras tres meses de tratamiento, no produce efectos indeseados. Las consecuencias de la retirada tras tratamientos más prolongados no han sido estudiadas.

5. Galantamina en demencias con componente vascular

La utilidad de la galantamina en procesos distintos a la EA está siendo investigada, principalmente en pacientes con deterioro cognitivo ligero, demencia mixta y demencia vascular^{50,51}.

En un ensayo clínico, publicado recientemente⁵¹ la galantamina ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de pacientes con EA posible asociada a lesiones vasculares ("demencia mixta") y pacientes con demencia vascular. El ensayo clínico evaluó el tratamiento con 24 mg/día de galantamina durante 6 meses respecto a placebo en 592 pacientes diagnosticados de demencia mixta (n= 288) y demencia vascular pura (n= 250) o indeterminados (n= 54). El grupo tratado presentó mejoría en las escalas de valoración cognitivas, funcionales, de actividades de la vida diaria y en la evaluación de la conducta (tabla 1). Los pacientes tratados con 24 mg/día de galantamina obtuvieron un beneficio de 2.7 puntos en la escala ADAS-cog respecto al grupo placebo ($p < 0.001$). Aunque el ensayo no fue diseñado para evaluar los dos grupos por separado, se observa una tendencia a la mejoría en los dos grupos de población incluidos. El subgrupo de pacientes con demencia vascular obtuvieron una mejoría de 1.9 puntos en el ADAS-cog respecto a placebo ($p = 0.06$) y los pacientes con demencia mixta alcanzaron una diferencia mayor (2.7 puntos, $p = 0.0005$). Los resultados obtenidos en la demencia mixta tienen especial interés, dado que probablemente se trata de pacientes más comunes de los que habitualmente se incluyen en los ensayos clínicos de la enfermedad de Alzheimer⁵².

6. Conclusiones

La galantamina es un fármaco seguro y bien tolerado que produce beneficios clínicamente relevantes en la EA leve y moderada. A su capacidad de inhibir

la acetilcolinesterasa añade un efecto modulador nicotínico. Su eficacia está demostrada a corto plazo y cuanto menos estabiliza el curso clínico de la enfermedad durante un año. La dosis de mantenimiento es de 16 ó 24 mg/día, repartidos en dos tomas, habiéndose demostrado eficacia en áreas tan importantes como la función cognitiva, la funcionalidad global y las actividades cotidianas. Además, es probable que alivie la carga del cuidador y que, considerando todos los gastos implicados, el tratamiento a largo plazo resulte eficiente. A diferencia de otros tratamientos colinérgicos, la galantamina no parece alterar la calidad del sueño de los pacientes con EA, lo cual también contribuye a disminuir la carga sobre los cuidadores.

Todavía no está aclarada por completo la posibilidad de un efecto más allá del alivio sintomático, aunque es posible que los seguimientos a muy largo plazo y los ensayos en el deterioro cognitivo ligero puedan ser útiles para dilucidar esta cuestión.

Tras disponer de varios fármacos de potente acción anticolinesterásica, la galantamina parece iniciar la inflexión hacia una nueva generación de agentes colinérgicos, con mecanismos de acción combinados, potencialmente más eficaces y mejor tolerados^{27, 53}. No dejan de ser, sin embargo, primeros pasos en el largo camino de la terapia de la llamada "enfermedad del siglo"⁵⁴.

Bibliografía

1. Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat* 1995; 8: 429-31.
2. Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982; 217: 408-14.
3. Drachman DA, Leavitt J. Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol* 1974; 30: 113-121.
4. Heyman A, Schmechel D, Wilkinson W, et al. Failure of long term high-dose lecithin to retard progression of early-onset Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl* 1987; 24: 279-286.
5. Feldman H, Gracon S. Alzheimer's disease: Symptomatic drugs under development. En: Gauthier S (ed.) *Clinical Diagnosis and Management of Alzheimer's Disease*. Martin Dunizit, Ltd. Londres, 1996.
6. Weinstock M. The pharmacotherapy of Alzheimer's disease based on the cholinergic hypothesis: an update. *Neurodegeneration* 1995; 4: 349-56.
7. Maelicke A. Allosteric modulation of nicotinic receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000; 11 (Suppl 1): 11-8.
8. Potter A, Corwin J, Lang J, Piasecki M, Lenox R, Newhouse PA. Acute effects of the selective cholinergic channel activator (nicotinic agonist) ABT-418 in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology* (Berl) 1999; 142: 334-42.
9. Veroff AE, Bodick NC, Offen WW, Sramek JJ, Cutler NR. Efficacy of xanomeline in Alzheimer disease: cognitive improvement measured using the Computerized Neuropsychological Test Battery (CNTB). *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998; 12: 304-12.
10. Nordberg A, Svensson AL. Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease: a comparison of tolerability and pharmacology. *Drug Saf* 1998; 19: 465-80.
11. Thal LJ, Fuld PA, Masur DM, Sharpless NS. Oral physostigmine and lecithin improve memory in Alzheimer disease. *Ann Neurol* 1983; 13: 491-6.
12. Greenblatt HM, Kryger G, Lewis T, Silman I, Sussman JL. Structure of acetylcholinesterase complexed with (-)-galanthamine at 2.3 Å resolution. *FEBS* 1999; 463: 321-326.
13. Thomsen T, Kewitz H. Selective inhibition of human acetylcholinesterase by galanthamine in vitro and in vivo. *Life Sci* 1990; 46: 1553-1558.
14. Bickel U, Thomsen T, Weber W, Fischer JP, Bachus R, Nitz M, et al. Pharmacokinetics of galanthamine in humans and corresponding cholinesterase inhibition. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50:420-8.
15. Samochocki M, Zerlin M, Jostock R, Groot Kormelink PJ, Luyten WH, Albuquerque EX, Maelicke A. Galantamine is an allosterically potentiating ligand of the human α_4/β_2 nAChR. *Acta Neurol Scand* 2000; 176 (Suppl): 68-73.
16. Storch A, Schratzenholz A, Cooper JC, et al. Physostigmine, galanthamine and codeine act as 'noncompetitive nicotinic receptor agonists' on clonal rat pheochromocytoma cells. *Eur J Pharmacol* 1995; 290: 207-19.
17. Schratzenholz A, Pereira EF, Roth U, Weber KH, Albuquerque EX, Maelicke A. Agonist responses of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by a novel class of allosterically acting ligands. *Mol Pharmacol* 1996; 49: 1-6.
18. Levin ED, Simon BB. Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology* (Berl) 1998; 138: 217-30.

19. Newhouse PA, Potter A, Kelton M, Corwin J. Nicotinic treatment of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2001; 49: 268-78.
20. Wilkinson D, Murray J. Galantamine: a randomized, double-blind, dose comparison in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2001; 16: 852-7.
21. Raskind MA, Peskind ER, Wessel T, Yuan W, and the Galantamine USA-1 Study Group. Galantamine in AD: a 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension. *Neurology* 2000; 54: 2261-2268.
22. Wilcock GK, Lilienfeld S, Gaens E, on behalf of the Galantamine International-1 Study Group. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. *Br Med J* 2000; 321: 1-7.
23. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, Kershaw P, Lilienfeld S, Ding C, et al. A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurology* 2000; 54: 2269-2276.
24. Rockwood K, Mintzer J, Truyen L, Wessel T, Wilkinson D. Effects of a flexible galantamine dose in Alzheimer's disease: a randomised, controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 71: 589-595.
25. Rosen W, Mohs R, Davis K. A new rating scale for Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 1984; 141: 1356-1364.
26. Torfs K, Feldman H. 12-Month decline in cognitive and daily function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: two randomized, placebo-controlled studies. *Neurobiol Aging* 2000; 21 (Suppl): 242-243.
27. Lilienfeld S, Parys W. Galantamine: additional benefits to patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000; 11 (Suppl): 19-27.
28. Lilienfeld S. Galantamine - a novel cholinergic drug with a unique dual mode of action for the treatment of patients with Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev* 2002; 8: 159-76.
29. Rösler M, Anand R, Cicin-Sain A, Gauthier S, Agid Y, Dal-Bianco P, Stahelin HB, Hartman R, Gharabawi M. Efficacy and safety of rivastigmine in patients with Alzheimer's disease: international randomised controlled trial. *BMJ* 1999; 318: 633-8.
30. Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil Study Group. *Neurology* 1998; 50: 136-45.
31. Knapp MJ, Knopman DS, Solomon PR, Pendlebury WW, Davis CS, Gracon SI. A 30-week randomized controlled trial of high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. The Tacrine Study Group. *JAMA* 1994; 271: 985-91.
32. Blesa R, Álvarez E. Galantamina: un nuevo tratamiento para la enfermedad de Alzheimer. *Drugs of Today* 2001; 37 (Suppl): 1-17.
33. Doody RS, Kershaw P. The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 24 months: results of a long-term extension trial in Alzheimer's disease. *Neurology* 2001; 56 (Suppl): A456.
34. Holmes C. Genotype and phenotype in Alzheimer's disease. *Br J Psychiatry* 2002; 180: 131-4.
35. Khachaturian ZS. Toward a comprehensive theory of Alzheimer's disease--challenges, caveats, and parameters. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 924: 184-93.
36. Tariot P. Current status and new developments with galantamine in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 2027-2049.
37. Mohs RC, Rosen WG, Davis KL. The Alzheimer's disease assessment scale: an instrument for assessing treatment efficacy. *Psychopharmacol Bull* 1983; 19: 448-50.
38. Schneider LS, Olin JT, Doody RS, et al. Validity and reliability of the Alzheimer's disease cooperative study-clinical global impression of change. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1997; 11 (Suppl): 22-32.

39. Knopman DS. Metrifonate for Alzheimer's disease. Is the next cholinesterase inhibitor better? *Neurology* 1998; 50: 1203-1205.
40. Gélinas I, Gauthier L, McIntyre M, Gauthier S. Development of a functional measure for persons with Alzheimer's disease: the Disability Assessment for Dementia. *Am J Occup Ther* 1999; 53: 471-481.
41. Galasko D, Bennett D, Sano M, Ernesto C, Thomas R, Grundman M, et al. An inventory to assess activities of daily living for clinical trials in Alzheimer's disease. *Alz Dis Assoc Disord* 1997; 11 (Suppl): 33-39.
42. Feldman H, Sauter A, Donald A, Gélinas I, Gauthier S, Torfs K, et al. The disability assessment for dementia scale: a 12-month study of functional ability in mild to moderate Alzheimer disease. *Alz Dis Assoc Disord* 2001; 15: 89-95.
43. Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The neuropsychiatric inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994 ; 44: 2308-2314.
44. Cummings JL. Cholinesterase inhibitors: a new class of psychotropic compounds. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 4-15.
45. Blesa R. Galantamine: therapeutic effects beyond cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000; 11 (Suppl): 28-34.
46. Kaufer DI, Cummings JL, Christine D, Bray T, Castellon S, Masterman D, et al. Assessing the impact of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: the neuropsychiatric inventory caregiver distress scale. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 210-215.
47. Tariot P. Current status and new developments with galantamine in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 2027-2049.
48. Getsios D, Caro JJ, Caro G, Ishak K, for the AHEAD study group. Assessment of health economics in Alzheimer's disease (AHEAD): galantamine treatment in Canada. *Neurology* 2001; 57: 972-978.
49. Olin J, Schneider L. Galantamine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; 3: CD001747.
50. Geda YE, Petersen RC. Clinical trials in mild cognitive impairment. En: Gauthier S, Cummings JL (eds.). *Alzheimer's Disease and Related Disorders Annual* 2001. Martin Dunitz, Ltd. Londres 2001; 69-83.
51. Erkinjuntti T, Kurz A, Gauthier S, Bullock R, Lilienfeld S, Damaraju CV. Efficacy of galantamine in probable vascular dementia and Alzheimer's disease combined with cerebrovascular disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 1283-1290.
52. Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, Riley KP, Greiner PA, Markesbery WR. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease: the nun study. *JAMA* 1997; 277: 813-817.
53. Taylor P. Development of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; 51 (Suppl. 1): S30-S35.
54. Wisniewski HM. Milestones in the history of Alzheimer disease research. *Prog Clin Biol Res* 1989; 317: 1-11.

CAPÍTULO 12

NEUROPROTECCIÓN Y DEMENCIAS: RECEPTOR NICOTÍNICO *VERSUS* RECEPTOR NMDA

CRISTÓBAL DE LOS RÍOS, CAMILO OROZCO y
ANTONIO G. GARCÍA

Instituto Teófilo Hernando
Departamento de Farmacología y Terapéutica
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Madrid
Servicio de Farmacología Clínica
Hospital Universitario de la Princesa

Introducción

Entre las demencias primarias neurodegenerativas, la más frecuente es la enfermedad de Alzheimer (EA). Las pérdidas graduales de memoria y atención se acompañan de afasia, apraxia, agnosia y alteraciones de la percepción visual espacial; este cuadro sintomático se completa con las alteraciones emocionales, inestabilidad psíquica y cambios de la personalidad propios de los estadios avanzados. Relacionado con este cuadro se han descrito varias alteraciones histopatológicas entre las que destacan una marcada atrofia de la corteza cerebral, la pérdida de neuronas corticales y subcorticales, la formación de placas seniles por acumulación de la proteína β -amiloide, con degeneraciones neuríticas y ovillos neurofibrilares compuestos de pares de filamentos helicoidales y de la proteína tau hiperfosforilada (Selkoe, 1989; 1994; Whitehouse y col., 1982; Avila, 2000). Obviamente, estos cambios profundos de la cognición y la personalidad deben estar asociados a una pérdida de eficacia de la neurotransmisión en varias sinapsis y centros cerebrales. Los cambios más notorios se han observado en sinapsis colinérgicas y glutamatérgicas. En ellas centraremos nuestra atención, haciendo énfasis en los mecanismos de neurotransmisión que pudieran explicar un efecto neuroprotector con posible utilidad terapéutico-farmacológica en la enfermedad de Alzheimer y

otras demencias. Tomaremos como ejemplo dos fármacos disponibles para tratar a los pacientes de Alzheimer; uno, la galantamina, afecta la neurotransmisión colinérgica y el otro, la memantina, afecta la neurotransmisión glutamatérgica (ver sus estructuras químicas en la figura 1). De la comparación de sus mecanismos de acción y perfiles preclínico y clínico esperamos sacar algunas enseñanzas sobre nuevas dianas y estrategias terapéuticas para encontrar nuevos fármacos, más eficientes y seguros, para tratar a los pacientes de Alzheimer; con ellos se aliviarán las devastadoras consecuencias familiares, sanitarias y socioeconómicas de esta enfermedad.

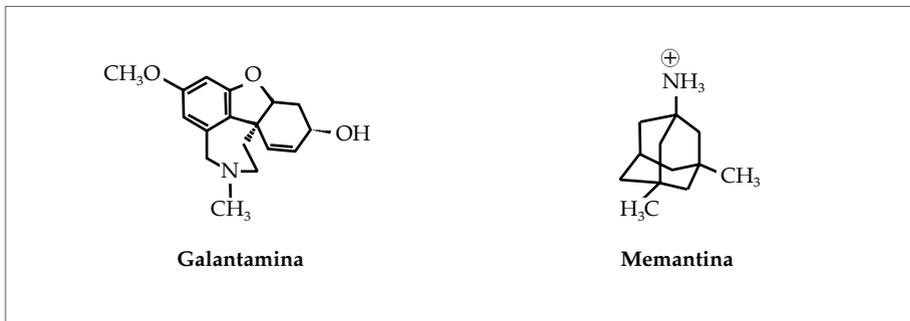


Figura 1

Estructura química de la galantamina y la memantina

Receptores nicotínicos y enfermedad de Alzheimer

La pérdida neuronal en cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer afecta particularmente a las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert, en el que se ha observado una disminución de colina acetiltransferasa, de acetilcolinesterasa y del receptor nicotínico para la acetilcolina (Selkoe, 1989; Giacobini, 1990; Schroder y col., 1991). De los cambios neuroquímicos observados, tan solo la reducción del número de receptores nicotínicos funcionales guarda relación con los síntomas neurológicos y con la gravedad de la enfermedad (Perry y col., 1995; Nordberg, 1993). La teoría colinérgica de la enfermedad de Alzheimer se fundamenta en una amplia gama de observaciones:

1. Estudios *post mortem* de unión de [³H]-nicotina a membranas y rodajas cerebrales (autorradiografía) y de estudios de imagen con tomografía de emisión de positrones, utilizando [¹¹C]-nicotina, demuestran una menor densidad de receptores nicotínicos (Perry y col., 1995; Nordberg y col., 1995).

2. Se ha observado un menor número de placas seniles en pacientes con enfermedad de Alzheimer fumadores, en comparación con los no fumadores (Nordberg y col., 1995).
3. Existen datos epidemiológicos que sugieren una correlación negativa entre el hábito de fumar y la enfermedad de Alzheimer (Brenner y col., 1993), aunque no tan convincentes como en el caso de la enfermedad de Parkinson (Giacobini, 1990); de hecho también existen estudios que sugieren la existencia de una correlación positiva, es decir, a más tabaco más incidencia de Alzheimer (Shalat y col., 1987).
4. En pacientes fumadores existe una mayor densidad de receptores nicotínicos cerebrales, al mismo tiempo que se observa una menor neurodegeneración (Nordberg y col., 1995).
5. La neurotransmisión colinérgica nicotínica está implicada en los procesos de aprendizaje y memoria (Selkoe., 1989; Giacobini, 1990); además, se ha observado que algunos agonistas nicotínicos mejoran el aprendizaje (Summers y Giacobini., 1995).
6. La nicotina ejerce una acción neuroprotectora al inducir la síntesis de factores de crecimiento nervioso o reducir la citotoxicidad para glutamato; recientemente se ha descrito que este papel neuroprotector de los agentes nicotínicos estaría mediado por los receptores del subtipo $\alpha 7$ (Shimohama y col., 1998; Kaneko y col., 1997), probablemente debido a la mayor permeabilidad al catión Ca^{2+} de este subtipo receptorial.
7. Se ha observado una mejoría de las funciones cognitivas en pacientes con enfermedad de Alzheimer a los que se les administró nicotina por vía sistémica (Newhouse y col., 1988; Sahakian y col., 1989); la observación de que el antagonista nicotínico mecamilamina empeora estas funciones en individuos sanos (Newhouse y col., 1994) es congruente con la implicación de los receptores nicotínicos.
8. La nicotina mejora los resultados de los estudios de aprendizaje y memoria en ratas, ratones y monos. Diversos fármacos agonistas nicotínicos, como la lobelina, citisina, ABT418 y derivados de la anabaseína, también son eficaces en estas pruebas. Por otra parte, los antagonistas nicotínicos como la mecamilamina, clorisondamina y dihidro- β -eritroidina son capaces de afectar estos procesos en sentido inverso.

Estos hallazgos han conducido a la teoría colinérgica de la enfermedad de Alzheimer, y a la primera estrategia racional para el tratamiento de la enfermedad (ver García, 2002). Otros sistemas receptoriales (por ejemplo los muscarínicos, glutamatérgicos o serotoninérgicos) sufren cambios menos claros que los nicotínicos (Schroder y col., 1991; Court y Perry, 1992; Nordberg, 1992).

Mecanismo de acción de la galantamina

La “conversación” entre un fármaco y su receptor no siempre se apoya en tonos blancos (agonismo) o negros (antagonismos). Los matices grises son cada vez más frecuentes y en el campo de la farmacología de los receptores nicotínicos, aunque joven, ya ha surgido uno, que se ha dado en llamar modulación alostérica por coagonistas. Un coagonista no es capaz de activar por sí mismo al receptor pero sí se une a él, aunque en un lugar distinto al de la acetilcolina, de ahí el apellido alostérico. Dicha unión produce una modificación conformacional que provoca una hipersensibilidad del receptor nicotínico neuronal a su neurotransmisor natural acetilcolina. Este efecto lo produce la fisostigmina o eserina y la galantamina, dos inhibidores de la acetilcolinesterasa cerebral, así como el precursor fisiológico del neurotransmisor colinérgico, la colina. Hoy por hoy, son los inhibidores de la acetilcolinesterasa (tacrina, donepecilo y rivastigmina) los únicos fármacos que mejoran la cognición en pacientes con enfermedad de Alzheimer en estadios entre leves y moderados. Aunque inhibe la acetilcolinesterasa, la galantamina también mejora la cognición y ya se está introduciendo en la práctica clínica (en España se ha autorizado hace un año con la indicación de tratamiento sintomático de la enfermedad de Alzheimer leve-moderada). ¿Es su efecto alostérico, a nivel de receptores nicotínicos cerebrales, responsable de su eficacia para prevenir el deterioro cognitivo? ¿Cuál es la relevancia clínica de este efecto alostérico en la enfermedad de Alzheimer, y en otras enfermedades neurodegenerativas?.

El curioso concepto de modulador alostérico está emergiendo de la mano de la galantamina, que llegó a la clínica en Europa y en EE.UU. hace un año. Alosterico significa otro sitio; es decir, que la galantamina se une al receptor nicotínico, pero en un lugar distinto al de acetilcolina (Figura 2). Ello ocasiona una modificación del receptor, de tal forma que cuando la acetilcolina se libera en la sinapsis colinérgica y se une a un receptor ‘galantaminizado’ (es decir, sensibilizado por la galantamina), el receptor en cuestión responde con más viveza para transmitir la señal que le indica el neurotransmisor. Los laboratorios de Alfred Maelicke y Edson Albuquerque se valieron de las resolutivas técnicas electrofisiológicas de patch-clamp para demostrar que la galantamina, en concentraciones submicromolares, incrementa la magnitud de la corriente de entrada que produce la aplicación de acetilcolina a células embrionarias de riñón humano que expresan receptores nicotínicos. Por sí misma, la galantamina no fue capaz de producir corriente alguna (Maelicke y col., 2000). Es decir, la molécula se une al receptor nicotínico expresado por las células HEK (por ejemplo el $\alpha 4\beta 2$), cambiando su conformación. Esta

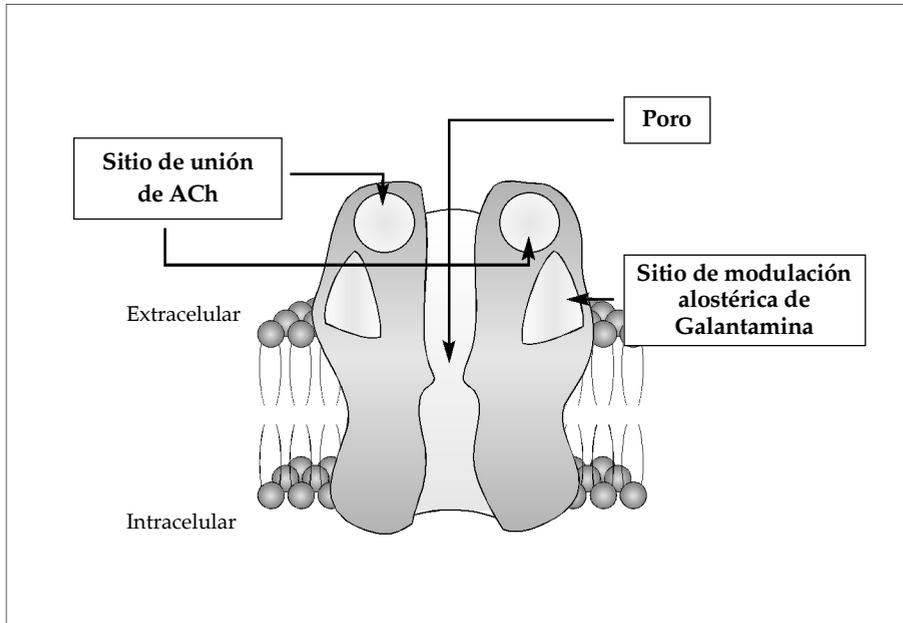


Figura 2

El sitio de unión del ligando fisiológico acetilcolina (ACh) a la subunidad α del receptor nicotínico es distinto al sitio de unión de la galantamina; de ahí el nombre de modulador alostérico que se aplica a la galantamina.

nueva conformación hace más eficaz la acción del agonista fisiológico acetilcolina, de forma que éste produce, en presencia de galantamina, una corriente mayor, que debe traducirse obviamente en una mejoría de la neurotransmisión colinérgica.

Una vez demostrada su acción alostérica en un sistema de expresión artificial de receptores, hacía falta saber si ese efecto se observaba también en el cerebro, en los receptores nicotínicos nativos. De nuevo, Maelicke, Albuquerque y sus colaboradores experimentaron con neuronas del hipocampo y observaron que, a concentraciones muy bajas, que no inhibían la acetilcolinesterasa, la galantamina incrementaba el tamaño de la corriente de entrada, generada por la aplicación de acetilcolina (Albuquerque y col., 1996). Faltaba demostrar si ese efecto alostérico estaba relacionado con una previsible facilitación de la neurotransmisión glutamatérgica (y quizá de otros neurotransmisores como GABA, serotonina o dopamina) en el hipocampo, la corteza cerebral y los ganglios basales. Esta facilitación, que ya se había observado para la nicotina, también la ejerce la galantamina en rodajas de cerebro (San-

tos, y col., 2002). También se requiere corroborar en el cerebro intacto con implantación estereotáxica de cánulas, si la galantamina incrementa la liberación de neurotransmisores. Obviamente, estas técnicas son más complejas; por tanto, es plausible que se necesite algún tiempo para conocer si la hipótesis de la modulación alostérica del receptor nicotínico tiene una traducción directa en la mejoría de la neurotransmisión y de la eficacia sináptica en el cerebro de animales de experimentación. Recientemente, hemos observado en nuestro laboratorio que la exposición crónica a galantamina, de células cromafines bovinas, incrementa la liberación por exocitosis de las catecolaminas (R. Olivares y A.G. García, datos sin publicar); el fármaco aumenta también la liberación de catecolaminas inducida por acetilcolina a través de un efecto bloqueante de los canales de K^+ regulados por Ca^{2+} , de pequeña conductancia (E. Alés, M.G. López y A.G. García, datos sin publicar). Eventualmente, también podrán comprobarse los efectos de la galantamina sobre la neurotransmisión, en el cerebro humano, mediante el uso de las resolutivas técnicas de diagnóstico por imagen, basadas en la tomografía de emisión de positrones, tanto en pacientes con enfermedad de Alzheimer como en individuos controles.

Mecanismo neuroprotector de la galantamina

Como hemos mencionado se está produciendo una creciente acumulación de información que sugiere la existencia de una vinculación entre los receptores nicotínicos cerebrales para la acetilcolina y algunos mecanismos esenciales patogénicos de la EA. Por ejemplo, el péptido β -amiloide se une a los receptores nicotínicos del tipo $\alpha 7$ (Wang y col., 2000 a,b), reduce la corriente nicotínica $\alpha 7$ (Pettit y col., 2001) y disminuye la entrada neuronal de Ca^{2+} activada por nicotina (Takenouchi y Munekata, 1994). Además, la nicotina aumenta la producción de factores neurotróficos en cerebro (Maggio y col., 1998; Rattray, 2001) y protege contra la neurotoxicidad producida por β -amiloide (Kihara y col., 1999, 2001; Kem, 2000; Shimohama y Kihara, 2001). En línea con estas observaciones hemos visto en nuestro laboratorio que la nicotina previene la muerte apoptótica de células cromafines bovinas, secundaria a una sobrecarga de Ca^{2+} inducida por el ionóforo alametina; dicho efecto citoprotector se neutralizó en presencia de α -bungarotoxina, lo que sugiere que está asociado a receptores $\alpha 7$ (Gabilán y col., 2000).

La galantamina pertenece al grupo de fármacos anti-Alzheimer que inhiben la acetilcolinesterasa (AChE). Resulta curioso que la galantamina posea una potencia inhibidora de esta enzima 30 veces menor que la de otros fár-

macos de este grupo, tipo tacrina, donepecilo o rivastigmina (Nordberg y Svensson, 1998); y que, aún así, la galantamina mejore la cognición y mantenga los valores de la prueba ADAS-cog, por encima de la basal inicial, durante un año de tratamiento (Lilienfeld y Parys, 2000). Para explicar este hallazgo clínico se ha recurrido hasta ahora a un segundo efecto de la galantamina, no relacionado con la inhibición de la AChE, que recibe el nombre de APL ("Allosteric Potentiating Ligand"). Como se ha expuesto con anterioridad, este efecto consiste en una potenciación alostérica de los efectos de acetilcolina a nivel de receptores nicotínicos (Schrattenholz y col., 1996; Maelicke y col., 2000).

Desde el año 1993, en el instituto "Teófilo Hernando" estamos investigando los mecanismos de muerte celular, con la idea de encontrar dianas terapéuticas adecuadas para diseñar y sintetizar fármacos dotados de propiedades neuroprotectoras. Una de esas dianas es el receptor nicotínico y su ligando nicotina. De ahí que se nos ocurriera la hipótesis de que la galantamina, por sus efectos directos tipo APL sobre receptores nicotínicos, pudiera frenar la apoptosis, ejerciendo así un efecto neuroprotector. Decidimos, por tanto, comprobar esta hipótesis en dos modelos celulares que expresan receptores del tipo $\alpha 7$, la célula cromafín de la adrenal bovina y células de neuroblastoma humano tipo SH-SY5Y (Criado y col., 1992; Ridley y col., 2001). Como estímulos que favorecen la apoptosis utilizamos la tapsigargina, un agente que provoca estrés reticular (Wei y col., 1998) y el β -amiloide (Kihara y col., 1997).

La galantamina previno la apoptosis y la muerte celular a concentraciones submicromolares, en ambos modelos celulares y con los dos estímulos apoptóticos utilizados, tapsigargina y β -amiloide (López y col., 2002; García y col., 2002). Los efectos antiapoptóticos de galantamina no se explican por su acción inhibitoria de la AChE; en efecto, la galantamina ejerció su acción neuroprotectora a concentraciones 100 veces menores que las requeridas para bloquear la enzima (Fig. 3). La α -bungarotoxina, un antagonista selectivo de los receptores $\alpha 7$ (Vidal y Changeux, 1993), revirtió en gran parte los efectos antiapoptóticos de galantamina, lo que sugiere que estos efectos se ejercen vía receptores $\alpha 7$.

Comprobamos también que la galantamina produce una ligera elevación de la concentración citosólica de Ca^{2+} libre, $[\text{Ca}^{2+}]_c$, en células cromafines cargadas con Fura-2; dicha elevación, aunque ligera (de 100 nM basal se elevó a 250 nM), fue sostenida, por lo que pudiera constituir una señal adecuada para activar la expresión de genes (Didier y col., 1995). Ello explicaría el aumento de 2-3 veces en la expresión de receptores $\alpha 7$ y de la proteína antiapoptótica Bcl-2, que se produce tras la incubación de las células durante 48 h

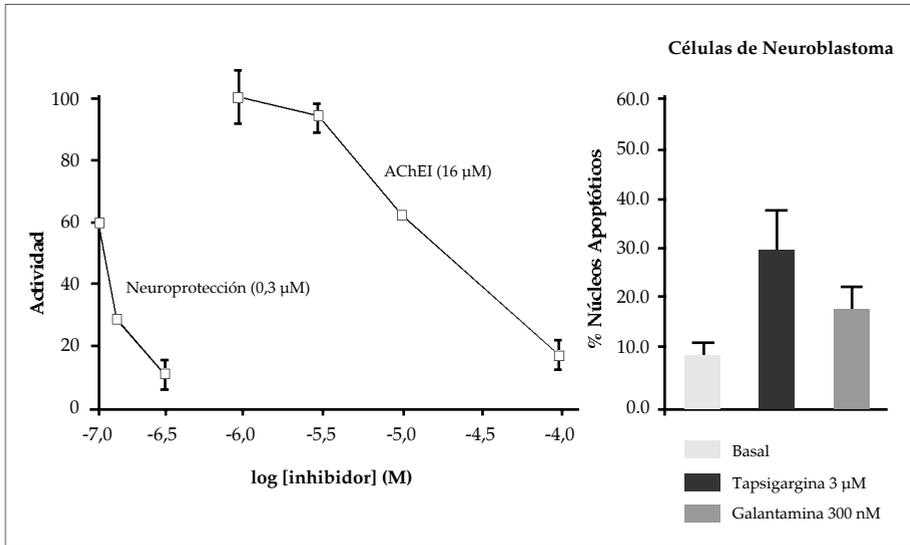


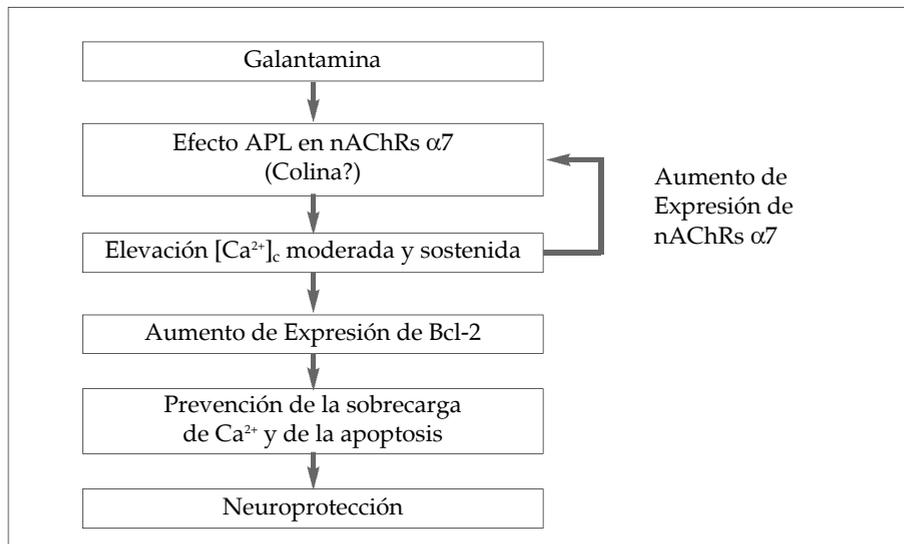
Figura 3

Inhibición de la acetilcolinesterasa y efectos neuroprotectores antiapoptóticos de la galantamina en células de neuroblastoma humano expuestas a taspargina. (Ver López y col., 2002; García y col., 2002).

con 0,3 mM de galantamina (López y col., 2002; García y col., 2002). También hemos observado que la incubación crónica con nicotina aumenta la expresión de las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL (Gabilán y col., 2000).

Con estos resultados surge la cuestión de conocer si los efectos nicotínicos APL y los efectos antiapoptóticos de galantamina están relacionados o no. Puesto que los experimentos de neuroprotección se hicieron en ausencia de agonistas nicotínicos, surge la duda de si la galantamina es capaz, por sí misma, de abrir el poro iónico del receptor nicotínico. El efecto APL implica que aunque la galantamina se una al receptor nicotínico en un sitio distinto al de acetilcolina (Fig. 4), no es capaz de abrir el poro, sino de facilitar su apertura por la acetilcolina. Sin embargo, en registros electrofisiológicos de canal único sí se ha observado que la galantamina produce por sí misma aperturas del poro iónico (Pereira y col., 1993; Storch y col., 1995).

En nuestros experimentos (López y col., 2002; García y col., 2002) las células se incubaron en un medio de Dulbecco que contenía 1 mg/ml de colina (28 mM). La colina es un agonista selectivo para los receptores $\alpha 7$ (Fucile y col., 2002), aunque con una baja potencia (EC_{50} , 3-5 mM). Nos atrevemos a sugerir que en presencia de galantamina, la colina, aún a las bajas concentra-

**Figura 4**

Secuencia de eventos que podrían explicar los efectos neuroprotectores de la galantamina (ver texto para más detalles).

ciones en que se haya presente en nuestros medios de cultivo, podría poseer efectos agonistas mayores y activar así la entrada de Ca^{2+} en las células; es sabido que de todos los receptores nicotínicos conocidos, el $\alpha 7$ es el que posee mayor permeabilidad para el Ca^{2+} (Seguela y col., 1993). A esta propiedad hay que añadir la rápida desensibilización que sufre el receptor $\alpha 7$ en presencia de agonistas (López y col., 1998; Zaninetti y col., 2002). Estas observaciones sugieren que la galantamina por sí misma, y con más eficacia en presencia de concentraciones submilimolares de colina, produce aperturas transitorias del poro del receptor $\alpha 7$. Teniendo en cuenta que la colina se forma en el espacio sináptico como consecuencia de la hidrólisis de la acetilcolina por la AChE, esta posible sinergia colina-galantamina posee un gran calado fisiológico (¿es la colina un modulador de la sensibilización-desensibilización de receptores nicotínicos intrasinápticos?) y terapéutico (¿posee la colina, por sí misma, efectos neuroprotectores?). El efecto terapéutico resultante de la interacción colina-galantamina se explicaría de la siguiente manera.

Aunque posea alta permeabilidad para el Ca^{2+} , la apertura transitoria del receptor $\alpha 7$, facilitado por la galantamina, genera elevaciones pequeñas pero mantenidas de la $[\text{Ca}^{2+}]_c$, que favorecen la expresión de más receptores $\alpha 7$ y

de más proteínas antiapoptóticas del tipo de la Bcl-2. El esquema de la figura 4 resume nuestro punto de vista sobre el mecanismo neuroprotector de la galantamina, a saber, apertura transitoria del poro del receptor nicotínico $\alpha 7$ (posible sinergia con colina), génesis de una señal de $[Ca^{2+}]_c$ localizada, que activa la expresión génica de $\alpha 7$ y Bcl-2, bloqueo de la sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} , prevención de la apoptosis y neuroprotección.

¿Cuál es el significado clínico de los efectos neuroprotectores de galantamina descubiertos en nuestro laboratorio? Por un lado, Perry y col. (1995) han demostrado una buena correlación entre la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, en áreas hipocámpales y parahipocámpales, y la pérdida de receptores nicotínicos en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Estos autores sugieren que la regulación negativa de los receptores $\alpha 7$ de la corteza entorrinal está relacionada con las alteraciones cognitivas propias de la enfermedad de Alzheimer. Ya que la galantamina ejerce una regulación positiva de tales receptores, aumentando su expresión (López y col., 2002; García y col., 2002), este incremento de la densidad receptorial podría ser el responsable de la mejoría cognitiva. También sabemos que la pérdida de neuronas en el cerebro del paciente de Alzheimer se debe, posiblemente, a una mayor actividad apoptótica (Cotman y Su, 1996); el efecto antiapoptótico de galantamina se traduciría en un efecto neuroprotector y en un enlentecimiento de la evolución de la enfermedad.

Eficacia clínica de la galantamina

Los ensayos clínicos con galantamina incluyen a más de 3.000 pacientes con enfermedad de Alzheimer en estadio leve-moderado (Lilienfeld y Parys, 2000; Tariot y Windblad, 2001), tratados con placebo o dosis crecientes de galantamina (8, 16, 24 ó 32 mg/día, repartidos en dos tomas). La galantamina posee una farmacocinética lineal con una semivida plasmática de 7 horas, de ahí su dosificación en dos tomas al día. Al parecer, pronto dispondremos de una formulación de liberación prolongada, que permitirá la dosificación 1 vez al día. Las variables medidas se relacionan con la cognición, la actividad cotidiana, la conducta y la opinión de médicos y cuidadores sobre la evolución de los pacientes tratados con placebo y los tratados con galantamina, naturalmente en condiciones de doble enmascaramiento. La primera observación llamativa es la rápida separación de las curvas que representan la evolución de la puntuación de la cognición (prueba de medición de la cognición en pacientes de Alzheimer, denominada ADAS-Cog con un rango de 0-70 puntos) (Coyle y Kershaw, 2001). Este rápido efecto inicial de mejoría de la cognición con res-

pecto a la situación basal apareció a la semana de tratamiento con la dosis de 24 mg/día; posteriormente, alcanzó un pico máximo a los tres meses de tratamiento, tanto con la dosis de 24 mg como con la de 32 mg. A los seis meses de tratamiento la función cognitiva mejoró 1,7 puntos sobre la basal en el grupo tratado con galantamina, y disminuyó 2,2 puntos en el grupo placebo. También resulta llamativo el hecho de que tras un año de tratamiento (24 mg/día de galantamina), se mantenga la cognición en el nivel basal, mientras que en el grupo placebo descienda entre 4 y 5 puntos (en el estudio GAL-USA-1 se calculó esta disminución por extrapolación de la pendiente de caída a los seis meses). Es decir, el tratamiento con galantamina retrasó un año el deterioro cognitivo de los pacientes y frenó claramente la progresión de la enfermedad (Raskind y Peskind., 2001). La galantamina (24 mg/día) preservó también la actividad funcional cotidiana de los pacientes durante el año de tratamiento. Este hallazgo es importante si se considera que la pérdida funcional y de autonomía es progresiva y prácticamente irreversible, circunstancia que incrementa el estrés del cuidador y el tiempo que debe dedicar al paciente. Además, el deterioro funcional progresivo precipita la institucionalización del paciente, con el consiguiente aumento de los costes. Por ello, el tratamiento con galantamina reducirá, previsiblemente, la dedicación de cuidadores y médicos, y retrasará la institucionalización del paciente. También los inhibidores de la acetilcolinesterasa que precedieron a la galantamina retrasan el deterioro cognitivo. Sin embargo, el beneficio de estos medicamentos sobre las alteraciones de la conducta o las actividades funcionales de la vida cotidiana no se aprecia de forma reproducible y consistente en los distintos estudios (Tariot y Windblad, 2001). Estos datos contrastan con la galantamina, que demostró ser eficaz de forma reproducible en los cuatro ensayos clínicos realizados hasta la fecha, en lo que se refiere a la cognición, conducta y actividad cotidiana, con una disminución del tiempo que el cuidador debe dedicar al paciente (Blesa, 2000). Además, Blesa y Schwalen (2002) han demostrado recientemente que la galantamina mejora la cognición también en un subgrupo de pacientes que padecen enfermedad de Alzheimer en un estadio moderado a más avanzado. La seguridad de la galantamina se ha estudiado en todos los ensayos clínicos realizados, pero más específicamente en el GAL-USA-10 (Tariot y col., 2000). En este estudio se practicó un escalado de dosis que remeda la pauta recomendada cuando se administra medicación colinérgica, a fin de minimizar los efectos adversos gastrointestinales. La dosis se incrementó progresivamente desde 8 hasta 24 mg/día en periodos de cuatro semanas. Un 10% de los pacientes abandonaron el tratamiento; la cifra de abandonos fue similar en el caso del grupo tratado con placebo (7%). Los efectos adversos gastrointestinales son típicos de la estimulación colinérgica, náuseas

en particular. El escalado de dosis reduce la frecuencia de las náuseas, incrementándose así la tolerabilidad de la galantamina en tratamientos duraderos.

Receptores para glutamato y enfermedad de Alzheimer

Los receptores para glutamato se expresan de forma profusa en neuronas y células gliales. Los receptores ionotrópicos se clasifican, según su sensibilidad a varios compuestos, en NMDA (N-metil-D-aspartato), AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazolpropiónico) y kainato. El receptor NMDA es permeable a Na^+ y Ca^{2+} , mientras que los receptores AMPA y kainato son sólo permeables a iones monovalentes. Los receptores metabotrópicos están acoplados a distintas vías de señalización intracelular (proteínas G, nucleótidos, inositolfosfatos).

Debido a su elevada permeabilidad para el Ca^{2+} , el receptor NMDA está relacionado con numerosas funciones de plasticidad neuronal, por ejemplo, la denominada potenciación duradera en el hipocampo ("Long Term Potentiation", LTP), relacionada con el aprendizaje y la memoria (Bear y col., 1990; Bliss y Collinridge, 1993). También está implicado en la depresión perdurable cerebelosa ("Long Term Depression", LTD), así como en fenómenos de plasticidad estímulo-dependiente en corteza visual. Una estimulación prolongada del receptor NMDA por un exceso de glutamato sináptico tiene, sin embargo, un efecto lesivo que puede conducir a la muerte neuronal por necrosis o apoptosis; este mecanismo se ha implicado en la fisiopatología y patogenia del daño neuronal en varias enfermedades agudas (ictus) y crónicas (demencia vascular, demencia tipo Alzheimer) (Greenamyre y col., 1988; Palmer y Gershon, 1990). No es extraño, en consecuencia, que se hayan estudiado numerosos antagonistas NMDA con la esperanza de obtener un efecto neuroprotector, tanto a nivel de cultivos neuronales, como en modelos animales y en pacientes de ictus.

La pérdida cognitiva, típica de la enfermedad de Alzheimer, podría estar relacionada con el deterioro de la neurotransmisión glutamatérgica en áreas cerebrales específicas (Greenamayre y col., 1985, 1988). En línea con esta idea se encuentra el dato de que el antagonista no competitivo de los receptores NMDA para glutamato, MK801, deteriora la memoria espacial (Shapiro y O'Connor, 1992) y la respuesta condicionada de la membrana nictitante en el conejo (Robinson, 1993). De forma similar, la memantina, otro antagonista no competitivo del receptor NMDA, pero de afinidad baja (Kornhuber y col., 1991), también deteriora el reflejo condicionado de parpadeo en el hombre (Schugens y col., 1997). "Paradójicamente", la administración crónica de memantina durante 42 días mejora ciertas funciones cognitivas en pacientes geriátricos (Ditzler, 1991).

Un estudio *postmortem* demuestra una disminución del ARN mensajero para la subunidad NR1 del receptor NMDA, en el cerebro de pacientes de Alzheimer (Dracheva y col., 2001); sin embargo, otro estudio muy reciente tan solo muestra una tendencia a la disminución, que no es significativa (Panegyres y col., 2002). Por su parte, Ginsberg y col. (2000) observaron una disminución de la densidad de receptores glutamatérgicos en neuronas hipocampales invadidas por ovillos neurofibrilares. En otro estudio se apreció un aumento de receptores NMDA en el área hipocampal CA1 y en el subiculum, con dendritas largas y tortuosas, y una disminución receptorial en la circunvolución dentada (Ikonovic y col., 2001). La resonancia magnética no ha sido capaz de detectar alteraciones glutamatérgicas en pacientes de Alzheimer (Stoppe y col., 2000). Ello no excluye la posibilidad de una modificación funcional del receptor NMDA, como ocurre en el ratón transgénico Janssen PS-2 (Schneider y col., 2001); debe considerarse, sin embargo, que este modelo de ratón, que expresa una presenilina mutada, representa tan solo al 3% de los pacientes de Alzheimer.

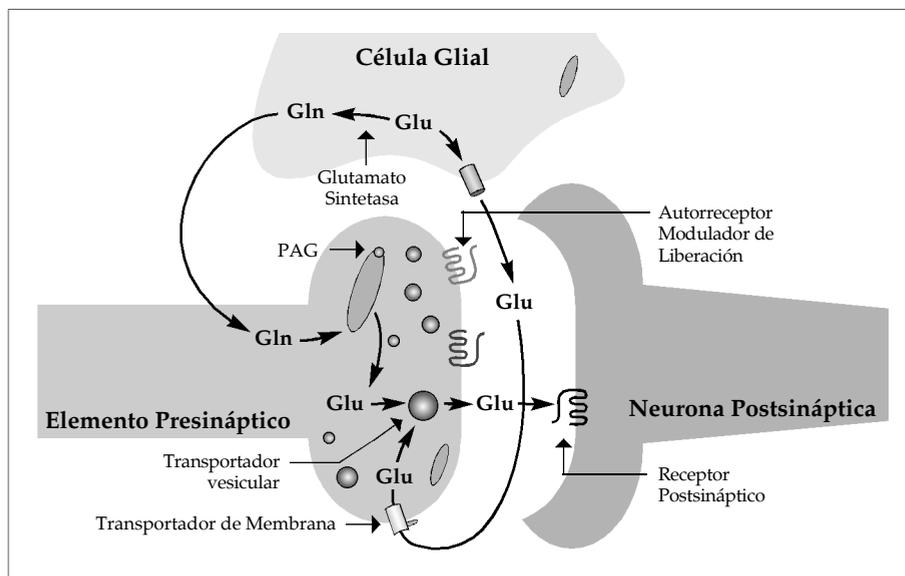


Figura 5

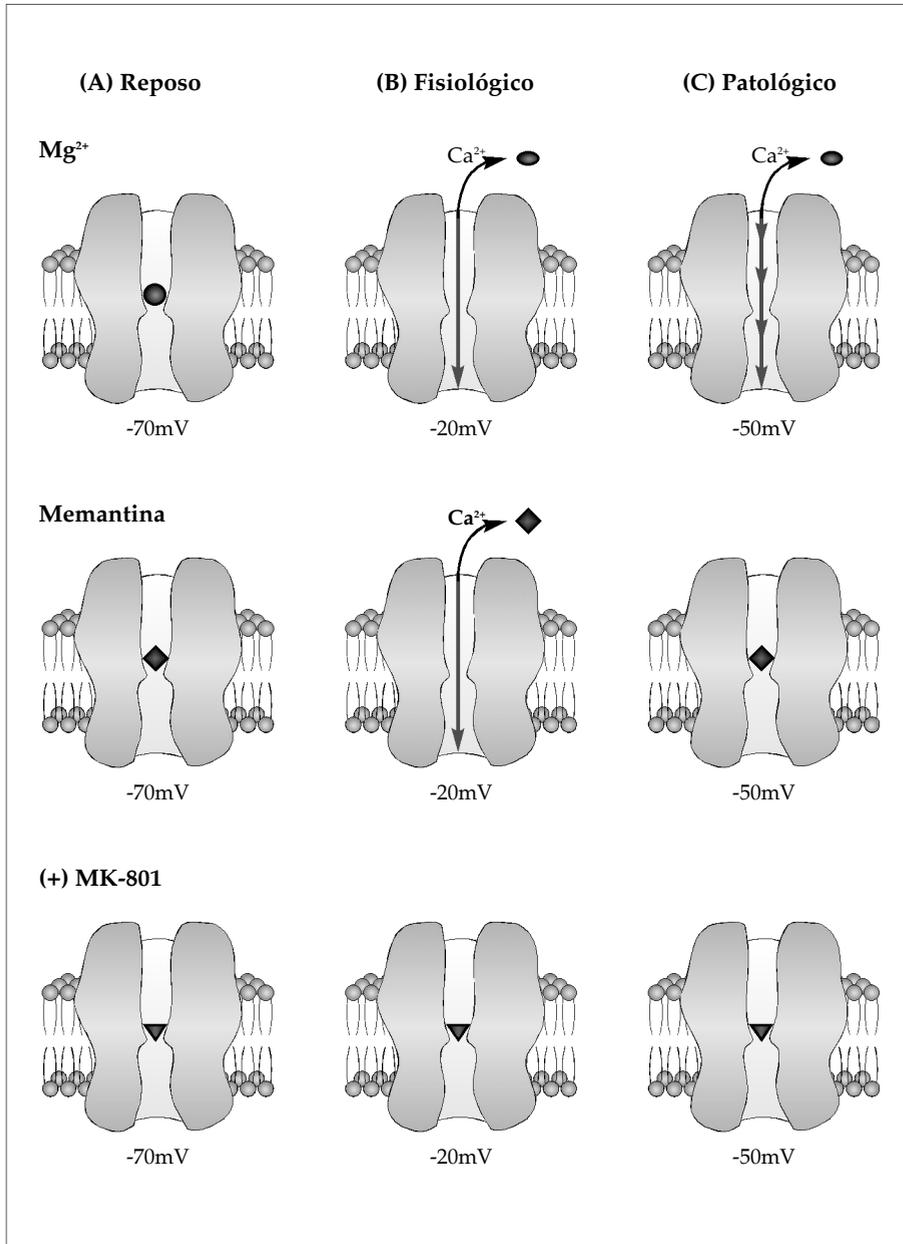
La concentración de glutamato en la sinapsis puede variar entre 1 y 1000 μM , en condiciones fisiológicas o patológicas, según sea la actividad sináptica. Dicha concentración se modula, además de por la actividad sináptica, por el transportador de glutamato de la membrana neuronal presináptica y de la célula glial. Este transportador se enlentece en situaciones de isquemia/hipoxia, lo que ocasiona la elevación de glutamato en la sinapsis, con la correspondiente citotoxicidad y muerte neuronal.

En la patología vascular cerebral, que se traduce en muerte neuronal debida a un cuadro de neurotoxicidad por glutamato, y aboca a un cuadro de demencia vascular, la afectación de la neurotransmisión está mucho más clara que en la enfermedad de Alzheimer. Así, la isquemia cerebral y la hipoxia afectan negativamente al sistema de recaptación neuronal y glial de glutamato (Fig. 5), que depende de aporte energético.

Mecanismo de acción de la memantina

El receptor NMDA es un canal iónico que se abre al activarse por su ligando fisiológico glutamato, o por NMDA; posee una elevada conductancia y poca selectividad iónica, por lo que deja pasar Na^+ , Ca^{2+} y K^+ . Para que el agonista abra el canal se requiere la acción conjunta del coagonista glicina. Además, a potenciales de reposo fisiológicos (alrededor de -70 mV), el Mg^{2+} está ocupando el poro iónico y ocluyéndolo (Figura 6A). A menos que se produzca una despolarización, el glutamato no puede abrir el canal NMDA. Curiosamente, esta despolarización viene de la mano del glutamato que se ha liberado presinápticamente; al activar los receptores AMPA y kainato, el glutamato despolariza la neurona postsináptica, provocando la rápida salida del Mg^{2+} del canal NMDA (Figura 6B). Así se permite que el glutamato pueda activar el receptor NMDA, favoreciendo la entrada de Ca^{2+} en la neurona postsináptica (Nowak y col., 1984; Mayer y col., 1984).

En reposo, la concentración de glutamato en la hendidura sináptica es alrededor de $1 \mu\text{M}$ (Bouvier y col., 1992); esta concentración puede alcanzar hasta 1mM durante 1-2 ms, cuando se produce la activación sináptica en condiciones fisiológicas de aprendizaje y formación de memoria (Fig. 6B) (Clements y col., 1992). Los transportadores plasmalemales de glutamato, a nivel de neurona y glia, recaptan con eficacia el exceso de glutamato (Fig. 5), que restauran así con rapidez los bajos niveles de glutamato sináptico en reposo. La deprivación energética que se produce en procesos de isquemia-reperusión o hipoxia puede ser suficiente para enlentecer la actividad del transportador de glutamato e incrementar la concentración sináptica del neurotransmisor hasta $100 \mu\text{M}$ (Andine y col., 1991). Además, la isquemia o hipoxia despolarizan discretamente la neurona, por ejemplo hasta -50 mV (Figura 6C). Con ello el Mg^{2+} deja libre el poro iónico y se produce así el desbloqueo del canal NMDA. En estas condiciones, la presencia prolongada de glutamato en la sinapsis, aunque sea a concentraciones 10 veces menores que las alcanzadas durante la activación sináptica fisiológica, va a mantener abiertos los canales NMDA; ello ocasiona una entrada mantenida de Ca^{2+} en

**Figura 6**

Esquema que representa el mecanismo de bloqueo no competitivo y voltaje-dependiente del poro iónico del receptor NMDA, por Mg^{2+} , memantina y MK 801 (adaptada de Parsons y col., 1999).

la neurona, que produce una sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} , la despolarización de la mitocondria, la detención de la síntesis de ATP y el desencadenamiento de todos los procesos que conducen a la muerte neuronal por necrosis o apoptosis (Figura. 7).

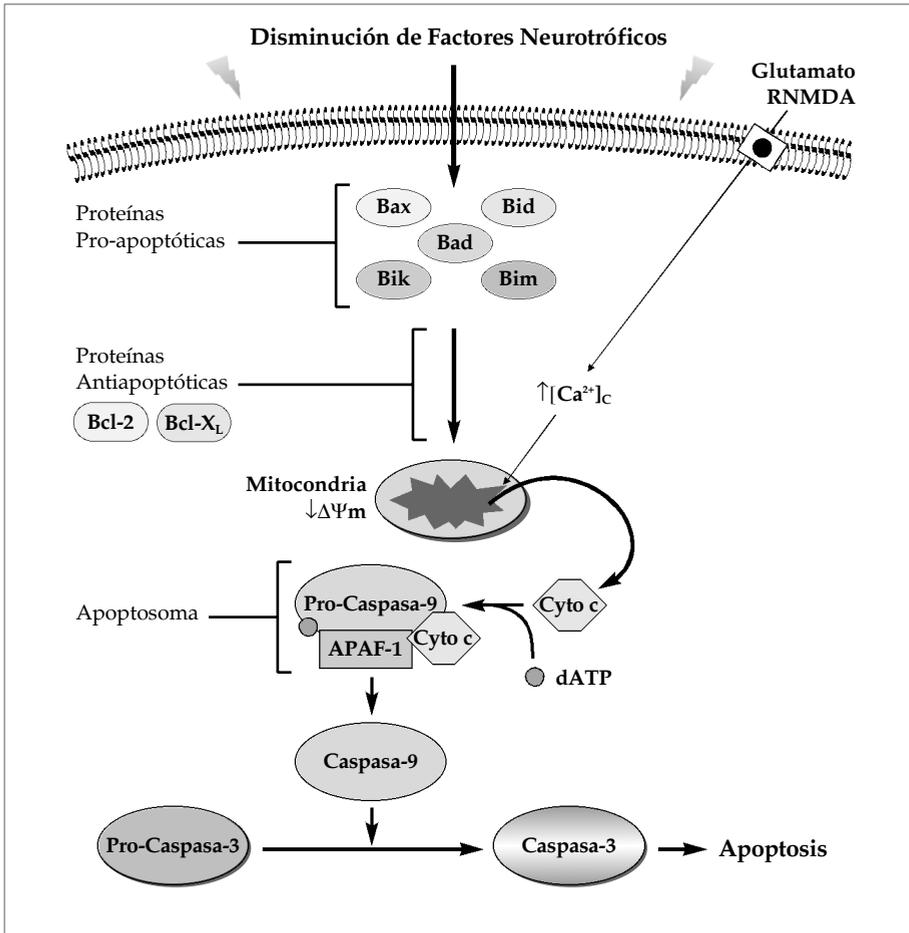


Figura 7

Esquema que representa la sobrecarga neuronal de Ca^{2+} , debida a una activación prolongada del receptor NMDA, por una concentración de glutamato elevada (alrededor de $100 \mu\text{M}$), secundaria a una situación de isquemia e hipoxia. La elevación sostenida del Ca^{2+} citosólico provoca una sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} que activa así las encrujadas metabólicas que conducen a la muerte neuronal por apoptosis. En la enfermedad de Alzheimer ambos, la privación de factores neurotróficos y la activación excesiva de receptores NMDA, podrían colaborar en el desencadenamiento de la señal apoptótica.

La posible implicación de los receptores NMDA en la enfermedad de Alzheimer no está tan clara como en el caso de la muerte neuronal por isquemia o hipoxia. Sí sabemos que la incubación prolongada de las neuronas con glutamato, favorece el depósito de filamentos, similares a los encontrados en los ovillos neurofibrilares en la enfermedad de Alzheimer (De Boni y McLachlan, 1985). También sabemos que la exposición de cultivos neuronales a β -amiloide favorece la neurotoxicidad inducida por glutamato (Koh y col., 1990; Mattson y col., 1992). Y conocemos, de igual modo, que la muerte por apoptosis, de neuronas corticales incubadas con glutamato, puede prevenirse con dos antagonistas no competitivos de receptores NMDA, el MK801 y la memantina (Muller y col., 1992).

Si el MK801 y la memantina bloquean el receptor NMDA que, como se ha mencionado, está implicado en fenómenos plásticos de aprendizaje y memoria, cabe deducir que estos fármacos deberían provocar un importante deterioro cognitivo. En el caso del MK801, que posee una elevada afinidad por el receptor NMDA, sí se han descrito alteraciones cognitivas y psicóticas graves, tanto en modelos animales como en la clínica. Sin embargo, la memantina posee efectos contrarios. Así, la memantina incrementa un 100% la amplitud de las espigas piramidales del área CA1 del hipocampo, producidas por estímulos eléctricos (Dimpfel, 1995). Por otra parte, Barnes y col. (1996) observaron que la memantina incrementa la duración del fenómeno de potenciación duradera y la memoria en ratas viejas. Mondadori y col. (1989) vieron que, a dosis bajas y en ciertas condiciones experimentales, los antagonistas NMDA pueden aumentar la memoria en animales que rinden mal en pruebas de aprendizaje.

Para hacernos una idea cabal del mecanismo de acción de los antagonistas NMDA no competitivos, podríamos imaginarlos como "imitadores" del catión Mg^{2+} . Como mencionamos, el Mg^{2+} ocupa el canal y lo bloquea a potenciales hiperpolarizados de la neurona (fig. 6A). Esta despolarización puede ser leve y duradera (por ejemplo, de -70 a -50 mV) como en casos patológicos de isquemia o hipoxia (figura 6C), o puede ser más intensa, rápida y pasajera (milisegundos), caso de la actividad fisiológica que se produce durante el aprendizaje y la formación de memoria (fig. 6B). El MK801 abandona el canal mucho más lentamente que el Mg^{2+} ; ello se debe a su alta afinidad (se une de una manera estable al canal) y a su menor dependencia de voltaje. Por ello, el MK801 bloquea el canal NMDA de forma estable y prolongada, tanto en reposo como en situaciones de despolarización fisiológica o patológica (fig. 6 A,B,C). Por su parte, el antagonista memantina, que posee una menor afinidad por el canal y posee una dependencia de voltaje muy acusada, ocupa rápidamente el canal (durante la despolarización) pero también lo abandona

rápidamente (durante la repolarización). Ello explica que el tiempo de bloqueo del receptor NMDA por la memantina, en condiciones de estimulación fisiológica por concentraciones milimolares de glutamato, sea menor que el que se produce en condiciones patológicas de estimulación, con concentraciones sinápticas de glutamato que están en el rango micromolar (Figura 6 A,B,C), (Parsons y col., 1993). En suma, la memantina se comportaría como un potente ión Mg^{2+} ; con la diferencia de que durante la despolarización el Mg^{2+} abandona rápidamente el canal, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, mientras que la memantina bloquea el canal solo en situaciones patológicas. Ello explicaría la buena tolerabilidad de la memantina, que está desprovista de los efectos psicotrópicos negativos y amnésicos observados con los antagonistas de mayor afinidad MK801 y fenciclidina (Rogawski y col., 1991; Parsons y col., 1993; 1999; Mealing y col., 1997).

Neuroprotección ejercida por la memantina

Varios estudios *in vitro* demuestran que la memantina protege frente a la lesión producida por agonistas NMDA en neuronas corticales y retinianas en cultivo (Erdo y Schafer, 1991; Osborne y Quack, 1992; Weller y col., 1993a,b). Estudios posteriores confirmaron este efecto neuroprotector en neuronas ganglionares de la retina (Chen y col., 1992; Pellegrini y Lipton, 1993), en neuronas hipocampales (Krieglstein y col., 1996, 1997) y en neuronas corticales (Parsons y col., 1999). También se observó protección frente a otro tipo de estímulo lesivo, el veneno mitocondrial cianuro sódico (Ferber y Krieglstein, 1996), y frente a un estímulo hipóxico en rodajas de hipocampo (Parsons y col., 1999).

Se han hecho estudios *in vivo*, tanto en modelos traumáticos o isquémicos agudos, como en modelos crónicos. Nos referiremos solo a estos últimos, que remedan mejor a las enfermedades neurodegenerativas. Por ejemplo, la administración crónica de memantina con la dieta, durante 1 mes, previene las convulsiones, la muerte y las lesiones hipocampales inducidas por la inyección intracerebroventricular de ácido quinolínico (Keilhoff y Wolf, 1992). También atenúa las lesiones estriatales producidas por malonato, lo que sugiere la implicación de la mitocondria (Schulz y col., 1996). Por otra parte, la memantina protege frente a la muerte de neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert, en la rata, producidos por la inyección directa en dicho núcleo de NMDA o ácido 3-nitropropiónico (Wenk y col., 1994, 1995, 1996, 1997). Resulta curioso que esta protección se traduzca también en la prevención del déficit de aprendizaje producido por la lesión colinérgica del

núcleo basal de Meynert (Wenk y col., 1994). En un modelo de inflamación crónica (inyección de lipopolisacárido), que produce pérdida neuronal en el núcleo basal de Meynert, la memantina disminuyó tal pérdida neuronal (Wenk y col., 1998). Finalmente cabe destacar la neuroprotección ofrecida por memantina frente a las lesiones hipocampales producidas por β -amiloide (Miguel-Hidalgo y col., 1998).

Eficacia de la memantina en demencias

Desde hace 10 años la memantina se prescribe en Alemania en varias enfermedades del sistema nervioso central, entre otras la de Alzheimer. Se han realizado 10 ensayos clínicos controlados con placebo en 1730 pacientes demenciados, pero tan solo los cuatro más recientes son clínicamente relevantes. La memantina mejora el deterioro cognitivo, la apatía y la disfunción motora. También mejora el estado de ánimo y las actividades cotidianas, y disminuye la labilidad emocional. En el estudio "M-Best" se obtiene un 61% de respuesta terapéutica, incluso en pacientes con demencia grave (Winblad y Poritis, 1999).

Hay dos ensayos clínicos en pacientes con Alzheimer grave (Winblad y Poritis, 1999; Reisberg y col., 2000). En ambos se constató una mejoría significativa, lo que motivó que en febrero de 2002 la Comisión Europea de Evaluación de Medicamentos ("CPMP") recomendara la indicación de memantina en pacientes que sufren enfermedad de Alzheimer en sus estadios de moderadamente grave a grave. Esta indicación difiere de galantamina, que se recomienda para estadios leves a moderados.

También se han realizado dos ensayos clínicos con memantina, controlados con placebo, en demencia vascular leve y moderada (Orgogozo y Forette, 2000; Wilcock, 2000). En ambos la memantina produjo una mejoría del rendimiento cognitivo; es curioso que esta mejoría fuera incluso mayor en los pacientes con demencia más avanzada. La memantina también mejora los síntomas en pacientes con demencia vascular grave (Winblad y Poritis, 1999).

Tratamiento sintomático *versus* neuroprotección: conclusiones

Como hemos mencionado, el mecanismo de acción de galantamina se centra en la modulación alostérica del receptor nicotínico, que conlleva un aumento de la liberación de glutamato (Santos y col., 2002), probablemente mediado por un receptor nicotínico presináptico $\alpha 7$ (Fig. 8). Por otra parte, la meman-

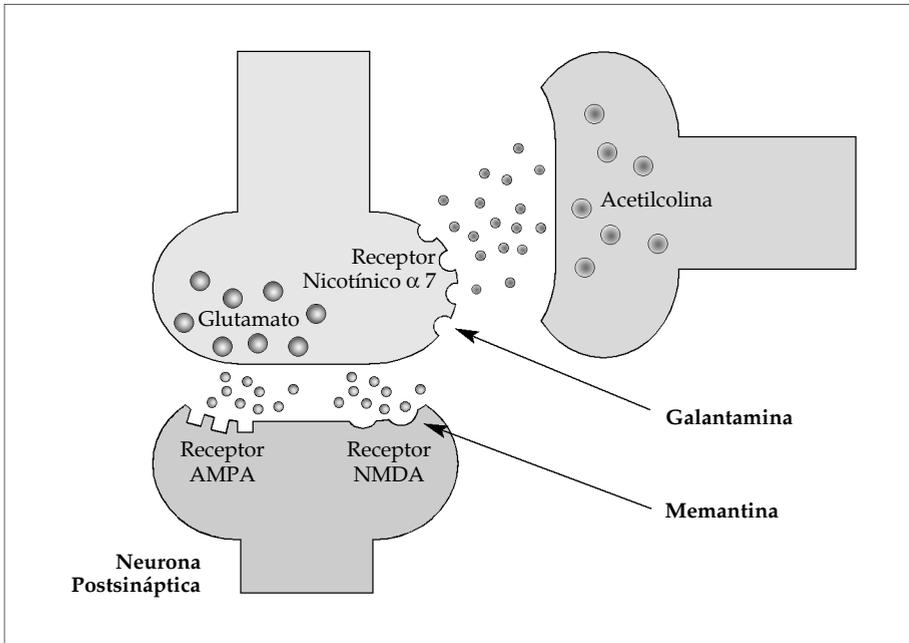


Figura 8

Esquema que representa la relación entre neuronas colinérgicas y glutamatérgicas, y las posibles interacciones sinápticas entre las mismas. En este esquema se muestran las bases que podrían justificar un posible efecto sinérgico terapéutico de la asociación (receptor $\alpha 7$) y memantina (receptor glutamatérgico NMDA)

tina bloquea de forma rápida, reversible, no competitiva y voltaje-dependiente al receptor NMDA para glutamato (Parsons y col., 1999). A primera vista, estos dos mecanismos parecen opuestos, facilitación e inhibición de la neurotransmisión glutamatérgica. Por tanto, uno estaría tentado a asociar al primero una acción mnésica y al segundo un efecto amnésico. Sin embargo, los experimentos animales y clínicos demuestran que ambos, galantamina y memantina mejoran las pruebas de memoria, en pocas semanas (efecto sintomático).

No nos queda más remedio que “inventar” un término que explique la acción positiva de ambos fármacos en el paciente de Alzheimer; acuñamos, pues, la expresión de moduladores de la neurotransmisión glutamatérgica, con mecanismos de acción distintos. Cabe preguntarse si en caso de asociarse, el resultado sería una mejora o un antagonismo de los efectos de ambas medicaciones en el paciente de Alzheimer.

Para dar respuesta a esta pregunta necesitamos echar mano del concepto de neurotransmisión. Hoy reconocemos que la elevación del calcio citosólico tiene cinéticas y amplitudes muy diferentes, según sea la fuente del calcio (extraneuronal, depósitos intracelulares tipo retículo endoplásmico, mitocondria, núcleo, Golgi, vesículas sinápticas) y el estímulo que origine tal elevación o señal (receptores asociados a canales iónicos permeables a calcio tipo receptor nicotínico $\alpha 7$ o glutamatérgico NMDA, canales de calcio voltaje-dependientes). Una señal citosólica de calcio, que dura pocos milisegundos, caso de la neurotransmisión glutamatérgica fisiológica en hipocampo, media fenómenos de plasticidad sináptica tipo LTP, que favorece el aprendizaje y la consolidación de la memoria. Pero una elevación sostenida del calcio intraneuronal, fruto de una neurotransmisión glutamatérgica desordenada, puede sobrecargar de calcio a la mitocondria e iniciar la apoptosis y la muerte neuronal. Ya hemos mencionado que tanto en el cerebro de pacientes de Alzheimer como en pacientes que sufren demencias de origen vascular, existe muerte neuronal por apoptosis. Ello podría ser, en última instancia, el mecanismo responsable de la atrofia cortical en uno y otro caso, es decir, en la demencia tipo Alzheimer y en la demencia multiinfarto.

Nuestros hallazgos sobre la acción antiapoptótica de la galantamina sugieren un efecto neuroprotector, además del sintomático de mejoría en pocas semanas de la cognición en la escala ADAS-cog. Que esta mejoría se mantenga por encima de la basal, durante el primer año de tratamiento (Fig. 9), y que durante los tres primeros años de seguimiento de los pacientes el deterioro cognitivo se retrase 18 meses en relación con los placebo, habla a favor de un efecto modificador del curso natural de la enfermedad, y no de un mero efecto sintomático de la galantamina.

Por otra parte, hace tiempo que se están investigando antagonistas NMDA para tratar el ictus y prevenir la muerte neuronal del área de penumbra isquémica que circunda el tejido infartado. Es lógico, pues, que la memantina, un antagonista NMDA, se haya estudiado ampliamente como fármaco neuroprotector (Parsons y col., 1999). Como hemos comentado, la memantina mejora la cognición en pacientes con demencia tipo Alzheimer o vascular, en fases avanzadas de la enfermedad. Así, en la situación actual, parece que las agencias reguladoras de medicamentos aceptan los inhibidores de la acetilcolinesterasa para las fases leve-moderadas de la demencia y la memantina para las graves, más avanzadas.

Ahora bien, nos preguntamos si esta es una situación demasiado simplista del problema. De hecho, en el estudio de Blesa y Schwalen (2002) se concluye que la galantamina es también eficaz en los pacientes con enfermedad de Alzheimer en estadios "moderadamente avanzados". Además, la galanta-

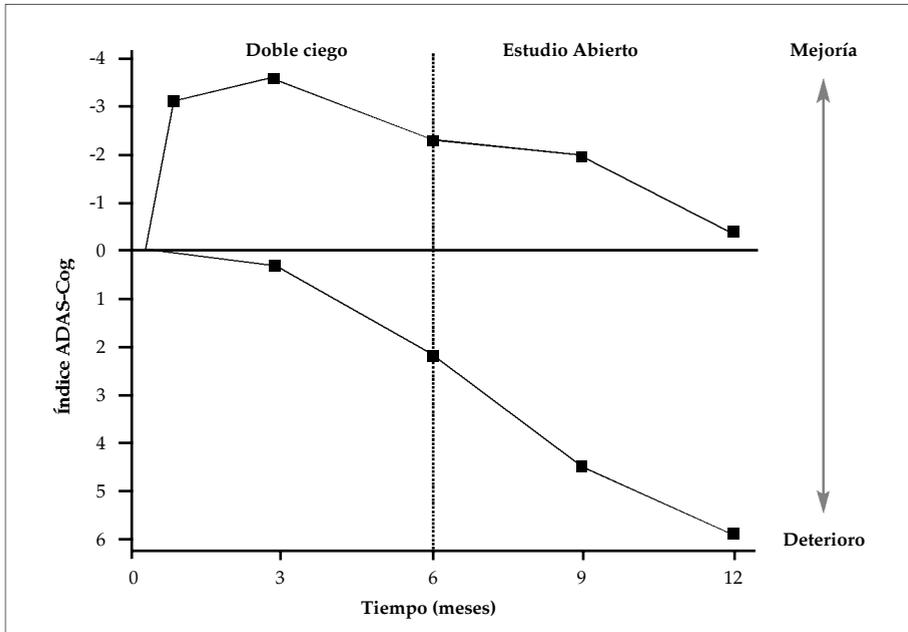


Figura 9

En la parte superior aparecen los resultados de un ensayo clínico en el que se demuestra que el tratamiento con galantamina mantiene por encima de la basal, los niveles cognitivos en la prueba ADAS-Cog. En la parte inferior se demuestra un efecto benéfico sobre la cognición durante más de tres años de tratamiento (ver texto para más detalles). Adaptada de Radskind M.A., Peskind E.R., 2001.

mina ha mostrado eficacia también en demencia vascular. Es decir, nos encontramos con dos medicamentos, memantina y galantamina, cuyo espectro de indicaciones se irá ampliando, según se vayan conociendo los resultados de los ensayos clínicos. De hecho, también se están estudiando varios de los fármacos comercializados para la enfermedad de Alzheimer en pacientes que sufren deterioro cognitivo leve, un cuadro que lleva a una enfermedad de Alzheimer en el 12-15% de los casos (Abad y col., 2002).

Para concluir, cabe preguntarse si es factible asociar en la clínica galantamina y memantina para tratar a pacientes con distintos estadios de demencia. La farmacodinamia nos dice que cuando dos fármacos actúan sobre una misma diana biológica (en nuestro caso la neurotransmisión glutamatérgica) pero con mecanismos de acción distintos, en nuestro caso, el receptor nicotínico $\alpha 7$ para la galantamina y el glutamatérgico NMDA para la memantina, su asociación producirá efectos sinérgicos (Fig. 8). En la actualidad, estamos

investigando en el laboratorio esta posibilidad. Creemos que los Gobiernos de Alemania y de los EE.UU., a través de sus Servicios de Salud, están desarrollando ensayos clínicos con la combinación galantamina-memantina. Nuestro Gobierno, a través del Instituto de Salud Carlos III, debería hacer otro tanto; la demencia es un problema socio-sanitario de interés nacional creciente, que rebasa, con mucho, los intereses de las compañías farmacéuticas, que sólo estudian su fármaco, y ven en el otro a un competidor.

Agradecimientos

La investigación de nuestro laboratorio con galantamina ha sido financiada en parte por Janssen-Cilag (España, Beerse-Bélgica), por la DGICYT (ayuda N° PM 99-0005), por la Comunidad de Madrid (Programa de Grupos Estratégicos del III PRICIT) y por el FIS, ayuda N° 01/00183.

Bibliografía

- Abad Santos F, Novalbos J, Gallego Sandin S, Garcia AG. *Treatment of mild cognitive impairment: value of citicoline*. Rev. Neurol. 2002 35:675-682
- Albuquerque E.X., Pereira E.F., Bonfante-Cabarcas R., Marchioro M., Matsubayashi H., Alkondon M., Maelicke A. *Nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal neurons: cell compartment-specific expression and modulatory control of channel activity*. Prog. Brain Res. 1996, 109:111-124
- Andine P., Orwar O., Jacobson I., Sandberg M., Hagberg H. *Changes in extracellular amino acids and spontaneous neuronal activity during ischemia and extended reflow in the CA1 of the rat hippocampus*. J. Neurochem. 1991, 57:222-229.
- Avila, J. *Tau agregation into fibrilar polymers: taupathies*. FEBS Lett. 2000, 30: 89-92.
- Barnes C.A., Danysz W., Parsons C.G. *Effects of the uncompetitive NMDA receptor antagonist memantine on hippocampal long-term potentiation, short-term exploratory modulation and spatial memory in awake, freely moving rats*. Eur. J. Neurosci. 1996, 8:565-571.

- Bear M.F., Kleinschmidt A., Gu Q.A., Singer W. *Disruption of experience-dependent synaptic modifications in striate cortex by infusion of an NMDA receptor antagonist*. J. Neurosci. 1990, 10:909-925.
- Blesa, R., Schwalen, S. *Galantamine significantly improves call aspects of cognition in patients with advanced moderate Alzheimer's disease*. International Conference on Alzheimer's disease and related disorders, Stockholm, Sweden, 20-25 July 2002.
- Blesa R. *Galantamine: therapeutic effects beyond cognition*. Dement. Geriatr. Cogn. Disord. 2000, Suppl 1:28-34
- Bliss T.V., Collingridge G.L. *A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus*. Nature 1993, 361:31-39.
- Bouvier M., Szatkowski M., Amato A., Attwell D. *The glial cell glutamate uptake carrier counter- transports pH-changing anions*. Nature 1992, 360:471-474.
- Brenner D.E., Kukull W.A., van Belle G., Bowen J.D., McCormick W.C., Teri L., Larson E.B. *Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study*. Neurology 1993, 43:293-300.
- Chen H.S., Pellegrini J.W., Aggarwal S.K., Lei S.Z., Warach S., Jensen F.E., Lipton S.A. *Open-channel block of N-methyl-D-aspartate (NMDA) responses by memantine: therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated neurotoxicity*. J. Neurosci. 1992, 12:4427-4436.
- Clements J.D., Lester R.A., Tong G., Jahr C.E., Westbrook G.L. *The time course of glutamate in the synaptic cleft*. Science 1992, 258:1498-1501.
- Cotman C.W., Su J.H. *Mechanisms of neuronal death in Alzheimer's disease*. Brain Pathol. 1996, 6:493-506
- Court J.A., Perry E.K. *Dementia: the neurochemical basis of putative transmitter orientated therapy*. Pharmacol. Ther. 1991, 52:423-443
- Coyle J., Kershaw P. *Galantamine, a cholinesterase inhibitor that allosterically modulates nicotinic receptors: effects on the course of Alzheimer's disease*. Biol. Psychiatry. 2001, 49:289-299
- Criado M., Alamo L., Navarro A. *Primary structure of an agonist binding subunit of the nicotinic acetylcholine receptor from bovine adrenal chromaffin cells*. Neurochem. Res. 1992, 17:281-287.
- De Boni U., McLachlan D.R. *Controlled induction of paired helical filaments of the Alzheimer type in cultured human neurons, by glutamate and aspartate*. J. Neurol. Sci. 1985, 68:105-118.
- Didier M., Berman S.A., Lindstrom J., Bursztajn S. *Characterization of nicotinic acetylcholine receptors expressed in primary cultures of cerebellar granule cells*. Brain Res. Mol. Brain Res. 1995, 30:17-28.
- Dimpfel W. *Effects of memantine on synaptic transmission in the hippocampus in vitro*. Arzneimittelforschung. 1995, 45:1-5.
- Ditzler K. *Efficacy and tolerability of memantine in patients with dementia syndrome. A double-blind, placebo controlled trial*. Arzneimittelforschung. 1991, 41:773-780.
- Dracheva S., Marras S.A., Elhakem S.L., Kramer F.R., Davis K.L., Haroutunian V. *N-methyl-D-aspartic acid receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex of elderly patients with schizophrenia*. Am. J. Psychiatry 2001, 158:1400-1410.
- Erdo S.L., Schafer M. *Memantine is highly potent in protecting cortical cultures against excitotoxic cell death evoked by glutamate and N-methyl-D-aspartate*. Eur. J. Pharmacol. 1991, 198:215-217.
- Ferger D., Krieglstein J. *Determination of intracellular Ca²⁺ concentration can be a useful tool to predict neuronal damage and neuroprotective properties of drugs*. Brain Res. 1996, 732:87-94.
- Fucile S., Lax P., Eusebi F. *Nicotine modulates the spontaneous synaptic activity in cultured embryonic rat spinal cord interneurons*. J. Neurosci. Res. 2002, 67:329-336.
- Gabilan N.H., García A.G., López M.G. *Nicotine protects against ionophore-induced cytotoxicity in bovine adrenal chromaffin cells*. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 2000, 22: 520 P-131 Abs

- García, A.G. *Teoría colinérgica del Alzheimer*. JANO 2002, 62:10
- García, A.G.; Arias, E.; Cano-Abad, M.F.; Alés, E.; López, M.G. *Galantamine for Alzheimer's disease: a novel antiapoptotic mechanism linked to overexpression of Bcl-2 and $\alpha 7$ receptors*. Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol. 2002, 24(Suppl. A): 151, P121
- Giacobini E. *Cholinergic receptors in human brain: effects of aging and Alzheimer disease*. J. Neurosci. Res. 1990, 27:548-560
- Ginsberg S.D., Hemby S.E., Lee V.M., Eberwine J.H., Trojanowski J.Q. *Expression profile of transcripts in Alzheimer's disease tangle-bearing CA1 neurons*. Ann. Neurol. 2000, 48:77-87.
- Greenamyre J.T., Maragos W.F., Albin R.L., Penney J.B., Young A.B. *Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease*. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 1988, 12:421-430
- Greenamyre J.T., Penney J.B., Young A.B., D'Amato C.J., Hicks S.P., Shoulson I. *Alterations in L-glutamate binding in Alzheimer's and Huntington's diseases*. Science 1985, 227:1496-1499.
- Ikonovic MD, Mizukami K, Warde D, Sheffield R, Hamilton R, Wenthold RJ, Armstrong DM. *Distribution of glutamate receptor subunit NMDAR1 in the hippocampus of normal elderly and patients with Alzheimer's disease*. Exp. Neurol. 2001, 160: 194-204
- Kaneko S., Maeda T., Kume T., Kochiyama H., Akaike A., Shimohama S., Kimura J. *Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via $\alpha 7$ -neuronal receptors and neuronal CNS receptors*. Brain Res. 1997, 765:135-140.
- Keilhoff G., Wolf G. *Memantine prevents quinolinic acid-induced hippocampal damage*. Eur. J. Pharmacol. 1992, 219:451-454.
- Kem W.R. *The brain $\alpha 7$ nicotinic receptor may be an important therapeutic target for the treatment of Alzheimer's disease: studies with DMXB A (GTS-21)*. Behav. Brain Res. 2000, 113: 169-181.
- Kihara T., Shimohama S., Sawada H., Kimura J., Kume T., Kochiyama H., Maeda T., Akaike A. *Nicotinic receptor stimulation protects neurons against b-amyloid toxicity*. Ann. Neurol. 1997, 42:159-163.
- Kihara T., Shimohama S., Akaike A. *Effects of nicotinic receptor agonists on b-amyloid b-sheet formation*. Jpn. J. Pharmacol. 1999, 79:393-396.
- Kihara T., Shimohama S., Sawada H., Honda K., Nakamizo T., Shibasaki H., Kume T., Akaike A. *$\alpha 7$ nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block b-amyloid-induced neurotoxicity*. J. Biol. Chem. 2001, 276:13541-13546.
- Koh JY, Yang LL, Cotman CW. *b-amyloid protein increases the vulnerability of cultured cortical neurons to excitotoxic damage*. Brain Res. 1990, 533:315-320.
- Kornhuber J., Bormann J., Hubers M., Rusche K., Riederer P. *Effects of the 1-amino-adamantanes at the MK-801-binding site of the NMDA-receptor-gated ion channel: a human postmortem brain study*. Eur. J. Pharmacol. 1991, 206:297-300.
- Kriegstein J., El Nasr M.S., Lippert K., *Neuroprotection by memantine as increased by hypothermia and nimodipine*. Eur. J. Pharm. Sci. 1997, 5:71-77.
- Kriegstein J., Lippert K., Poch G. *Apparent independent action of nimodipine and glutamate antagonists to protect cultured neurons against glutamate-induced damage*. Neuropharmacology 1996, 35:1737-1742.
- Lilienfeld S., Parys W. *Galantamine: additional benefits to patients with Alzheimer's disease*. Dement. Geriatr. Cogn. Disord. 2000, Suppl. 1:19-27.
- López M.G., Montiel C., Herrero C.J., García-Palomero E., Mayorgas I., Hernández-Guijo J.M., Villarroya M., Olivares R., Gandía L., McIntosh J.M., Olivera B.M., García A.G. *Unmasking the functions of the chromaffin cell $\alpha 7$ nicotinic receptor by using short pulses of acetylcholine and selective blockers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998, 95:14184-14189.

- López M.G., Arias E., Cano-Abad M.F., Alés E., García A.G. Galantamine for Alzheimer's disease: a novel antiapoptotic mechanism linked to overexpression of Bcl-2 and $\alpha 7$ -receptors. XIV World Congress of Pharmacology. San Francisco, USA Julio 2002
- Maelicke A., Schratzenholz A., Samochocki M., Radina M., Albuquerque E.X. *Allosterically potentiating ligands of nicotinic receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease*. Behav. Brain Res. 2000, 113:199-206
- Maggio R., Riva M., Vaglini F., Fornai F., Molteni R., Armogida M., Racagni G., Corsini G.U. *Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors*. J. Neurochem. 1998, 71: 2439-2446.
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE. *b-Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity*. J Neurosci. 1992, 12:376-389.
- Mayer M.L., Westbrook G.L., Guthrie P.B. *Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones*. Nature 1984, 309:261-263.
- Mealing G.A., Lanthorn T.H., Murray C.L., Small D.L., Morley P. *Differences in degree of trapping of low-affinity uncompetitive N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonists with similar kinetics of block*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999, 288:204-210.
- Miguel-Hidalgo J.J., Alvarez X.A., Quack G., Cacabelos R. *Protection by memantine against Ab(1-40)-induced neurodegeneration in the CA1 subfield*. Neurobiol. Aging 1998, 19:542
- Mondadori C., Weiskrantz L., Buerki H., Petschke F., Fagg G.E. *NMDA receptor antagonists can enhance or impair learning performance in animals*. Exp. Brain Res. 1989, 75:449-456.
- Muller W.E., Schroder H.C., Ushijima H., Dapper J., Bormann J. *gp 120 of HIV-1 induces apoptosis in rat cortical cell cultures: prevention by memantine*. Eur. J. Pharmacol. 1992, 226:209-214.
- Newhouse P.A., Potter A., Corwin J., Lenox R. *Age-related effects of the nicotinic antagonist mecamlamine on cognition and behavior*. Neuropsychopharmacology 1994, 10:93-107.
- Newhouse P.A., Sunderland T., Tariot P.N., Blumhardt C.L., Weingartner H., Mellow A., Murphy D.L. *Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study*. Psychopharmacology (Berl) 1988, 95:171-175.
- Nordberg A. *Neuroreceptor changes in Alzheimer disease*. Cerebrovasc. Brain Metab. Rev. 1992, 4:303-328
- Nordberg A. *In vivo detection of neurotransmitter changes in Alzheimer's disease*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1993, 695:27-33
- Nordberg A., Lundqvist H., Hartvig P., Lilja A., Langstrom B. *Kinetic analysis of regional (S)- ^{11}C -nicotine binding in normal and Alzheimer brains--in vivo assessment using positron emission tomography*. Alzheimer Dis. Assoc. Disord. 1995, 9:21-27.
- Nordberg A., Svensson A.L. *Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease: a comparison of tolerability and pharmacology*. Drug Saf. 1998, 19:465-480.
- Nowak L., Bregestovski P., Ascher P., Herbert A., Prochiantz A. *Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones*. Nature 1984, 307:462-465.
- Orgogozo J.M., Forette F. (for the MMM 300 trial group), Bordeaux/Paris, France *Efficacy of memantine in mild to moderate vascular dementia (the MMM 300 trial)* (en archivo, laboratorios Merz, Alemania).
- Osborne N.N., Quack G. *Memantine stimulates inositol phosphates production in neurones and nullifies N-methyl-D-aspartate-induced destruction of retinal neurones*. Neurochem. Int. 1992, 21:329-336.
- Palmer A.M., Gershon S. *Is the neuronal basis of Alzheimer's disease cholinergic or glutamatergic?* FASEB J. 1990, 4:2745-2752

- Panegyres P.K., Zafiris-Toufexis K., Kakulas B.A. *The mRNA of the NR1 subtype of glutamate receptor in Alzheimer's disease*. J. Neural Transm. 2002, 109:77-89.
- Parsons C.G., Gruner R., Rozental J., Millar J., Lodge D. *Patch clamp studies on the kinetics and selectivity of N-methyl-D-aspartate receptor antagonism by memantine (1-amino-3,5-dimethyladamantan)*. Neuropharmacology 1993, 32:1337-1350.
- Parsons C.G., Danysz W., Quack G. *Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist—a review of preclinical data*. Neuropharmacology 1999, 38:735-767.
- Pellegrini J.W., Lipton S.A. *Delayed administration of memantine prevents N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity*. Ann. Neurol. 1993, 33:403-407.
- Pereira E.F., Reinhardt-Maelicke S., Schratzenholz A., Maelicke A., Albuquerque E.X. *Identification and functional characterization of a new agonist site on nicotinic acetylcholine receptors of cultured hippocampal neurons*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993, 265:1474-1491.
- Perry E.K., Morris C.M., Court J.A., Cheng A., Fairbairn A.F., McKeith I.G., Irving D., Brown A., Perry R.H. *Alteration in nicotine binding sites in Parkinson's disease, Lewy body dementia and Alzheimer's disease: possible index of early neuropathology*. Neuroscience 1995, 64:385-395.
- Pettit D.L., Shao Z., Yakel J.L. *b-Amyloid (1-42) peptide directly modulates nicotinic receptors in the rat hippocampal slice*. J. Neurosci. 2001, 21: RC120.
- Raskind MA, Peskind E.R. *Alzheimer's disease and related disorders*. Med Clin North Am. 2001 85:803-817
- Rattray M. *Is there nicotinic modulation of nerve growth factor? Implications for cholinergic therapies in Alzheimer's disease*. Biol. Psychiatry 2001, 49:185-193.
- Reisberg B., Windscheif U., Ferris S.H., Hingorani V.N., Stoeffler A., Moebius H.J. *Memantine in moderately severe to severe Alzheimer's disease (AD): Results of a placebo-controlled 6-month trial*. Neurobiol. Aging 2000, 21:S275 (Abs. 1257)
- Ridley D.L., Rogers A., Wonnacott. S. *Differential effects of chronic drug treatment on α_3 and α_7 nicotinic receptor binding sites, in hippocampal neurones and SH-SY5Y cells*. Br. J. Pharmacol. 2001, 133: 1286-1295.
- Robinson, G.B. *MK801 retards acquisition of a classically conditioned response without affecting conditioning-related alterations in perforant path-granule cell synaptic transmission*. Psychobiology 1993, 21: 253-264.
- Rogawski M.A., Yamaguchi S., Jones S.M., Rice K.C., Thurkauf A., Monn J.A. *Anticonvulsant activity of the low-affinity uncompetitive N-methyl-D-aspartate antagonist (\pm)-5-aminocarbonyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine (ADCI): comparison with the structural analogs dizocilpine (MK-801) and carbamazepine*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1991, 259:30-37.
- Sahakian B., Jones G., Levy R., Gray J., Warburton D. *The effects of nicotine on attention, information processing, and short-term memory in patients with dementia of the Alzheimer type*. Br. J. Psychiatry. 1989, 154:797-800.
- Santos M.D., Alkondon M., Pereira E.F., Aracava Y., Eisenberg H.M., Maelicke A., Albuquerque E.X. *The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system*. Mol. Pharmacol. 2002, 61:1222-1234.
- Schneider I., Reverse D., Dewachter I., Ris L., Caluwaerts N., Kuiperi C., Gilis M., Geerts H., Kretzschmar H., Godaux E., Moechars D., Van Leuven F., Herms J. *Mutant presenilins disturb neuronal calcium homeostasis in the brain of transgenic mice, decreasing the threshold for excitotoxicity and facilitating long-term potentiation*. J. Biol. Chem. 2001, 276:11539-11544.
- Schratzenholz A., Pereira E.F., Roth U., Weber K.H., Albuquerque E.X., Maelicke A. *Agonist responses of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by a novel class of allosterically acting ligands*. Mol. Pharmacol. 1996, 49:1-6.

- Schroder H., Giacobini E., Struble R.G., Zilles K., Maelicke A. *Nicotinic cholinceptive neurons of the frontal cortex are reduced in Alzheimer's disease*. Neurobiol. Aging. 1991, 12:259-262.
- Schugens M.M., Egarter R., Daum I., Schepelmann K., Klockgether T., Loschmann P.A. *The NMDA antagonist memantine impairs classical eyeblink conditioning in humans*. Neurosci. Lett. 1997, 224:57-60.
- Schulz H., Jobert M., Coppola R., Herrmann W.M., Pantev M. *The use of diurnal vigilance changes in the EEG to verify vigilance-enhancing effects of memantine in a clinical pharmacological study*. Neuropsychobiology 1996, 33:32-40.
- Seguela P., Wadiche J., Dineley-Miller K., Dani J.A., Patrick J.W. *Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain $\alpha 7$ receptors: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium*. J. Neurosci. 1993, 13:596-604.
- Selkoe D.J. *Biochemistry of altered brain proteins in Alzheimer's disease*. Annu. Rev. Neurosci. 1989, 12:463-490.
- Selkoe, D.J. *Normal and abnormal biology of the b-amyloid precursor protein*. Ann. Rev. Neurosci. 1994, 17: 489-517.
- Shalat S.L., Seltzer B., Pidcock C., Baker E.L. Jr. *Risk factors for Alzheimer's disease: a case-control study*. Neurology. 1987, 37:1630-1633.
- Shapiro M.L., O'Connor C. *N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 and spatial memory representation: working memory is impaired in an unfamiliar environment but not in a familiar environment*. Behav. Neurosci. 1992, 106:604-612.
- Shimohama S., Greenwald D.L., Shafron D.H., Akaike A., Maeda T., Kaneko S., Kimura J., Simpkins C.E., Day A.L., Meyer E.M. *Nicotinic $\alpha 7$ receptors protect against glutamate neurotoxicity and neuronal ischemic damage*. Brain Res. 1998, 779:359-363.
- Shimohama S., Kihara T. *Nicotinic receptor-mediated protection against b-amyloid neurotoxicity*. Biol. Psychiatry 2001, 49:233-239.
- Smith C.J., Giacobini E. *Nicotine, Parkinson's and Alzheimer's disease*. Rev. Neurosci. 1992, 3:25-42
- Stoppe G., Bruhn H., Powels P.J., Hanicke W., Frahm J. *Alzheimer disease: absolute quantification of cerebral metabolites in vivo using localized proton magnetic resonance spectroscopy*. Alzheimer Dis. Assoc. Disord. 2000, 14:112-119.
- Storch A., Schrattenholz A., Cooper J.C., Abdel Ghani E.M., Gutbrod O., Weber K.H., Reinhardt S., Lobron C., Hermsen B., Soskic V. *Physostigmine, galanthamine and codeine act as 'noncompetitive nicotinic receptor agonists' on clonal rat pheochromocytoma cells*. Eur. J. Pharmacol. 1995, 290:207-219.
- Summers K.L., Giacobini E. *Effects of local and repeated systemic administration of (-) nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex*. Neurochem. Res. 1995, 20:753-759.
- Takenouchi T., Munekata E. *Inhibitory effects of b-amyloid peptides on nicotine-induced Ca^{2+} influx in PC12 cells in culture*. Neurosci. Lett. 1994, 173: 147-150.
- Tariot P.N., Solomon P.R., Morris J.C., Kershaw P., Lilienfeld S., Ding C. *A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. The Galantamine USA-10 Study Group*. Neurology 2000, 54:2269-2276.
- Tariot P., Windblad B., *Galantamine, a novel treatment for Alzheimer's disease: a review on long-term benefits to patients and caregivers*. In Iqbal K., Sisodia S.S., Wimblad eds. Alzheimer's disease: advances in etiology, pathogenesis and therapeutics. Philadelphia: John Wiley & Sons; 2001, p. 707-723
- Vidal C., Changeux J.P. *Nicotinic and muscarinic modulations of excitatory synaptic transmission in the rat prefrontal cortex in vitro*. Neuroscience 1993, 56:23-32.

- Wang H.Y., Lee D.H., Davis C.B., Shank R.P. *Amyloid peptide Ab(1-42) binds selectively and with picomolar affinity to $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors*. J Neurochem. 2000a, 75: 1155-1161.
- Wang H.Y., Lee D.H., D'Andrea M.R., Peterson P.A., Shank R.P., Reitz A.B. *b-Amyloid (1-42) binds to $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology*. J. Biol. Chem. 2000b, 275: 5626-5632.
- Wei H., Wei W., Bredesen D.E., Perry D.C. *Bcl-2 protects against apoptosis in neuronal cell line caused by thapsigargin-induced depletion of intracellular calcium stores*. J. Neurochem. 1998, 70: 2305-2314.
- Weller M., Finiels-Marlier F., Paul S.M. *NMDA receptor-mediated glutamate toxicity of cultured cerebellar, cortical and mesencephalic neurons: neuroprotective properties of amantadine and memantine*. Brain Res. 1993a, 613:143-148.
- Weller M., Marini A.M., Finiels-Marlier F., Martin B., Paul S.M. *MK-801 and memantine protect cultured neurons from glutamate toxicity induced by glutamate carboxypeptidase-mediated cleavage of methotrexate*. Eur. J. Pharmacol. 1993b, 248:303-312.
- Wenk G.L., Danysz W., Mobley S.L. *Investigations of neurotoxicity and neuroprotection within the nucleus basalis of the rat*. Brain Res. 1994, 655:7-11.
- Wenk G.L., Danysz W., Mobley S.L. *MK-801, memantine and amantadine show neuroprotective activity in the nucleus basalis magnocellularis*. Eur. J. Pharmacol. 1995, 293:267-270.
- Wenk G.L., Danysz W., Roice D.D. *The effects of mitochondrial failure upon cholinergic toxicity in the nucleus basalis*. Neuroreport 1996, 7:1453-1456.
- Wenk G.L., Hauss-Wegrzyniak B., Baker L.M., Danysz W. *Potential therapies for a novel animal model of Alzheimer's disease-chronic neuroinflammation of transgenic rats that overexpress human amyloid*. Neurobiol. Aging 1998, 19:544.
- Wenk G.L., Zajackowski W., Danysz W. *Neuroprotection of acetylcholinergic basal forebrain neurons by memantine and neurokinin*. B. Behav. Brain Res. 1997, 83:129-133.
- Whitehouse PJ, Struble RG, Clark AW, Price DL. *Alzheimer disease: plaques, tangles, and the basal forebrain*. Ann Neurol 1982. 12:494
- Wilcock G. (for the MMM 500 trial group), Frenchay Hospital, Bristol, UK. *Cognitive improvement by memantine in a placebo-controlled trial in mild to moderate vascular dementia (the MMM 500 trial)*. En archivo, Laboratorios Merz, Alemania.
- Winblad B., Poritis N. *Memantine in severe dementia: results of the 9M-Best Study (Benefit and efficacy in severely demented patients during treatment with memantine)*. Int. J. Geriatr. Psychiatry 1999, 14:135-146.
- Zaninetti M., Tribollet E., Bertrand D., Raggenbass M. *Nicotinic cholinergic activation of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus*. Neuroscience 2002, 110:287-299.

CAPÍTULO 13

ALTERACIÓN COGNITIVA LEVE. UNA REVISIÓN DE LA CLÍNICA Y EPIDEMIOLOGÍA CON DATOS DEL ESTUDIO NEDICES

FÉLIX BERMEJO PAREJA

Jefe del Servicio de Neurología

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción

El envejecimiento progresivo de la población, ha generado la epidemia de demencias que *Plum* predijo hace casi un cuarto de siglo¹. Esta epidemia, causada fundamentalmente por la enfermedad de Alzheimer (EA) se ha convertido en un problema médico, familiar, social y de salud pública²⁻⁴.

La demencia es el extremo más aparente de la alteración o declive cognitivo que sufre la población anciana. El rendimiento cognitivo global de esta población (como grupo) tiene una distribución continua que decrece de forma casi exponencial conforme se envejece, por lo menos hasta los 95 años⁵. Gran parte de sujetos que presentan un trastorno cognitivo en la ancianidad no sufren demencia sino una alteración cognitiva más o menos leve, que es más prevalente en los "viejos-viejos" (mayores de 75-80 años), y que ha sido analizada con detalle en la década de los noventa⁶⁻⁹.

Esta alteración cognitiva leve (ACL) del anciano tiene varios rasgos de interés: a) es muy prevalente, cercana a la cuarta o quinta parte de los ancianos (aunque las cifras oscilan mucho⁸⁻¹⁰; b) su diagnóstico precoz es de importancia médica, porque es el preludeo frecuente de demencia y es posible que su tratamiento inicial pueda evitar o retrasar la aparición demencia¹¹;

c) conlleva un aumento de mortalidad¹². Además de estas características generales, conviene exponer que la ACL va a incrementar su apariencia social (envejecimiento progresivo de la población) y se va a ser un motivo de consulta médica más frecuente¹³. Por estas razones la ACL se ha convertido en una entidad en la práctica clínica y en investigación médica (aunque apenas se ha introducido en los textos de Medicina), y su manejo es hoy necesario para el especialista¹¹, y cada más lo va a ser más para el médico general.

Esta revisión de autor tiene como objetivo evaluar los datos clínicos y epidemiológicos de la alteración cognitiva leve mediante una revisión de la literatura de tamaño moderado (alrededor de 100 citas). Asimismo pretende aportar los datos preliminares del estudio poblacional de la cohorte de ancianos NEDICES sobre alteración cognitiva y demencia^{14,15}.

Material y Métodos

Se ha realizado una revisión en PubMed que tiene interés bibliométrico porque el número de citas es muy elevado (*mild cognitive impairment*, 1.012 citas en julio/02). *Mild cognitive impairment* se ha cruzado (AND) con diversos términos como *prevalence*, *incidence*, *epidemiology*, *population-based survey*, *clinical manifestations*, y otros relacionados con el objetivo de esta revisión. Asimismo se han introducido en PubMed denominaciones de entidades relacionadas con la ACL: *age associated memory impairment*, *age consistent memory impairment*, *late life forgetfulness*, *benign senescent forgetfulness*, *age y aging associated cognitive decline*, *mild cognitive y (neurocognitive) decline disorder*, *age related cognitive decline*, *cognitive impairment no dementia*, *questionable dementia*, *minimal dementia*, *limited cognitive disturbance* y *mild y very mild dementia*.

Se ha revisado muchas citas contenidas en la bibliografía de artículos encontrados en esta búsqueda y libros de la biblioteca de la asociación AEINN. También se ha realizado una búsqueda en los ensayos controlados de la base Cochrane (*Cochrane Controlled Trial Register -CTTR*) y del Índice Médico Español.

Se han evaluado los principales datos sobre ACL del primer corte de 1994 de la cohorte NEDICES (acrónimo inglés de *Neurological disorders in Central Spain*)^{14,15}. Este es un estudio poblacional (en 38 aldeas de Arévalo, Ávila, zona rural; y en dos barrios de Madrid, zona urbana), cuyo objetivo es analizar el estado de salud y datos epidemiológicos de las principales enfermedades neurológicas asociadas al envejecimiento en población censal, con metodología *puerta a puerta* y en dos fases (cribado y diagnóstico). Este

diseño es habitual en estudios poblacionales de enfermedades de baja prevalencia que requieren evaluación de un gran número de personas y diagnóstico preciso efectuado por especialistas¹⁴.

Este estudio utilizó la prevalencia puntual como medida de frecuencia más útil en enfermedades crónicas y se estableció el 1/05/94 como día de prevalencia puntual en el primer corte. El diagnóstico de demencia fue realizado por neurólogos en los casos de cribado positivo (< 24 puntos en la versión del MMSE y > 5 en el FAQ de Pfeffer). La clasificación de *alteración cognitiva* se efectuó con arreglo a las puntuaciones en el MMSE (1; 1,5; 2 desviaciones estándar –DE– por debajo de la media –M– de los sujetos cognitivamente normales), corregido en analfabetos, y habiendo de ser su capacidad funcional instrumental normal (no mayor de 6 puntos en el FAQ de Pfeffer). Además se catalogó como *alteración mnésica objetiva* hallarse 1,5 DE por debajo de la media de los ancianos cognitivamente normales en el recuerdo diferido de las tres palabras del MMSE.

Resultados

Este trabajo no pretende exponer el resultado global de la búsqueda bibliográfica realizada sino sintetizar sus principales datos. Los aspectos bibliométricos del estudio en la base *PubMed* se exponen en la tabla 1, en la que puede observarse que el término *mild cognitive impairment* es el más referenciado entre los que se relacionan con esta entidad, pues demencia leve o muy leve son conceptos más amplios y con más historia. Los aspectos más técnicos de la revisión se comentan durante la exposición de la revisión.

El CCRT de la base Cochrane contiene 131 ensayos. Se han detectado algunos textos en la biblioteca de la asociación AEINN relacionados específicamente con ACL¹⁶⁻³⁴. El Índice Médico Español no ha aportado información reseñable.

El primer corte del estudio NEDICES cribó a 5.278 ancianos¹⁴, de los cuales 3.794 disponían en el primer corte de protocolo de salud completo y de MMSE y Escala de Pfeffer y han sido analizados para este trabajo. La figura 1 muestra el diagrama de flujo del primer corte del estudio NEDICES, nótese que no todos los cribados disponían de MMSE y FAQ de Pfeffer completo (una descripción de los resultados se expone en el epígrafe de prevalencia de ACL).

Con la bibliografía obtenida y los artículos propios previos^{8, 35, 36} se ha diseñado la siguiente revisión que se expone de forma sucinta.

Tabla 1

Citas en *Medline (PubMed)* sobre **Alteración cognitiva leve** y entidades afines+

| Entidades | nº de citas |
|---|------------------|
| Olvido benigno de la senescencia* | 9 |
| AAMI** | 225 (727) * |
| Alteración cognitiva leve (ACL)*** | 1.028 |
| Pérdida de memoria consistente con la edad▲ | 197 |
| Olvidos de la edad avanzada▲▲ | 4 |
| Deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento▲▲▲ | 673 (311 y 260)‡ |
| Trastorno cognitivo o neurocognitivo leve ● | 227 (6) ** |
| Deterioro cognitivo relacionado con la edad ●● | 339 (86)‡‡ |
| Alteración cognitiva sin demencia (CIND) ●●● | 31 (3.282) *** |
| Demencia cuestionable ❖ | 116 |
| Demencia mínima ❖❖ | 432 |
| Trastorno cognitivo limitado ❖❖❖ | 29 |
| Deterioro cognitivo muy leve ◆ | 277 |
| Demencia leve y muy leve ◆◆ | 2.725 |

Términos en inglés y explicaciones

- * *Benign senescent forgetfulness*
- ** *AAMI. Age associated memory impairment.*
- * 225 con la sigla;725 con el término completo
- *** *Mild cognitive impairment (MCI)*
- ▲ *Age consistent memory impairment*
- ▲▲ *Late life forgetfulness*
- ▲▲▲ *Ageing y age associated cognitive decline*
- ‡ 673 con age, 311 con aging, 260 con ageing
- *Mild cognitive y (neurocognitive) decline disorder*
- ** 227 con el término *cognitive*; 6 con el término *neurocognitive*
- *Ageing y age related cognitive decline*
- ‡‡ 339 citas con *ageing*, 86 con *age*
- *Cognitive impairment no demencia(CIND)*
- *** 31 con la sigla, 3.282 con todas las letras (incluye citas de demencia)
- ❖ *Questionable dementia*
- ❖❖ *Minimal dementia*
- ❖❖❖ *Limited cognitive disturbance*
- ◆ *very mild cognitive decline*
- ◆◆ *Mild y very mild dementia*

+ El día 1/09/02

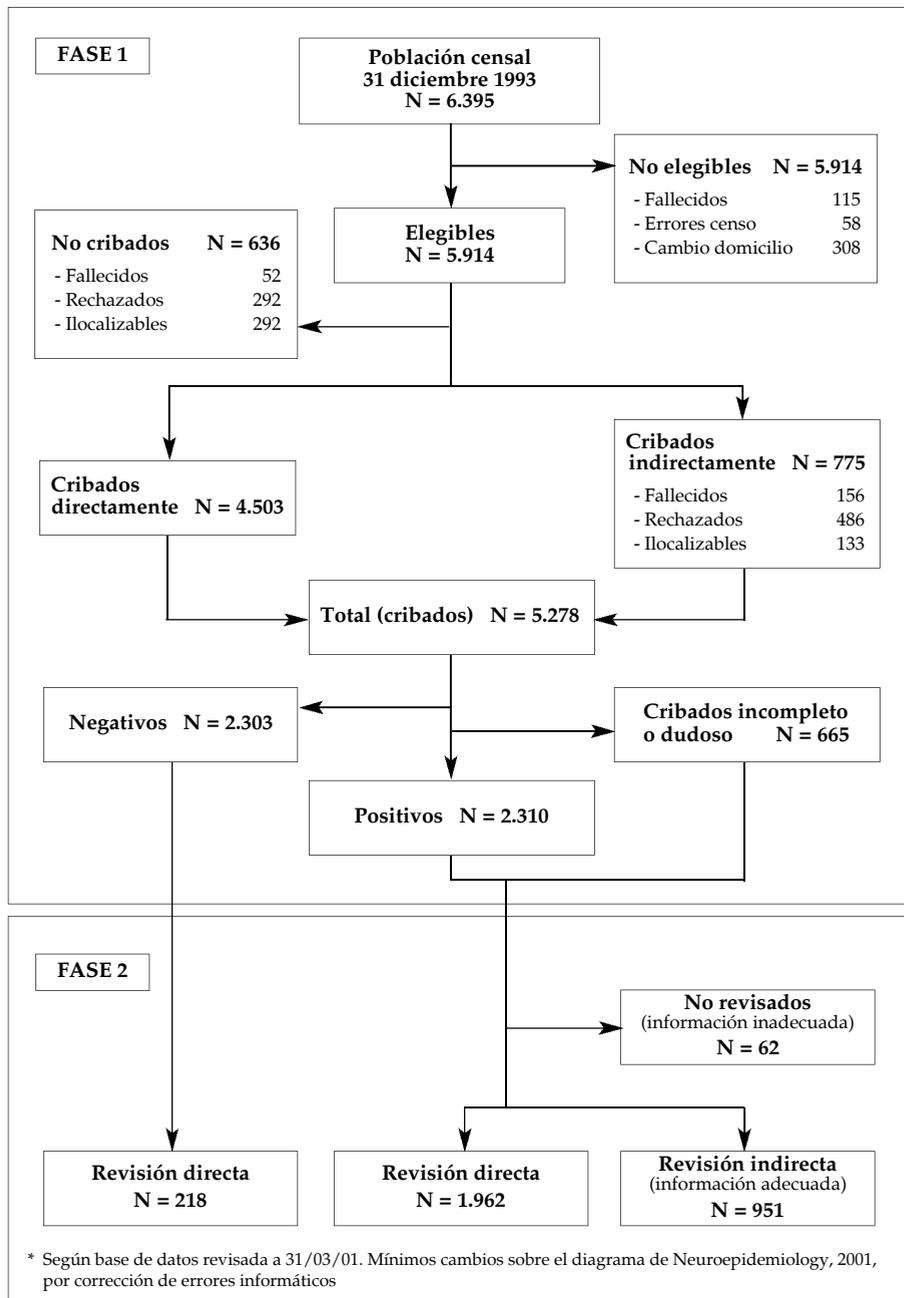


Figura 1
Diagrama de flujo* del estudio NEDICES.

Las funciones mentales durante el envejecimiento

Generalidades

Las funciones mentales (o *estado mental*) pueden ser divididas en: cognitivas (memoria, capacidades ejecutivas, inteligencia general, juicio, razonamiento, cálculo, y otras), emocionales, conductuales y de la personalidad. Durante el proceso de envejecimiento se producen alteraciones de las funciones mentales, siendo las cognitivas (declive de memoria), y las emocionales (apatía, depresión) las que se alteran con más frecuencia e intensidad³⁷.

Tabla 2
Funciones cognitivas, envejecimiento, ACL y demencia

| | Envejecimiento | ACL | Demencia* |
|----------------------------------|----------------|-----|------------|
| Rapidez psicomotora | + | + | ++ |
| Tipos de Memoria | | | variable** |
| Metamemoria | + | ++ | |
| Sensorial | - | ¿? | ¿? |
| Inmediata o primaria | - | - | -/+ |
| Secundaria | -/+ | + | +++ |
| Terciaria | - | + | + |
| Capacidad ejecutiva | - | -/+ | ++ |
| Inteligencia psicométrica | | | |
| cristalizada | - | - | + |
| fluida | -/+ | + | +++ |

* En estadio moderado; ** Algunos dementes minimizan o niegan su pérdida de memoria
+/: decae claramente tanto más cuanto más +; -: se conserva; +/-: decae o se conserva, según personas

Entre las funciones cognitivas la que más declina es alguna de las capacidades mnésicas (ver tabla 2). Además, los estudios poblacionales han mostrado que el rendimiento cognitivo tiene en la población una distribución continua que empieza en la normalidad cognitiva y termina en la demencia extrema (figura 2). Este hecho que se ilustra en ejemplos provenientes del estudio NEDICES (figuras 3 y 4) en los que puede observarse cómo la distribución del rendimiento en un MMSE de 37 puntos³⁸ en la población examinada es normal (y no bimodal) y continua. Este hallazgo se encuentra en prácticamente todos los estudios de rendimiento cognitivo en los ancianos a

nivel poblacional^{19, 21, 23, 25, 39} y dificulta los diagnósticos médicos categoriales como el de demencia (demencia: sí/no) que históricamente ha precisado de una graduación de su intensidad (leve, moderada, y grave o severa), que en la última década no ha sido suficiente, pues entre la normalidad cognitiva y la demencia leve se ha requerido una entidad intermedia cuya definición no es todavía unánime⁴⁰.

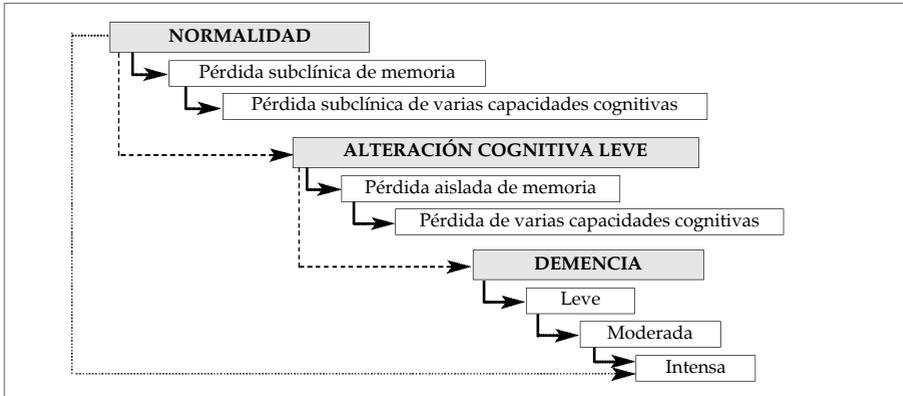


Figura 2
Esquema del continuum cognitivo en la población anciana con diagnósticos médicos.

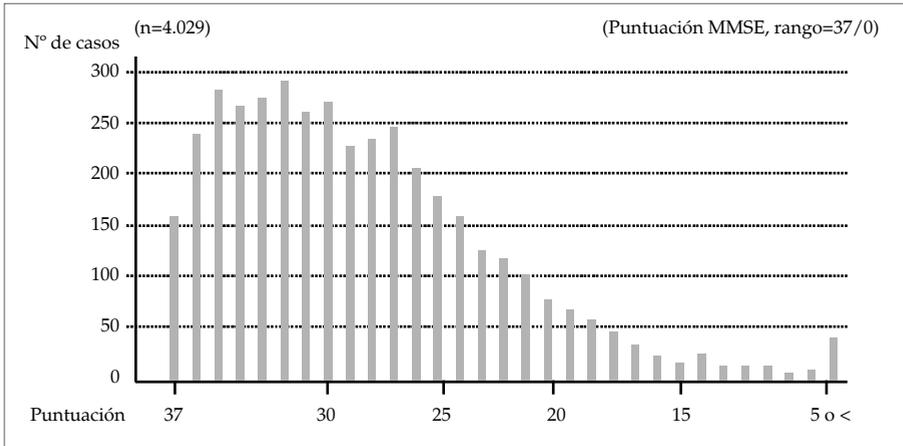


Figura 3
MMSE de los ancianos con MMSE y FAQ de Pfeffer y estudio completo en el corte de 1994 (n=3.974). Se observa claramente la distribución prácticamente continua de las puntuaciones (continuum cognitivo en la población anciana en puntuaciones psicométricas).
MMSE: puntuación de 0 a 37, vean el texto.

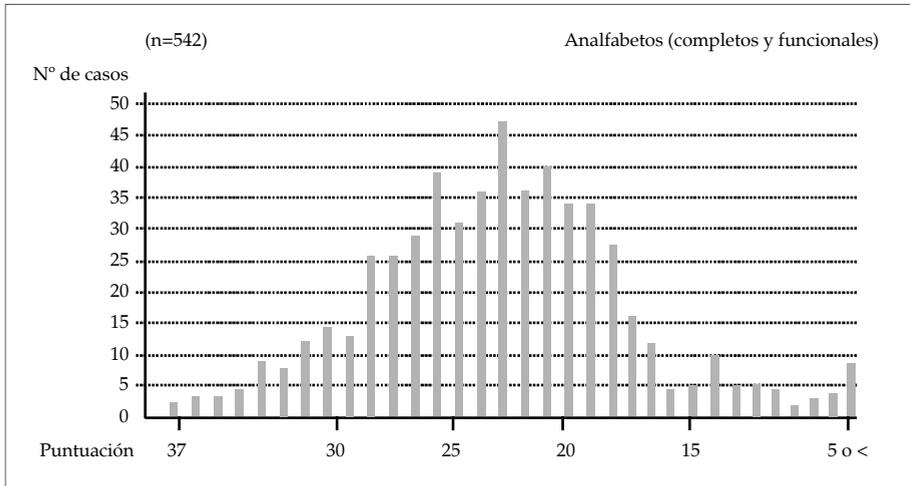


Figura 4

Igual que la figura 3, pero en los analfabetos totales y funcionales. La distribución es claramente normal.

La pérdida de memoria como déficit cognitivo más aparente en el anciano

El rendimiento cognitivo en el anciano normal, incluso en ancianos sin enfermedades conlleva un muy leve declive intelectual: de la rapidez perceptivo-motora que se inicia ya en la segunda década, de algunos tipos de memoria (véase más adelante) y de habilidades constructivas y viso-espaciales complejas (inteligencia fluida). La inteligencia cristalizada (conocimiento del mundo) se sigue incrementando durante el envejecimiento en los ancianos sanos. Pero estos decrementos intelectivos "fisiológicos" no son discernibles en la entrevista clínica y sólo son detectables con test psicométricos específicos, y son de mucha menor importancia de lo que se asume popularmente⁴¹. Se puede afirmar que en el anciano sin enfermedades los cambios cognitivos son mínimos, no detectables clínicamente y no causan ninguna incapacidad. Existe importante controversia en la literatura sobre si los cambios cognitivos que se han atribuido a la ancianidad en sí misma o deben considerarse causados por enfermedad cerebral concomitante, y esta última posición parece la más razonable con los datos existentes^{16, 18, 20, 41, 42}.

En estudios poblacionales la pérdida subjetiva de memoria es frecuente^{44, 45} y también en la práctica clínica, pues, un 25-50% de los mayores se quejan de pérdida de memoria y este porcentaje se incrementa con el envejecimiento (puede alcanzar al 75% en los mayores de 75 años). Pero muchas veces, aun-

que esta pérdida de memoria subjetiva correlaciona con la pérdida objetiva cuando se elimina el efecto de la depresión, no se comprueba en la consulta médica (no es objetiva clínicamente). Ser mujer, tener muy alto o bajo nivel cultural, padecer ansiedad, depresión o deterioro cognitivo incrementan las quejas subjetivas de pérdida de memoria, y el médico debe saber que a pesar de que la substancial proporción de los mayores que se quejan de pérdida de memoria no padecen ninguna enfermedad, y sin embargo tienen más posibilidad en el futuro de desarrollar depresión o demencia⁴⁶.

En general, se puede afirmar que la pérdida de memoria "fisiológica" en la ancianidad es subclínica (sólo se detecta con test), y afecta a la memoria secundaria a corto plazo, o de fijación, (capacidad de recordar varias palabras o imágenes pasados unos minutos), y en general, al aprendizaje de nuevo material. Respeto, la *memoria sensorial* (memoria que interpreta los estímulos sensoriales en fracciones de segundo), la *memoria primaria o inmediata* (la capacidad de repetir varios dígitos en segundos), y la *memoria terciaria*, remota, o de evocación de sucesos lejanos. Una leve alteración de la memoria de fijación la sufrirían incluso los ancianos "sanos", y sería más aparente en los "viejos-viejos" (mayores de 75-80 años), pero es subclínica y no causa incapacidad (el uso de estrategias compensadoras como calendarios, o bloc con notas minimiza este déficit)^{28, 30, 41}. Además, existen otros tipos de memoria previamente no mencionados: episódica (sucesos que tienen fecha y lugar), semántica (lenguaje, hechos establecidos), declarativa (sucesos personales) e implícita o de procedimiento (de actos como montar en bicicleta). La alteración patológica de la memoria en el anciano suele afectar primero la memoria secundaria o de fijación y la memoria episódica y declarativa, otros tipos de memoria son más resistentes^{28, 41}.

La gradación de la pérdida de memoria en el anciano se establece con el primer eslabón de pérdida "fisiológica", subclínica, y se continúa con un decremento mnésico aparente, "patológico". Esta alteración mnésica clínica, fue llamada "olvido benigno de la senescencia" por Kral^{47, 48} como un cuadro clínico no progresivo y opuesto a la pérdida de memoria progresiva que desembocaba en demencia (olvido maligno). La dificultad de su diagnóstico, en la práctica, facilitó la aparición de otras entidades como la "alteración de memoria asociada con la edad" de Crook, 1986 (conocida por su sigla inglesa, "AAMI", *age-associated memory impairment*), que se define como la pérdida de memoria de una cierta intensidad (más de 1 desviación estándar -DE- respecto a grupos normativos de jóvenes) que afecta a mayores de 50 años, por lo demás sanos^{49, 51}. La comparación con sujetos no ancianos determinó que el AAMI fuera bastante prevalente en los ancianos y se alzaron voces para efectuar la comparación frente a los grupos normativos de la misma edad por lo

que se acuñaron otras entidades también con una base psicométrica y de investigación clínica el *age consistent memory impairment*, y el *late life forgetfulness*, propugnada por dos expertos en la investigación psicológica de la memoria, Blackford y La Rue, 1989⁵². Estas dos entidades tienen una definición psicométrica más precisa que el AAMI y se comparan con grupos normativos de la misma edad (ancianos), y el *late life forgetfulness*, requiere puntuaciones por debajo de 2 DE para su diagnóstico. (Véase la tabla 3).

Tabla 3

Principales entidades de ACL en el anciano*. Característica principales

| | E. Clínica | E. Investigación | Definida test | DE | C. Exclusión |
|------|------------|------------------|---------------|-----|--------------|
| OBS | + | - | - | - | + |
| AAMI | - | + | +/- | 1 | + |
| ACMI | - | + | + | 1 | + |
| LLF | - | + | + | 2 | + |
| DCL | + | - | - | - | ¿? |
| DCRE | + | - | - | - | + |
| DCAE | + | + | +/- | 1 | + |
| MCI | + | + | +/- | 1,5 | + |
| CIND | - | + | + | - | - |

*Se ha utilizado la sigla inglesa o española según su difusión

Abreviaturas: E: entidad; DE: desviación estándar; C: criterios

+ : sí; - : no; +/- : test genéricos (memoria, etc) sin especificar

OBS: Olvido benigno de la senescencia

AAMI: *Age associated memory impairment*; Pérdida de memoria asociada a la edad

ACMI: *Age consistent memory impairment*, Pérdida de memoria consistente con la edad

LLF: *Late life forgetfulness*; Olvidos de la edad avanzada

DCL: Deterioro cognitivo leve

DCRE: Deterioro cognitivo relacionada con la edad

DCAE: Deterioro cognitivo asociado a la edad

MCI: *Mild cognitive impairment* o ACL

CIND: *Cognitive impairment no dementia*; Alteración cognitiva sin demencia

Alteración mnésica e intelectual leve del anciano (Alteración cognitiva)

En la década de los noventa, y ante la ausencia terapia curativa para la demencia, y el mejor conocimiento de las alteraciones mnésicas y cognitivas en el anciano por el envejecimiento de la población ha adquirido relevancia médica el diagnóstico de la alteración cognitiva leve (sin demencia)^{40, 43}. Esta entidad tiene interés clínico, facilita un diagnóstico médico no tan severo

como el de demencia, y como puede suponer el inicio de una demencia posibilita la identificación precoz de causas de demencia, y su terapia etiológica (si la causa es reversible o tratable) o preventiva con fármacos de diversa índole (neuroprotectores) u otros, que puedan retrasar o impedir la evolución a demencia. Muchos ensayos terapéuticos están investigando esta posibilidad actualmente (en el CCTR de la base Cochrane no están todos los que se están realizando).

Las diversas definiciones existentes sobre el "deterioro cognitivo leve que no alcanza demencia", coinciden en que este trastorno consiste básicamente en una alteración aparente de la memoria (aunque otras capacidades intelectivas o de la personalidad pueden estar afectas), con conservación de la capacidad funcional⁵³. Difieren en considerar si se afecta la capacidad cognitiva global o no, y sobre todo en excluir o no, causas secundarias (vasculares, metabólicas, farmacológicas, y otras) de alteración de la memoria u otras capacidades cognitivas⁵³. En la tabla 3 se contemplan muy resumidas estas entidades cuya descripción y análisis haría demasiado extensa esta revisión, que, además, sería reiterativa porque han sido analizadas con detalle en otras revisiones en inglés y español^{7-9, 53-56}. No obstante, conviene exponer que hay categorizaciones provenientes de las escalas globales de demencia y enfermedad de Alzheimer como el CDR (*Clinical Dementia Rating*)⁵⁷ o el GDS (*Global Deterioration Scale*)⁵⁸ que han alcanzado gran difusión, el estadio CDR 0,5 o demencia cuestionable (*questionable dementia*) sería equiparable a la ACL en esta escala y se correspondería con el estadio 3 de la GDS deterioro cognitivo leve (*very mild cognitive decline*). Frente a estas categorías globales se posicionarían otras entidades más selectivas en las que la pérdida de memoria es la característica diagnóstica esencial como la ACL (*mild cognitive impairment*) de Flicker y de Petersen^{59,60}, (obsérvese que *el mild cognitive impairment* tiene un significado global en inglés pero es también una entidad bien definida por estos autores), el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento (*ageing associated cognitive decline*, DCAE en la sigla en español), patrocinado por la Asociación Internacional de de Psicogeriatría⁶¹, y las entidades diagnósticas del DSM-IV de la Asociación de Psiquiatras Americanos, y del CIE-10 de la OMS, deterioro cognitivo relacionado con la edad y deterioro cognitivo o neurocognitivo leve respectivamente^{62, 63} (ver tablas 1 y 3). Estas dos entidades aunque de definición clínica no están muy claramente precisadas operativamente y han tenido poco éxito en el empleo clínico o en la investigación clínica⁸. Tampoco se utilizan mucho constructos como el de "demencia mínima" utilizado en el protocolo del CAMDEX^{8, 64} o el de "trastorno cognitivo limitado del CARE⁵⁴. El concepto de alteración cognitiva no demencia (*CIND*) del estudio de Salud y Envejecimiento Canadiense está

adquiriendo más difusión, porque es una entidad amplia que admite, a la inversa de las previas, cualquier etiología causal⁶⁴⁻⁶⁷. En este sentido muchos autores^{6, 7, 8, 29} consideran la ACL como una entidad multicausal, mientras que los especialistas de las Consultas de Demencia o Clínicas de Memoria prefieren restringir el diagnóstico de ACL a pacientes con deterioro cognitivo sin causa conocida, y utilizan los conceptos como AAMI, MCI, DCAE o similares que excluyen pacientes con factores de riesgo prominentes o causales conocidos (vasculares, metabólicos, medicamentosos o otros). En este sentido el Grupo de Demencia de la Sociedad Española de Neurología mantiene la actitud de considerar la ACL del anciano como una afectación de la memoria y de otras facultades cognitivas de etiología multicausal^{68, 69}.

Conviene exponer que muchas de las entidades descritas, sobre todo las que hacen referencia a alteraciones mnésicas, pueden no ser mutuamente excluyentes en una población de ancianos e incluso en una misma persona. Un trastorno tan leve con la alteración mnésica asociada a la edad (AAMI) se puede diagnosticar en un sujeto que padezca un trastorno más aparente como el olvido consistente con la edad. Esto es el AAMI es una forma más leve de alteración mnésica que el olvido consistente con la edad.

Manifestaciones Clínicas de la ACL

La manifestaciones clínicas son obviamente diferentes según la definición de la entidad. Si limitamos la definición a pacientes con pérdida de memoria como criterio básico, el resto de manifestaciones clínicas son muy escasas. Y por tanto, las funciones cognitivas suelen estar en el rango bajo de la normalidad, lo mismo ocurre con la capacidad funcional. Si la definición utilizada para conceptualizar la ACL es más amplia o global, las alteraciones cognitivas son múltiples, teniendo en cuenta que la memoria secundaria y las capacidades ejecutivas dependientes del lóbulo frontal son las que más se afectan, en general durante el envejecimiento^{70, 71}. En general puede decirse que hay un entrecruzamiento entre el rendimiento cognitivo de los ancianos con MCI, ancianos normales y pacientes con demencia leve, estando las puntuaciones de los sujetos con ACL en un rango intermedio entre la normalidad y la demencia leve^{8, 53, 72}, lo mismo ocurre con la capacidad funcional que muestra un leve decremento en las actividad instrumentales de la vida diaria^{73, 74} en comparación con los ancianos cognitivamente normales. Asimismo, el grupo de ancianos con ACL tiene peor salud general, más comorbilidad como han mostrado varios estudios^{31, 75}. Esta claro que el grupo de ancianos con un diagnóstico de ACL, no constituye un grupo clínicamente ni psicómetricamente homogéneo⁷⁶. Se

han realizado diversos análisis al respecto, el problema es que pudiera existir un grupo con un leve decremento y otro grupo que conforma el inicio de enfermedades neurodegenerativas cerebrales tipo, cuyo diagnóstico inicial no es hoy posible por ausencia de marcadores sensibles y específicos⁵³.

Un aspecto en el que se ha estudiado de forma extensa en el ACL son los hallazgos de la neuroimagen. Atrofia del lóbulo temporal sobre todo en la RM concuerdan con el diagnóstico de ACL y su conversión a demencia y alteraciones del PET (semejantes a las que se encuentran en la EA), así como tener un rasgo genético Apo E4. Estos hallazgos deben ser considerados en el ámbito de la investigación^{53,77,78}.

Datos epidemiológicos

Prevalencia de ACL

La prevalencia de ACL es elevada en la población anciana. Los resultados de diversos estudios presentados en la tabla 4 (selección de estudios de amplia

Tabla 4

Prevalencia de ACL en el anciano.-Estudios de base poblacional*

| Autor/año | Criterio Diagnóstico | ACL ▲ |
|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Park, 1988 ⁷⁹ | MMSE, MTS | 25% hombre 45% mujeres |
| Clarke, 1991 ⁸⁰ | MMSE, CAMDEX | 27%** |
| Kelman, 1994 ⁸¹ | MMSE | 33% |
| Hänninen, 1995 ⁸² | AACD (criterio) | 27% |
| Bermejo, 1997 ¹⁵ | MMSE, Pfeffer | 19-23%*** |
| Graham, 1997 ⁸³ | Test y examen clínico | 16,8% |
| Frisoni, 1999 ⁸⁴ | MMSE | 15,7% |
| Unverzagt, 2001 ⁸⁵ | Examen clínico | 23,4% |
| Hänninen, 2002 ⁸⁶ | CDR 0,5. Test memoria&& | 5,3%&& |
| Palmer, 2002 ⁶⁷ | MMSE | 4-14,8%*** |
| Bermejo,2002 ▲▲▲ | MMSE, Pfeffer | 13,8-19,9%*** |

* Selección, sólo estudios de base poblacional (censo, lista médica), n>500

▲ Alteración cognitiva leve, no demencia; && sólo sujetos 60-76 años

▲▲▲ datos de 1997 corregidos en 2002

** incluye "minimal dementia"

*** el porcentaje varía según el criterio diagnóstico, véase la tabla 5

MMSE: MiniMental State Exam; MTS: Mental Test Score

CAMDEX: Cambridge structured interview on dementia

Pfeffer functional scales (IADL scales)

AACD: IPA criteria for cognitive age-associated decline

Tabla 5.

Estudio NEDICES. Prevalencia de diversos tipos de alteración cognitiva (Participantes con estudio de MMSE y FAQ de Pfeffer; n=3.974)

| Entidades | Número de casos | | |
|---------------------------|-----------------|--------------|--------------|
| | <i>1DE</i> | <i>1,5DE</i> | <i>2 DE</i> |
| Demencia* | 172 | (82,5) | |
| Demencia dudosa* | 73 | (79,5) | |
| ACL** | 452 | 139 (76,1) | 55 |
| Alteración mnésica** | 338 | 448 (75) | 495 |
| Cognitivamente normales** | 2.939 | 3.142 (73) | 3.179 |
| Total | 3.974 | 3.974 | 3.974 |

*diagnóstico clínico; **diagnóstico psicométrico; () edad en años

Porcentajes:
 Demencia: 4,3% (IC95%= 3,7-4,9%); Demencia dudosa: 1,8% (IC95%=1,4-2,2%)
ACL 1DE; ACL=11,4% (IC95%=10,4-12,4%); Alteración mnésica=8,5% (IC95%=7,6-9,4)
 Suma de medias ACL y Alteración mnésica: **19,9%**
ACL 1,5DE; ACL=3,5% (IC95%=2,9-4,1%); Alteración mnésica= 11,3% (IC95%=10,3-12,3)
 Suma de medias ACL y Alteración mnésica: **14,8%**
ACL 2DE; ACL=1,4% (IC95%=1,0-1,8%); Alteración mnésica= 12,5% (IC95%=11,4-13,5)
 Suma de medias ACL y Alteración mnésica: **13,9%**

población, con criterios de inclusión explicitados a pié de tabla) muestran una prevalencia bastante variable, pero la prevalencia media se sitúa entre 15-20% de los ancianos. El estudio con una prevalencia del 5,3% (Hänninen, 2002⁸⁶) está realizado en una muestra poblacional de ancianos jóvenes, por lo que no es representativo de toda la población anciana. Con estos hallazgos se puede afirmar que la prevalencia de ACL es de dos a cuatro veces superior a la prevalencia de demencia en la población anciana.

Los datos del estudio NEDICES se presentan en la tabla 5 y en las figuras 1 y 5.

Se realizó cribado en 5.278 ancianos, y un contingente de de 3.974 mayores completaron MMSE y Pfeffer. En este grupo se obtuvieron 172 casos de demencia (diagnóstico del neurólogo acorde a criterios DSM-III- R), un 4,3% (IC95%= 3,7-4,9%), y 73 casos de demencia dudosa (diagnóstico del neurólogo efectuó), el 1,8% (IC95%=1,4-2,2%). Estos s casos (demencia y demencia dudosa) constituyeron en esta submuestra un 6,1%, un porcentaje levemente inferior al hallado en el total de la cohorte¹⁵. Las puntuaciones en el MMSE (M y DE) de los 3.729 mayores que no padecían demencia (o demencia dudosa) del grupo de 3.974 mencionado, se han utilizado para el cálculo del porcentaje de sujetos con ACL (n=3.729;MMSE, M=30,11; DE=4,81 puntos, para alfabetos y M=22,53;

DE=5,02 puntos para analfabetos). A la media de estas puntuaciones se descontaron 1, 1,5 y 2 DE (en alfabetos y analfabetos respectivamente) en los ancianos sin alteraciones de la capacidad funcional (FAQ de Pfeffer) y se obtuvieron las puntuaciones de los casos con ACL (ver tabla 5 y figura 5) (ACL psicométrica). La alteración mnésica objetiva definida como una puntuación 1,5 DE por debajo de la media en el recuerdo diferido de tres palabras en el MMSE de los sujetos cognitivamente y funcionalmente normales ($n=3.729$; MMSE, $M=1,82$; $DE=1,07$ puntos, para alfabetos y $M=1,59$; $DE=1,14$ puntos para analfabetos) que en la práctica es no recordar ninguna palabra. Esta alteración mnésica ha mostrado con capacidad predictiva de demencia⁸⁷. En suma, en esta submuestra un 6,1% padecían (demencia o demencia dudosa), y un 19,9% (1 DE de los cognitivamente no dementes) a 13,8% (2 DE, idem) ACL y alteración mnésica objetiva. Estas dos entidades sumadas eran casi tres veces más frecuente que la demencia. En este estudio la ACL aumentaba con el envejecimiento y fue más frecuente en mujeres, y en mayores de bajo nivel cultural.

Es conveniente tener en cuenta que en el epígrafe ACL del anciano hay diversos porcentajes de las entidades descritas, pues muchas no definen el mismo tipo de alteración cognitiva. En ese sentido de trabajo de Schroeder et al.⁸⁸ muestra que en una misma serie de mayores (60-64 años), los porcentajes de diversas entidades dentro de la ACL es variable : 13.5% padecían AAMI; 6.5% ACMI (alteración de la memoria consistente con la edad); 1.5% LLEF, (olvidos de la edad avanzada) y el 23.5% AACD o DCAE (deterioro cognitivo asociado a la edad), y existen otros trabajos semejantes⁸⁹.

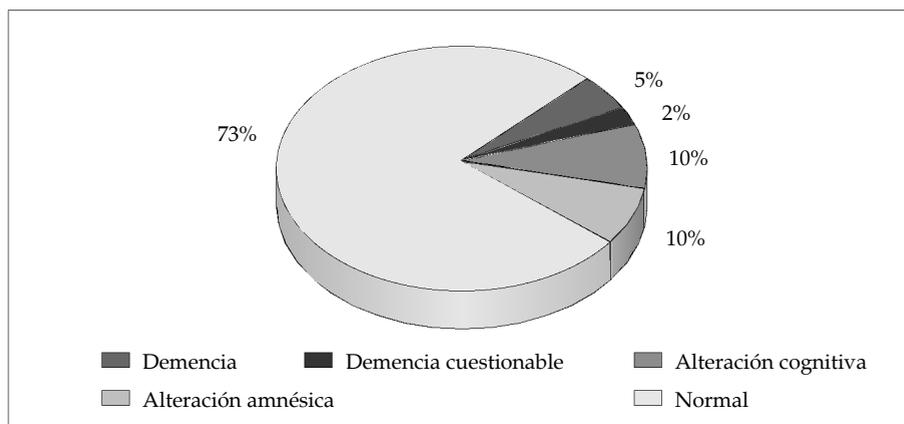


Figura 5

Tarta que representa en el estudio NEDICES la distribución porcentual de casos con demencia, demencia dudosa (diagnósticos del neurólogo) y alteración cognitiva y amnésica (diagnósticos psicométricos).

Incidencia de ACL en población normal

Muy pocos estudios analizan la proporción de personas que devienen con ACL desde la normalidad sobre todo desde una perspectiva poblacional o comunitaria. Kluger *et al.*⁹⁰ en una serie relativamente pequeña seguidos durante casi cuatro años detectan una conversión de la normalidad a ACL de un 5% al año, y de un 3% a demencia. Existen otros estudios con población muy anciana⁶⁷. Se requieren estudios más amplios. Los datos del estudio NEDICES al respecto no están todavía totalmente revisados y no se exponen.

Incidencia (conversión a demencia) en pacientes con ACL

En este epígrafe epidemiológico existen amplios datos. Se han descrito numerosas series clínicas (aunque sólo algunas tienen la referencia de un grupo control), diversos estudios de base poblacional y algunas cohortes voluntarias (véase la tabla 6 con una selección de estudios)

Tabla 6

Principales estudios evolutivos de Alteración Cognitiva Leve

| Clínicos controlados | Poblacionales | Cohortes voluntarias |
|--|-------------------------------|-----------------------------|
| Flicker, 1991 ⁵⁹ | Gussekloo, 1997 ⁹³ | Morris, 2001 ⁹⁸ |
| Bowen, 1997 ⁹¹ | Frisoni, 1999 ^{84*} | Bennett, 2002 ⁷² |
| Petersen, 1999 ⁹⁰ | Hogan, 2000 ⁹⁴ | |
| Kluger, 1999 ⁹⁰ | Kivipelto, 2001 ⁹⁵ | |
| Daly, 2000 ⁹² | Unverzagt, 2001 ⁹⁶ | |
| Ritchie, 2001 ⁸⁹ | Palmer, 2002 ^{67*} | |
| | Andersen, 2002 ⁹⁷ | |
| * análisis diferentes del Proyecto Kungsholmen, Estocolmo, Suecia. Véase la bibliografía | | |

Un análisis detenido de estos datos está fuera de la intención de esta revisión, se puede sintetizar afirmando que los datos indican que entre un 1-25% (media 12-15%) al año de los pacientes con ACL devienen dementes, frente al 1-2% de conversión a demencia de los sujetos cognitivamente sanos. Esta conversión suele alcanzar al 50% a los cinco años (aunque los estudios ofrecen datos muy diversos dependiendo de la definición de ACL, edad de la cohorte y tasa de mortalidad). Bennet *et al.*⁷² concluyen después de analizar su amplia cohorte de voluntarios que los sujetos con ACL tienen un riesgo relativo tres veces mayor (IC95%=2,1-4,5) que los cognitivamente normales

de padecer demencia. Además, de ser un factor de riesgo de demencia en esta cohorte, padecer ACL es un factor de mayor deterioro cognitivo y de mayor mortalidad. Lógicamente, no todos los miembros de las cohortes de ACL devienen dementes, un porcentaje que es variable en las series permanece cognitivamente estable, y un contingente a veces mayor mejora y deviene normal cognitivamente en la segunda revisión. En general la mortalidad es elevada en estos estudios evolutivos (véase el epígrafe subsiguiente). Para ejemplificar estas afirmaciones el estudio del Proyecto Kungsholmen de Estocolmo (Suecia)⁶⁷, una de las series evolutivas y poblacionales de ACL más amplias, muestra cómo a tres años en los ancianos con el diagnóstico de ACL, el 34% había muerto, el 35% había devenido en dementes, el 11% continuaba estable y el 25% había mejorado.

La edad, y el nivel cognitivo basal (a menor nivel cognitivo más riesgo) son los factores generales de riesgo más claros de conversión de la ACL a demencia, aunque como la ACL es un grupo heterogéneo según el subgrupo etiológico el riesgo de demencia cambia⁹⁴.

ACL y riesgo de muerte

Diversos estudios, fundamentalmente poblacionales analizan con detalle el riesgo de mortalidad de los pacientes que sufren ACL. Una reciente revisión⁹⁹ estudia la mayoría de los trabajos publicados al respecto (23 sobre alteración cognitiva y 32 sobre demencia), su conclusión es que la alteración cognitiva aunque sea leve o muy leve conlleva un incremento de riesgo de mortalidad con respecto a los cognitivamente normales.

ACL y factores de riesgo etiológicos y evolutivos

Un análisis pormenorizado de este epígrafe sería muy extenso. Pero es conveniente dejar constancia de algunos puntos. La ACL considerada en amplio sentido etiológico tiene múltiples factores causales y de riesgo como señalaron Colsher y Wallace⁶ y otros^{7, 31, 75}. La tabla 7 ilustra este concepto. En esta concepción los factores de riesgo vasculares durante la adultez y la mala salud general son claros factores de riesgo^{35, 36, 99-102}. Si la ACL se restringe a ancianos con buena salud y pérdida de memoria objetiva, los factores de riesgo son los test psicométricos (sobre todo de memoria), la edad, hallazgos de neuroimagen (atrofia hipocámpica) o genéticos (ApoE4), pues predicen la aparición de demencia o de enfermedad de Alzheimer^{75, 92, 98, 103-105}.

Tabla 7

Alteración cognitiva leve . Principales etiologías y FR*.

| |
|--|
| <p>Enfermedades sistémicas crónicas</p> <p>Hipertensión y enfermedades cardiovasculares</p> <p>Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</p> <p>Diabetes</p> <p>Fallo renal crónico</p> <p>Cáncer</p> <p>Enfermedades tiroideas</p> <p>Otros</p> <p>Plurimedicación (sobre todo psicotropa)</p> <p>Depresión y otras alteraciones psiquiátricas</p> <p>Defectos sensoriales (ceguera, sordera)</p> <p>Enfermedades neurodegenerativas en fases incipientes (EA, Pick, DCL)</p> <p>Otras enfermedades cerebrales en fases iniciales (lesiones cerebrales de origen vascular)</p> <p>Hábitos tóxicos (alcoholismo, drogas)</p> <p>Exposición a tóxicos ambientales (mercurio, plomo, otras)</p> <p>Miscelánea (apnea del sueño, pluripatología, y otras)</p> |
| <p><i>*Tabla realizada con datos de diversos autores y principalmente de Colsher y Wallace, 1991</i></p> <p>Abreviaturas: FR: factores de riesgo; EA: enfermedad de Alzheimer; DCL: Demencia por Cuerpos de Lewy</p> <p>En negrita, etiologías frecuentes</p> |

Otro aspecto muy importante de esta entidad es la imperiosa necesidad de su tratamiento (prevención de la demencia) con medidas sobre los factores de riesgo de ACL y demencia (vasculares sobre todo)^{35, 36} o terapia farmacológica^{106, 107} que impida o retrase la evolución de la ACL a demencia. Tarea que cada vez será más importante en la práctica médica, pues una vez establecida la demencia su terapia tiene poco éxito con la terapia actual.

Conclusiones

La alteración cognitiva leve del anciano es un concepto emergente. Hay que considerarlo como una entidad útil en la práctica médica para readaptar la realidad de la distribución continua del rendimiento cognitivo en el anciano a las antiguas entidades categoriales del diagnóstico médico: normalidad cognitiva y demencia. Entre ambas se precisa un constructo, la alteración o deterioro cognitivo leve que no supone demencia.

La alteración cognitiva leve no ha entrado aún en muchos textos de Medicina, pero lo va a hacer en el futuro, pues ya existen definiciones precisas y

estudios sobre las principales entidades descritas dentro de esta etiqueta diagnóstica, que es clínica y etiológicamente heterogénea como el síndrome de la demencia.

La más frecuente manifestación clínica de la ACL es la pérdida de memoria asociada o no a un leve declive de otras capacidades cognitivas y funcionales. Su prevalencia es alta (una tres veces más frecuente que la demencia, aunque esta frecuencia depende de su definición, entre otras variables). Conlleva riesgo elevado de evolución a demencia (más de 10% anual y alrededor del 50% en 5 años), y de mortalidad.

La ACL es en la actualidad la diana terapéutica (prevención y tratamiento farmacológico) ideal para retrasar o evitar la progresión a demencia de muchos casos que se inician por ella.

Agradecimientos

A Dña Rocío Trincado, estadística becaria del estudio NEDICES por su precisión de datos del primer corte para esta presentación, y en general a los colaboradores de este estudio que se listan:

Especialistas y neurólogos: Jaime Díaz G, Cristina Fernández, JA Molina S, Javier Olazarán, Javier Rodríguez, Julián Benito-León, S Vega, Félix Bermejo P y Alberto Portera

Supervisores de área: Fernando Pérez del Molino, Jesús Rivera C, Margarita Alonso, Candelas Gómez M y Carmen Saiz

Informático: Guillermo Fernández J; **Análisis estadístico:** Rocío Trincado y Paz Rodríguez

Epidemiólogos: J M Morales y Rafael Gabriel S; **Asesores externos:** DW Anderson y WA Rocca,

A la asociación AEINN por el acceso a su Biblioteca

Bibliografía

1. Plum F. Dementia: an approaching epidemic. *Nature*, 1979, 279; 372-373.
2. Ernst RL y Hay JW. The US economic and social costs of Alzheimer's disease revisited. *Am J Public Health*, 1994; 84:1261-64
3. Bermejo F P, Rivera JN, Trincado RS, Olazarán JR, Morales JM, edit. *Problemas sociales y familiares de los pacientes con demencia. Datos de un estudio poblacional en Madrid*. Díaz de Santos. Madrid. 1997
4. Whitehouse PJ. Alzheimer's disease: an international public health problem- Clinical goals, strategies, and outcomes. En: Brioni JD y Decker MW, eds. *Pharmacological treatment of Alzheimer's Disease*. NY. Wiley-Liss. 1997; 331-344
5. Ritchie K y Kildea D. Is senile dementia "age-related" or "ageing-related"?- evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old. *Lancet*, 1995;346:931-34
6. Colsher PL y Wallace RB. Epidemiological considerations in studies of cognitive function in the elderly: Methodology and non-dementing acquired dysfunction. *Epidemiol Rev*, 1991, 13:1-34
7. Eibly EM, Hogan DB y Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the Canadian Study of Health and Aging. *Arch Neurol*, 1995; 52:612-619
8. Bermejo F, Vega S, Olazarán J, Fernández C, Gabriel R. Alteración cognitiva leve del anciano. *Rev Clin Esp*, 1998; 198:159-65
9. Petersen R. C; Doody R; Kurz A et al. Current concepts in Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol* 2001; 58:1985-1992
10. Yesavage JA, O'Hara R, Kraemer H, et al. Modeling the prevalence and incidence of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Psychiatr Res*, 2002; 36:281-6
11. Petersen R. C, Stevens J, Ganguli M, et al. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment. *Neurology*. 2001;56:1133-1142
12. Kelman HR, Thomas C, Kennedy JL y Cheng J. Cognitive impairment and mortality in older community residents. *Am J Public Health*, 1994; 84:1255-60
13. Bermejo F, Alom J, Peña-Casanova J et al. Registro multicéntrico de casos incidentes de demencia. Un estudio del grupo de demencias de la Sociedad Española de Neurología. *Neurología*, 1994; 9:401-406
14. Bermejo FP, Gabriel RS, Vega SQ, Morales JM, Rocca WA, Anderson DW. Problems and issues with door to door, two phases surveys: An illustration from Central Spain. *Neuroepidemiology*, 2001;20:225-231
15. Bermejo FP, Portera A, Gabriel RS et al. The prevalence of dementia and cognitive impairment in three sites in Central Spain. A door-to-door study in the elderly. *Neuroepidemiology*, 1997; 16:7
16. Birren JE y Sloane RB, eds. "Handbook of Mental Health and Aging". NJ. Prentice Hall Inc. 1980
17. Craik FIM y Trehub S, eds. Aging and cognitive processes. vol. 8. NY. Plenum. 1982
18. Arenberg, D. Memory and learning do decline later in life. En: "Normal Human Aging: The Baltimore Longitudinal Study". Washington. US Department. NIH Pub no. 84-2450. 1984; App.1;40-51
19. Busse EN y Maddox GL. "The Duke longitudinal study". NY. Springer Pub. Co. 1985
20. Fozard, JL. Psychology of aging.- Normal and pathological ages differences in memory. En: "Geriatric Medicine and Gerontology". Brocklehurst T, edit. Ch. Edinburgh. Livingstone. 1985; 122-144

21. Milne, JS. "Clinical effects of ageing. A longitudinal study". London. Croom Helm. 1985
22. Poon LW. "Handbook for clinical memory assessment of older adults". Washington DC. American Psychological Association. 1985
23. Thomae H. Psychology of aging.- Personality and its attributes. En: "Geriatric Medicine and Gerontology". Brocklehurst T, eds. Edinburgh. Livingstone. 1985; 105-144
24. Binks, M. Changes in mental functioning associated with normal aging. En: "Clinical Neurology of Old Age". Tallis R, edit. Chichester. Willey & Sons. 1989; 28-39
25. Birren JE y Schaie WK, eds. "Handbook of the psychology of aging". Third Edit. San Diego. Academic Press. 1990;
26. Storandt M. Longitudinal studies of aging and age-associated dementias. En: "Handbook of Neuropsychology". Vol. 4. Boller F y Grafman J, eds. Amsterdam. Elsevier. 1990; 349-364
27. Boller F y Grafman J, eds "Handbook of Neuropsychology". Vol. 5. Amsterdam. Elsevier. 1991
28. Yanagihara T, Petersen RC, eds. "Memory disorders". NY. Marcel Dekker. 1991
29. Wallace RB and Woolson RF, eds "The epidemiologic study of the elderly". Oxford University Press. NY. 1992
30. La Rue A. "Aging and Neuropsychological Assessment". NY. Plenum Press. 1992
31. Bermejo FP, edit. "Nivel de salud y deterioro cognitivo en los ancianos". Barcelona. SG Editores. 1993
32. Fillit HM, Butler RN, eds. "Cognitive Decline. Strategies for prevention". Oxford University Press. London. 1997
33. Kalmijn S. "Risk factor for cognitive decline". Thesis Pub. Amsterdam. 1997
34. Tröster AI, ed. "Memory in neurodegenerative disease. Biological cognitive and clinical perspectives". Cambridge Univ Press. Cambridge. 1998
35. Bermejo FP, Gabriel R, Fernández C, Hofman A. Vascular risk factors and cognitive impairment in the elderly. *Cardiov Risk Factors*, 1999, 9:39-49
36. Fernández CG, Bermejo FP, Gabriel RS. Factores de riesgo vascular y alteración cognitiva en el anciano. *Rev Clin Esp* 1999; 199:456-64
37. Wilcock GK, Bucks RS, Rockwood K, Eds. Diagnosis and management of dementia. Oxford: Oxford University Press, 1999
38. Baldereschi M, Meneghini F, Quiroga P, et al. Cognitive versus functional screening for dementia across different countries: cross-cultural validation of the Mini-Mental State Examination (MMSE) and the Pfeffer activities questionnaire (PFAQ) against the standardised clinical diagnosis of dementia. *Neurology*, 1994; 44:(suppl 2):A365
39. Jorm AF y Henderson AS. Possible improvements to the diagnostic criteria for dementia in DSM-III. *Br J Psychiat*, 1985; 147:384-399
40. Petersen RC. Normal, aging, mild cognitive impairment, and early Alzheimer's disease. *Neurologist*, 1995; 6:328-344
41. Bermejo FP, López LG, Pascual LFM, Morales FA. Trastornos de memoria y deterioro cognitivo en el anciano. En: *Demencias: conceptos actuales*. Bermejo FP y del Ser T, eds. Díaz de Santos. Madrid. 1993; 39-52
42. Sliwinski M, Lipton RB, Buschke H, Stewart W. The effects of preclinical dementia on estimates of normal cognitive functioning in aging. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 1996; 51:P217-25
43. Morris JC. The nosology of dementia. *Neurol Clin*, 2000; 18:773-788
44. Tobiansky R, Blizard R, Livingston G, Mann A. The Gospel Oak Study stage IV: the clinical relevance of subjective memory impairment in older people. *Psychol Med*, 1995; 25:779-86

45. Ponds RW, Commissaris KJ, Jolles J. Prevalence and covariates of subjective forgetfulness in a normal population in The Netherlands. *Int J Aging Hum Dev*, 1997; 45:207-21
46. Jonker C, Geerlings MI, Schmand B. Are memory complaints predictive for dementia? A review of clinical and population-based studies. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2000; 15:983-91
47. Kral VA. Senescent forgetfulness. Benign and malignant. *J Can Med Assoc*, 1962; 86:257-260
48. Kral VA. Memory loss in the aged. *Dis Nerv Syst*, 1966; 27 (suppl 1):51-54
49. Crook T, Bartus Rt, Ferris SF et al. Age associated memory impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical change- Report of a National Institute of Mental Health Work Group. *Dev Neuropsychol*, 1986; 24:261-276
50. Ferris SH, Flicker C, Reisberg B y Crook T. Age-associated memory impairment, benign forgetfulness and dementia. En: "Diagnosis and treatment of senile dementia ". Bergener M y Reisberg B, eds. Berlin. Springer-Verlag. 1989;72-82
51. Crook TH, Larrabee GJ y Youngiohn JR. Diagnosis and assessment of age-associated memory impairment. *Clin Neuropharmacol*, 1990; 13:S81-S91
52. Blackford RC, La Rue A. Criteria for diagnosing age-associated memory impairment proposed from the field. *Dev Neuropsychol*, 1989; 5: 295-305
53. Kluger A, Golomb J, Ferris SH. Mild cognitive impairment. En: *Evidence-based Dementia Practice*. Qizilbash N, Schneider L, Chui H, Tariot P, Brodaty H, Kaye J, Erkinjuntti T. (Eds) Blackwell Publishing, Oxford. 2002; 154-161 (www.ebdementia.info, algunos capítulos)
54. Dawe B, Procter A, Philpot M. Concepts of mild memory impairment in the elderly and their relationship to dementia- A review. *Int J Geriatr Psychiat*, 1992; 7:473-479
55. Ritchie K, Touchon J. Mild cognitive impairment: conceptual basis and current nosological status. *Lancet*, 2000; 355:225-228
56. Blanchet S, McCormick L, Belleville S, Gely-Nargeot MC, Joannette Y. Les troubles cognitifs légers de la personne âgée: revue critique. *Rev Neurol (Paris)*, 2002; 158:29-39.
57. Hughes CP, Berg L, Danzinger WL et al. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiat*, 1982, 140:566-572
58. Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiat*, 1982; 139:1136-1139
59. Flicker C, Ferris SH, Reisberg B. Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology*, 1991; 41:1006-1009
60. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, 1999; 56:303-8
61. Levy R. Ageing-associated cognitive decline. *Int Psychogeriatr*, 1994, 6:63-68
62. American Psychiatric Association. DSM-IV. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Washington DC. 1994
63. WHO. ICD-10. Chapter V. *Mental, behavioral and developmental disorders*. (Draft). WHO. Geneva. 1988
64. O'Connor DW, Pollitt PA, Jones BJ et al. Continued clinical validation of dementia diagnosis in the community using the Cambridge Mental Disorders in the Elderly Examination. *Acta Psychiat Scand*, 1991; 83: 41-45
65. Ebly EM, Hogan DB y Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the Canadian Study of Health and Aging. *Arch Neurol*, 1995; 52:612-619
66. Rockwood K, Ebly E, Hachinski V, Hogan D. Presence and treatment of vascular risk factors in patients with vascular cognitive impairment. *Arch Neurol*, 1997; 54:33-39
67. Palmer K, Wang HX, Backman L, Winblad B, Fratiglioni L. Differential evolution of cognitive impairment in nondemented older persons: results from the Kungsholmen Project. *Am J Psychiatry*, 2002; 159:436-42

68. García de la Rocha, M. L y Olazarán Rodríguez, J. Trastorno cognitivo asociado a la edad frente a deterioro cognitivo ligero. En: *Grupo de Estudio de Neurología de la Conducta y Demencias de la SEN: Guías en demencias*. Barcelona: Masson S.A. 2000:9-13
69. Robles A, Del Ser T, Peña-Casanova J y Grupo Asesor de Neurología de la conducta y demencias de la Sociedad Española de Neurología. Propuesta de criterios para el diagnóstico clínico del deterioro cognitivo ligero, la demencia y la Enfermedad de Alzheimer. *Neurología*, 2002; 17: 17-32
70. Hanninen T, Hallikainen M, Koivisto K, Partanen K, Laakso MP, Riekkinen PJ, Sr, Soininen H. Decline of frontal lobe functions in subjects with age-associated memory impairment. *Neurology*, 1997; 48:148-53
71. Small AS. Age-related memory decline. Current concepts and future directions. *Arch Neurol*, 2001; 58:360-364
72. Bennett DA, Wilson RS, Schneider JA, et al. Natural history of mild cognitive impairment in older persons. *Neurology*, 2002;59:198-205
73. Bermejo FP, Castilla JG, Muñoz D, F, Trincado R, Vega S, Gabriel R. Functional (FAQ of Pfeffer) and cognitive decline and in an elderly cohort. Preliminary data from the NEDICES Study. *J Neurol Sci*, 2001; 187 (suppl.: 1): S47
74. Artero S, Touchon J, Ritchie K. Disability and mild cognitive impairment: a longitudinal population-based study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2001; 16:1092-7.
75. Portin R, Muuriaisniemi ML, Joukamaa M, Saarijarvi S, Helenius H, Salokangas RK. Cognitive impairment and the 10-year survival probability of a normal 62-year-old population. *Scand J Psychol*, 2001; 42:359-66
76. Ritchie K, Leibovici D, Ledesert B, Touchon J. A typology of sub-clinical senescent cognitive disorder. *Br J Psychiatry*, 1996; 168:470-6.
77. Laakso MP. Structural imaging in cognitive impairment and the dementias: an update. *Curr Opin Neurol*, 2002; 15:415-21
78. Small GW. Brain-imaging surrogate markers for detection and prevention of age-related memory loss. *J Mol Neurosci*, 2002; 19:17-21
79. Park JH, Ha JC. Cognitive impairment among elderly in a Korean rural community. *Acta Psychiatr Scand*, 1988; 77: 52-57
80. Clarke M, Jagger C, Anderson J et al. The prevalence of dementia in a total population: A comparison of two screening instruments. *Age Ageing*, 1991; 20:396-403
81. Kelman HR, Thomas C, Kenndy JL y Cheng J. Cognitive impairment and mortality in older community residents. *Am J Public Health*, 1994; 84:1255-60
82. Hänninen T, Koivisto K, Reinikainen KJ. Prevalence of ageing-associate cognitive decline in an elderly population. *Age Ageing*, 1996; 25: 201-205
83. Graham JE, Rockwood K, Beastie BL, et al. Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population. *Lancet*, 1997;349:1793-1796
84. Frisoni GB, Fratiglioni L, Fastbom J, Viitanen M, Winblad B. Mortality in nondemented subjects with cognitive impairment: the influence of health-related factors. *Am J Epidemiol*, 1999; 150:1031-44
85. Unverzagt FW, Gao S, Baiyewu O, et al. Prevalence of cognitive impairment: data from the Indianapolis Study of Health and Aging. *Neurology*, 2001; 57:1655-62
86. Hanninen T, Hallikainen M, Tuomainen S, Vanhanen M, Soininen H. Prevalence of mild cognitive impairment: a population-based study in elderly subjects. *Acta Neurol Scand*, 2002; 106:148-54
87. Olazarán J, Trincado R, Benito-León J, Ochoa M, Rivera J, Villanueva C, Bermejo F. Selective memory impairment on a modified version of the Mini-Mental State Examination predicts dementia. *Neurology*, 2000, 54: (suppl.3): A396

88. Schroder J, Kratz B, Pantel J, Minnemann E, Lehr U, Sauer H. Prevalence of mild cognitive impairment in an elderly community sample. *J Neural Transm, Suppl* 1998;54:51-9
89. Ritchie K, Artero S, Touchon J. Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology*, 2001; 56:37-42
90. Kluger A, Ferris SH, Golomb J, Mittelman MS, Reisberg B. Neuropsychological prediction of decline to dementia in nondemented elderly. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 1999; 12:168-79
91. Bowen J, Teri L, Kukull W, McCormick W, McCurry SM, Larson EB. Progression to dementia in patients with isolated memory loss. *Lancet*, 1997; 349:763-765
92. Daly E, Zaitchik D, Copeland M, Schmahmann J, Gunther J, Albert M. Predicting conversion to Alzheimer disease using standardized clinical information. *Arch Neurol*, 2000; 57:675-80
93. Gussekloo J, Westendorp RG, Remarque EJ, Lagaay AM, Heeren TJ, Knook DL. Impact of mild cognitive impairment on survival in very elderly people: cohort study. *BMJ*, 1997; 315:1053-4
94. Hogan DB, Eby EM. Predicting who will develop dementia in a cohort of Canadian seniors. *Can J Neurol Sci*, 2000; 27:18-24
95. Kivipelto M, Helkala EL, Hanninen T, et al. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology*, 2001;56:1683-9.
96. Unverzagt FW, Gao S, Baiyewu O et al. Prevalence of cognitive impairment: data from the Indianapolis Study of Health and Aging. *Neurology*, 2001; 57:1655-62
97. Andersen K, Nybo H, Gaist D, et al. Cognitive impairment and mortality among nonagenarians: the Danish 1905 cohort survey. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2002;13:156-63.
98. Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL, Rubin EH, Berg L. Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2001; 58:397-405
99. Dewey ME, Saz P. Dementia, cognitive impairment and mortality in persons aged 65 and over living in the community: a systematic review of the literature. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2001; 16:751-61.
100. Frisoni GB, Fratiglioni L, Fastbom J, Guo Z, Viitanen M, Winblad B. Mild cognitive impairment in the population and physical health: data on 1,435 individuals aged 75 to 95. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000; 5:M322-8.
101. González-Montalvo JA, García de Blas F, Bermejo FP. ¿Existe relación entre la capacidad cognitiva del anciano y su salud general? *Rev Esp Geriatr Gerontol*, 1989; 24:258-265
102. DeCarli C, Miller BL, Swan GE, Reed T, Wolf PA, Carmelli D. Cerebrovascular and brain morphologic correlates of mild cognitive impairment in the National Heart, Lung, and Blood Institute Twin Study. *Arch Neurol*, 2001; 58:643-7
103. Jack CR Jr, Petersen RC, Xu YC et al. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology*, 1999; 52:1397-403
104. Devanand DP, Folz M, Gorlyn M, Moeller JR, Stern Y. Questionable dementia: clinical course and predictors of outcome. *J Am Geriatr Soc*, 1997; 45:321-8
105. Marquis S, Moore MM, Howieson DB, Sexton G, Payami H, Kaye JA, Camicioli R. Independent predictors of cognitive decline in healthy elderly persons. *Arch Neurol*, 2002; 59:601-6
106. Riedel WJ, Jolles J. Cognition enhancers in age-related cognitive decline. *Drugs Aging*, 1996; 8:245-274
107. Sramek JJ, Veroff AE, Cutler NR. The status of ongoing trials for mild cognitive impairment. *Expert Opin Investig Drugs*, 2001; 10:741-52

CAPÍTULO 14

TRATAMIENTO DEL DETERIORO COGNITIVO LEVE

SONIA GALLEGO SANDÍN, JESÚS NOVALBOS y
ANTONIO G. GARCÍA

*Instituto Teófilo Hernando,
Departamento de Farmacología y Terapéutica,
Facultad de Medicina, Servicio de Farmacología
Clínica, Instituto Universitario de Investigaciones
Gerontológicas y Metabólicas,
Hospital Universitario de la Princesa,
Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

El deterioro cognitivo leve (DCL) se caracteriza por una pérdida reciente y ligera de memoria, más allá de la pérdida que cabría esperar considerando la edad y el nivel educativo del paciente¹. En los pacientes con DCL no hay demencia ni tampoco afectación significativa de otras funciones cognitivas (tabla 1). Es un cuadro que difiere de la simple pérdida de memoria asociada a la edad, que no suele ser progresiva. Aunque con dudas, el DCL podría catalogarse como un estado de transición entre la función cognitiva normal

Tabla 1

Criterios diagnósticos del deterioro cognitivo leve¹.

- Quejas de pérdida de memoria, preferiblemente corroborado por otra persona (familiar o cuidador)
- Alteración de la memoria con respecto a lo que correspondería para la edad y el nivel educativo
- Función cognitiva general conservada
- Actividades de la vida diaria intactas
- No cumple criterios para diagnóstico de demencia

para la edad y un estado de demencia leve; de hecho, nada menos que el 10-15% de estos pacientes evolucionan cada año a un cuadro de enfermedad de Alzheimer comparado con el 1-2% de los sujetos sanos de la misma edad^{1,2}. De ahí la importancia que reviste el diagnosticar y tratar adecuadamente a los pacientes con DCL, ya que puede prevenir o enlentecer su evolución a una enfermedad de Alzheimer.

Que la pérdida de memoria puede revertirse se demuestra en el curioso experimento que publicaron Schaie y Willis en 1986³. Seleccionaron una población de ancianos de 72,8 años de edad media. Los ancianos no sufrían demencia, vivían en residencias y tenían un nivel educativo similar. Los autores practicaron varias pruebas de memoria y aprendizaje al inicio del experimento, y los volvieron a repetir 14 años después. Tras este periodo, casi la mitad de los ancianos mostró un deterioro cognitivo significativo, en relación al momento en que se inició el experimento. Ello indica la alta prevalencia de los déficits de memoria asociados a la edad. Pero lo sorprendente fue la segunda parte del experimento. Schaie y Willis aplicaron un entrenamiento cognitivo intensivo a los pacientes con déficit de memoria. Los sujetos "deteriorados" recuperaron el nivel cognitivo que presentaban cuando se inició el estudio 14 años antes. Ello demuestra que aún en la vejez, el cerebro conserva un elevado grado de plasticidad, y que la pérdida de memoria puede frenarse y aún revertirse, con tal de que se intervenga precozmente. De hecho, el número de neuronas no disminuye con la edad; lo que se deteriora con la edad es su capacidad funcional⁴ que puede, por tanto, mejorarse.

Resulta problemático tratar un proceso del que se ignoran sus causas y su patogenia, caso del DCL. Además, su variable historia natural nos dice que en unos casos el deterioro permanecerá estancado, mientras que en otros evolucionará a un cuadro de demencia^{5,6}. Lo que sí está claro es que 1º) la intervención precoz puede enlentecer el proceso de deterioro cognitivo; y 2º) hoy disponemos de medidas terapéuticas, farmacológicas y no farmacológicas, que podrían mejorar la memoria en ancianos con DCL, que analizamos a continuación. La eficacia de la citicolina en estas situaciones clínicas se evalúa en el capítulo 15.

Programas de entrenamiento de memoria

Estos programas se idearon para mejorar la memoria y el rendimiento mental del anciano⁷. Se ha demostrado que estos programas permiten al anciano aprender técnicas que mejoran la memoria secundaria (capacidad para adquirir nueva información, y para recordar la información una vez ha pasado a la memoria secundaria o lejana).

Los problemas de memoria son más frecuentes cuando los ancianos se apartan de su rutina habitual, están cansados, no están concentrados o se encuentran en una situación de estrés. En ancianos no dementes, los déficits de memoria son esencialmente debidos a la reducción de la atención que producen la ansiedad, las preocupaciones o las obsesiones. Así, Yesavage⁸ observó que la reducción de la ansiedad mediante un entrenamiento de relajación aumentaba la capacidad de los ancianos para aprender un método mnemotécnico y, por tanto, de mejorar la rememoración de experiencias depositadas en la memoria secundaria. La utilización de ansiolíticos benzodiazepínicos puede aumentar la eficacia de esta técnica; sin embargo, debe considerarse que estos fármacos producen trastornos de memoria por sí mismos. Por otra parte, cuando el anciano está deprimido, el tratamiento farmacológico de su depresión reduce con frecuencia los síntomas del deterioro cognitivo.

Habitualmente, los jubilados y los ancianos utilizan menos su memoria que cuando trabajaban. Así, pues, la disminución de la capacidad de rememoración puede deberse simplemente a la falta de actividad. Aquí viene a cuento la frase de Sir Martin Roth: "úsala o piérdela", refiriéndose a la memoria. Por ello, los ancianos pueden beneficiarse de estrategias de repetición de hechos, categorización de datos y uso de reglas mnemotécnicas. Por sí sola la categorización puede proporcionar importantes efectos beneficiosos cuando se le dan al anciano instrucciones específicas de repetir y rememorar por categorías los temas de información. Un ejemplo; se le indica al anciano que recuerde los fármacos que debe tomar, agrupados por categorías (para el corazón, para el funcionamiento intestinal, para el dolor de la artrosis). Los temas se recuerdan mejor utilizando palabras clave, o practicando y repitiendo una determinada información.

Las ayudas visuales externas son muy importantes, por ejemplo, listas, cuaderno de notas, calendarios, colocar "recordatorios" en lugares visibles, otras personas que repitan la información a los ancianos, luces de alerta en hornillos eléctricos de cocina, y otras medidas de seguridad. Los ancianos recuerdan mejor las imágenes; por ello, es recomendable utilizar símbolos de alimentos para el comedor, o sillas y TV para el salón. Las ayudas visuales internas son también útiles; se trata de concentrarse más, de crear imágenes, o tratar de encontrar asociaciones.

Los tratamientos farmacológicos prescritos se olvidan con facilidad; más de la mitad de los pacientes ancianos incumplen la pauta terapéutica prescrita o cometen errores. Por ello, para disminuir estos errores y mejorar el cumplimiento, es útil ofrecer a los pacientes instrucciones escritas fáciles de leer, y hacer que las repitan conscientemente, y que utilicen calendarios o dosificadores de medicación con un programa semanal.

El estudio farmacológico de la memoria ha despertado un inusitado interés en la última década, debido al progresivo envejecimiento de la población y a la mayor prevalencia de las enfermedades cerebrales. Además, se piensa que el tratamiento precoz del deterioro cognitivo podría retrasar su progresión a demencia. A continuación analizaremos los fármacos que han demostrado eficacia para mejorar la memoria o retrasar el proceso de deterioro cognitivo (tabla 2).

Tabla 2

Medicaciones que podrían mejorar la memoria y retrasar el proceso de deterioro cognitivo.

- Nootropos: piracetam
- Antioxidantes: selegilina, vitamina E, extracto de *Ginkgo biloba*, estrógenos
- Antiinflamatorios no esteroideos inhibidores selectivos de la COX-2: rofecoxib, celecoxib
- Inhibidores de la acetilcolinesterasa: rivastigmina, donepezilo, galantamina
- Antagonistas no competitivos del receptor NMDA: memantina
- Protección de la membrana neuronal y precursor colinérgico: citicolina

Medicación nootropa

Giurgea⁹ acuñó el término nootropo ("noos", mente; "tropos", dirección) a partir de la peculiar farmacología del piracetam. Los nootropos actúan a nivel del telencéfalo, sobre las actividades cerebrales superiores, intelectuales o cognitivas, facilitando la actividad integradora cerebral. Hoy se acepta como nootropo a un fármaco que reúna las características siguientes¹⁰: a) mejora la actividad cognitiva y la memoria, particularmente en situaciones deficitarias metabólicas neuronales como en hipoxia, intoxicación, traumatismo, trombosis o envejecimiento natural; b) presenta muy escasos efectos secundarios, aún a dosis altas; c) no posee por sí mismo efectos cerebrovasculares, que puedan explicar indirectamente sus efectos telencefálicos; d) no actúa directamente sobre estructuras subcorticales (formación reticular, sistema límbico). Además del original piracetam, hoy disponemos de otros derivados como oxiracetam, etiracetam, pramiracetam o aniracetam.

Los nootropos estimulan la síntesis de fosfolípidos de membrana, previamente deprimida por la edad o por lesiones cerebrovasculares. También estimulan la captación de colina en las terminaciones nerviosas colinérgicas, lo que sugiere una activación indirecta de sistemas colinérgicos centrales involucrados en fenómenos de aprendizaje y memoria¹¹.

Los ensayos clínicos con piracetam, en la pérdida de memoria asociada a la edad, demuestran cierta mejoría en el grado de alerta, astenia, irritabilidad, capacidad para relacionarse y memoria a corto plazo^{11, 12}. No obstante, en una revisión reciente de la "Colaboración Cochrane", se concluye que los estudios disponibles actualmente no apoyan la eficacia del piracetam en el tratamiento de pacientes con demencia o deterioro cognitivo¹³.

Antioxidantes

El estrés oxidativo se ha asociado a la muerte neuronal en áreas del lóbulo temporal medio (hipocampo en particular), en pacientes con DCL o enfermedad de Alzheimer. Por ello se ha sugerido el uso de antioxidantes, que interrumpen la encrucijada metabólica que desencadena la lesión y muerte neuronal vía radicales libres. La actividad excesiva de la monoamino oxidasa podría ser una de las causas de producción exagerada de radicales libres; de ahí la sugerencia de utilizar el inhibidor selegilina, que mejora ligeramente la cognición en pacientes con enfermedad de Alzheimer¹⁴.

Otro antioxidante es la vitamina E (α -tocoferol), un secuestrador de radicales libres que parece retrasar la progresión de la enfermedad de Alzheimer, aunque no mejoró la cognición tras 2 años de tratamiento¹⁴. Sin embargo, en otro estudio se observó una relación directa entre niveles plasmáticos de α -tocoferol y cognición; los niveles más bajos se asociaron a un mayor deterioro cognitivo de los ancianos¹⁵. Como estos datos se han obtenido en pacientes con demencia, actualmente se está realizando un estudio de 3 años de seguimiento para comprobar la eficacia de la vitamina E para retrasar la evolución de un cuadro de DCL a otro de enfermedad de Alzheimer.

El extracto de *Ginkgo biloba* también posee efecto antioxidante y ha demostrado ser más eficaz que el placebo en algunos estudios realizados en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve o moderada¹⁶. En un ensayo clínico doble ciego que incluyó 31 pacientes con déficit de memoria leve a moderado, el extracto de *Ginkgo biloba* mejoraba algunas funciones cognitivas¹⁷; sin embargo son necesarios estudios con mayor seguimiento para comprobar si dicho extracto retrasa la progresión a enfermedad de Alzheimer.

Los estrógenos también se comportan como secuestradores de radicales libres, además de poseer efectos neurotróficos y neuroprotectores. Ello podría explicar los resultados de algunos estudios en mujeres postmenopáusicas u ovariectomizadas, en los que se ha demostrado que la terapia sustitutiva con estrógenos podría retrasar la progresión de la enfermedad de Alzheimer¹⁸. También se han observado los efectos beneficiosos de los estrógenos sobre la

memoria, en mujeres que no sufren demencia^{16, 18, 19}; pero como en el caso del *Ginkgo biloba*, son necesarios más estudios en sujetos con DCL, en los que se debe valorar el beneficio frente a los riesgos de la terapia hormonal sustitutiva.

Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

En fases precoces de la enfermedad de Alzheimer la activación de la microglia produce la liberación de mediadores de la inflamación tipo prostaglandinas, bradiquinina, interleuquinas o inhibidores de proteasas, lo que ocasiona una inflamación generalizada de la corteza cerebral y la muerte neuronal²⁰. De ahí que se haya pensado en los AINES como estrategia terapéutica. De hecho, la incidencia de enfermedad de Alzheimer, en pacientes de artritis reumatoide que toman un AINE, es 6-12 veces menor de la esperada²¹. En otro estudio longitudinal se observó que sólo el 25% de los pacientes de Alzheimer tomaban AINES, mientras que esta cifra ascendió al 50% de los pacientes no afectados por la enfermedad²².

El uso de los AINES clásicos (ibuprofeno, indometacina, naproxeno) para frenar el deterioro cognitivo progresivo presenta el problema de sus efectos tóxicos gastroerosivos y renales. De ahí que se haya dirigido la atención a los nuevos AINES, inhibidores selectivos de la COX-2 (ciclooxigenasa-2), celecoxib y rofecoxib, que poseen menos efectos tóxicos²³. En la actualidad se están realizando ensayos clínicos con estos fármacos, en pacientes con deterioro cognitivo leve².

Cognición y neurotransmisión colinérgica: inhibidores de la acetilcolinesterasa

Desde antiguo sabemos que los antagonistas muscarínicos tipo escopolamina producen un deterioro de la memoria, y que los agonistas muscarínicos mejoran el aprendizaje y la memoria en modelos animales. Más recientemente se han obtenido datos que sugieren que los agonistas de receptores nicotínicos también mejoran los procesos de aprendizaje y memoria. Hoy se acepta que mejorar la neurotransmisión colinérgica es invertir en memoria²⁴. De hecho, los inhibidores de la acetilcolinesterasa donepezilo²⁵, rivastigmina²⁶ y galantamina²⁷, que ya están en la clínica, han demostrado mejorar la memoria y retrasar el deterioro cognitivo en pacientes con enfermedad de Alzheimer; ello apoya la idea de la afectación de la neurona colinérgica como origen del deterioro cognitivo²⁸. El antagonista no competitivo del receptor glutamatérgico

NMDA (N-metil-D-aspartato) memantina, está demostrando también eficacia para mejorar el deterioro cognitivo del paciente demenciado²⁹. Puesto que en el anciano no se pierden neuronas, aunque se deteriore su función, es plausible que la activación neuronal colinérgica, por ejemplo con galantamina (que inhibe la acetilcolinesterasa, modula alostéricamente el receptor nicotínico y posee efecto antiapoptótico), pudiera ser una estrategia eficaz y complementaria para tratar los déficits de memoria propios de la enfermedad de Alzheimer³⁰, y quizás también los que no se asocian a una patología neurológica subyacente. Sin embargo, deben hacerse ensayos clínicos en ancianos con deterioro cognitivo leve, antes de que estos fármacos puedan prescribirse a estos pacientes; algunos de ellos ya están en marcha.

La citicolina, un protector de la membrana neuronal y un precursor de colina cerebral

La citicolina (CDP-colina) es un compuesto endógeno que se sintetiza por todas las células de los mamíferos para servir de intermediario en la vía principal de transformación de la colina en fosfatidilcolina, un fosfolípido esencial de la membrana neuronal³¹. Desde hace dos décadas la citicolina se utiliza como fármaco para el tratamiento de procesos cerebrales que cursan con un deterioro neuronal, sea agudo (infarto cerebral, traumatismo craneoencefálico) o crónico (enfermedades neurodegenerativas).

Tras su administración oral o parenteral, la citicolina libera sus dos componentes, citidina y colina. Su absorción por vía oral es prácticamente completa, como lo demuestra el hecho de que su biodisponibilidad oral sea igual a la intravenosa³². La citicolina atraviesa la barrera hematoencefálica y llega a cerebro, donde aumenta rápidamente la producción de acetilcolina y la neurotransmisión colinérgica. Más crónicamente, la citidina y la colina actúan sinérgicamente para estimular la síntesis de fosfatidilcolina, y se incorpora a los fosfolípidos de la membrana celular y de la fracción microsomal³³.

La citicolina activa la síntesis de los fosfolípidos estructurales de la membrana neuronal, incrementa el metabolismo cerebral y los niveles de dopamina y noradrenalina³⁴. Por otra parte, la citicolina restaura la actividad de la ATPasa mitocondrial y de la ATPasa dependiente de Na⁺ y K⁺ de la membrana, inhibe la fosfolipasa A₂ y acelera la reabsorción del edema cerebral. Estos mecanismos dotan al fármaco de propiedades neuroprotectoras, probablemente por regular la síntesis de fosfolípidos y la permeabilidad selectiva de la membrana neuronal. La fosfatidilcolina es uno de los componentes de la membrana celular que, durante la isquemia cerebral, se

degrada a ácidos grasos libres y radicales libres, que son altamente citotóxicos. La citicolina protege la membrana neuronal por un doble mecanismo: a) acelerando la resíntesis de fosfatidilcolina; y 2) suprimiendo la liberación de ácidos grasos libres. Desde la óptica de su seguridad, la citicolina es un fármaco con escasos efectos adversos, tanto a nivel de toxicología animal como en los numerosos ensayos clínicos realizados (ver Secades y Frontera, 1995³³).

Como consecuencia de la edad pueden ocurrir alteraciones de la función de la membrana a causa de una disminución de la síntesis o un aumento del catabolismo de los fosfolípidos, que conduce a un deterioro de la función cognitiva [34]. La evaluación clínica y las pruebas neuropsicológicas realizadas en pacientes con insuficiencia cerebral, enfermedad cerebrovascular crónica y demencia sugieren que la citicolina puede mejorar algunos de los déficits de memoria asociados a la edad³⁴.

Su efecto neuroprotector en situaciones de hipoxia e isquemia, y la mejoría en los rendimientos de aprendizaje y memoria en modelos animales de envejecimiento cerebral, son compatibles con los hallazgos de los ensayos clínicos, que han permitido establecer sus indicaciones en el tratamiento de la patología cerebral vascular, los traumatismos craneoencefálicos y los trastornos cognitivos de diversa etiología.

Citicolina y cognición: estudios en modelos animales

Los efectos de citicolina sobre la cognición se han analizado en un número considerable de estudios preclínicos (modelos animales) y clínicos. Se ha demostrado que la citicolina (tabla 3): a) mejora la memoria y el aprendizaje en ratas viejas³⁵; b) mejora la coordinación, el aprendizaje y la memoria en ratas viejas con alteraciones cognitivas y motoras³⁶; c) disminuye los déficits de memoria que presentan las ratas expuestas a alcohol durante la gestación y la lactancia³⁷; d) mejora la memoria en ratas con deterioro de memoria producido por escopolamina, clonidina, electrochoque, hipoxia o alcohol durante la preñez³⁸; e) restaura parcialmente el rendimiento del aprendizaje deteriorado por hipoxia en ratas³⁹; f) atenúa los déficits de memoria espacial producidos por lesión traumática cerebral⁴⁰; g) mejora la memoria y previene la amnesia por escopolamina en ratones⁴¹; h) el tratamiento crónico (4 meses) previene el deterioro del aprendizaje y la memoria en ratones viejos⁴²; i) en el perro mejora el aprendizaje y el recuerdo, sin afectar los sistemas motor, neurovegetativo y motivacional⁴³. En los estudios realizados en roedores, el efecto facilitador del aprendizaje y la memoria fue similar con citicolina y otros nootropos como el piracetam⁴⁴.

Tabla 3

La citicolina mejora el aprendizaje y la memoria en varios modelos animales.

| Referencia | Modelo animal | Tratamiento | Resultado |
|---|--|---|---|
| Saligaut y Boismare, 1987 ³⁹ | Ratas sometidas a hipoxia hipobárica | Citicolina 12 días vía oral | Restaura parcialmente los rendimientos de aprendizaje |
| Petkov y col, 1990 ³⁵ | Ratas de 2, 5, 10 y 22 meses de edad | Citicolina 7-10 días vía oral | Facilita el aprendizaje y mejora la memoria, especialmente en las ratas de más edad |
| Mosharrof y Petkov, 1990 ⁴¹ | Ratones sin y con administración de escopolamina | Citicolina dosis única 1 h antes de la prueba | Mejora la memoria a las 24 h y a los 7 días y previene totalmente la amnesia por escopolamina |
| Agut y Ortiz, 1991 ⁴² | Ratones de 13 meses comparados con 4 meses | Citicolina 4 meses vía oral | Previene el deterioro del aprendizaje y la memoria que se produce en ratones viejos |
| Petkov y col, 1991 ³⁷ | Ratas de 12 semanas expuestas a alcohol perinatal | Citicolina 5 días vía oral | Disminuye los déficits de memoria |
| Drago y col, 1993 ³⁶ | Ratas de 24 meses con déficits motores y cognitivos | Citicolina 20 días intra-peritoneal | Mejora la capacidad de aprendizaje y memoria, y la coordinación motora |
| Petkov y col, 1993 ³⁸ | Ratas de 5 y 22 meses con deterioro de memoria producido por escopolamina, clonidina, electrochoque, hipoxia o alcohol perinatal | Citicolina 7 días vía oral | Mejora la memoria, especialmente en los animales con déficits de memoria |
| Dixon et al, 1997 ⁴⁰ | Ratas con déficits de memoria y motores post-traumáticos | Citicolina 18 días intra-peritoneal | Atenúa los déficits de memoria espacial producidos por lesión traumática cerebral |
| Bruhwyler y col, 1998 ⁴¹ | Perros normales | Citicolina crónica | Facilita el aprendizaje y la memoria sin afectar la función motora ni neurovegetativa |

Citicolina y cognición: experiencia clínica

En estudios realizados en pacientes con patologías neurológicas se ha observado que la citicolina mejora la memoria, además de otras funciones cognitivas. Estos aspectos se tratan con detalle en el capítulo 15.

Resumen, conclusiones y perspectivas

El tratamiento sintomático de los trastornos cognitivos relacionados con la edad, complementados con los cambios adecuados en el entorno, pretenden no una "curación" de la vejez, sino asegurar un envejecimiento cerebral satis-

factorio en tantos ancianos como sea posible⁷. Hoy se acepta que el DCL es una entidad nosológica definida⁴⁵, cuya prevalencia crecerá proporcionalmente al aumento del envejecimiento de la población². A muchos pacientes con dificultades de memoria les preocupa la posibilidad de sufrir una enfermedad de Alzheimer; por ello, es muy importante establecer un diagnóstico claro del DCL, y seguirles de cerca para intentar retrasar su evolución a una enfermedad de Alzheimer. Las estrategias farmacoterápicas actuales (piracetam, selegilina, vitamina E, estrógenos, *Ginko biloba*, AINEs, inhibidores de la acetilcolinesterasa, memantina, citicolina) se basan en estudios realizados en pacientes muy heterogéneos, que sufren una pérdida de memoria, con o sin demencia. De ahí la necesidad de realizar ensayos clínicos específicos en pacientes etiquetados de DCL. Ya están en marcha algunos estudios para comprobar si las medicaciones que mejoran la memoria, en varias patologías cerebrales, también retrasan la evolución a enfermedad de Alzheimer del paciente con DCL. Se trata de ensayos clínicos aleatorizados, doble-ciego, controlados con placebo, con un número importante de pacientes y al menos 2 ó 3 años de seguimiento, cuya variable principal es la incidencia de demencia en cada grupo de tratamiento. Los resultados de estos estudios orientarán mejor el tratamiento de estos pacientes en los próximos años.

Mientras que llegan los resultados de tales estudios surge la pregunta de qué hacer con los pacientes diagnosticados de DCL, desde la óptica terapéutica. Por un lado, las pautas a base de entrenar y ejercitar la memoria ("úsala o piérdela") han demostrado ser eficaces. Por otro lado, la utilización de un medicamento asequible, eficaz y económico, con un perfil bondadoso de reacciones adversas, podría ser aconsejable hasta que conozcamos los resultados de los numerosos ensayos clínicos que actualmente se realizan en pacientes con DCL.

Bibliografía

1. Petersen R.C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rabins, P.V., Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., Winblad, B. *Current concepts in mild cognitive impairment*. Arch Neurol. 2001; 58: 1985-1992.
2. Sramek, J.J., Veroff, A.E., Cutler, N.R. *Mild cognitive impairment: emerging therapeutics*. Ann Pharmacotherapy 2000; 34: 1179-1187.
3. Schaie, K.W., Willis, S.L. *Can decline in adult intellectual functioning be reversed?* Developmental Psychology 1986; 22: 223-232.
4. Treff, W.M. *Das involutionsmuster des nucleus caudatus cerebellin*. En: Platt D ed. Stuttgart, New York, Ed. F.K. Schattauer; 1974. p 37-54.
5. Bermejo, F., Del Ser, T. *Demencias. Conceptos actuales*. Madrid: Ed. Díaz de Santos; 1993.
6. Tolosa, E., Pastor, M. *Trastornos de la memoria en el anciano*. Madrid: Ed. Díaz de Santos; 1993.
7. Giurgea, C.E. *Envejecimiento cerebral*. Madrid: Ed. Masson; 1995.
8. Yesavage, J.A. *Relaxation and memory training in 39 elderly patients*. Am. J. Psychiatry 1984; 141: 778-781.
9. Giurgea, C.E. *Vers une pharmacologie de l'activité intégrative du cerveau. Tentative du concept nootrope en psychopharmacologie*. Actualités Pharmacologiques (Masson, Paris) 1972; 25: 115-156.
10. Flórez, J., Dierssen, M. *Fármacos nootropos y neuroprotectores. Farmacología de las conductas anormales*. En Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, eds. Farmacología Humana. Madrid: Ed. Masson; 1997. 593-606.
11. Vernon, M.W., Sorkin, E.M. *Piracetam: an overview of its pharmacological properties and a review of its therapeutic use in senile cognitive disorders*. Drugs Aging 1991; 1: 17-35.
12. Fioravanti, M., Bergamasco, B., Bocola, V., Martucci, N., Nappi, G., Neri, G., et al. *A multi-centre, double-blind, controlled study of piracetam vs placebo in geriatric patients with nonvascular mild-moderate impairment in cognition*. New Trends Clin. Neuropharmacol. 1991; 5: 27-34.
13. Flicker, L., Grimley Evans, J. *Piracetam for dementia or cognitive impairment (Cochrane Review)*. In: The Cochrane Library, Issue 2, 2002. Oxford: Update Software.
14. Sano, M., Ernesto, C., Thomas, R.G., Klauber, M.R., Schafer, K., Grundman, M., et al. *A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease*. N. Engl. J. Med. 1997; 336: 1216-1222.
15. Schmidt, R., Hayn, M., Reinhart, B., Roob, G., Schmidt, H., Schumacher, M., et al. *Plasma antioxidants and cognitive performance in middle-aged and older adults: results of the Austrian Stroke Prevention Study*. J. Am. Geriatr. Soc. 1998; 46: 1407-1410.
16. Sherwin, B.B. *Mild cognitive impairment: potential pharmacological treatment options*. J. Am. Geriatr. Soc. 2000; 48: 431-441.
17. Rai, G.S., Shovlin, C., Wesnes, K.A. *A double-blind, placebo controlled study of Ginkgo biloba extract ('tanakan') in elderly outpatients with mild to moderate memory impairment*. Curr. Med. Res. Opin. 1991; 12: 350-355.
18. Fillit, H., Weinreb, H., Chgolst, I., Luine, V., McEwen, B., Amador, R., et al. *Observations in a preliminary open trial of estradiol therapy for senile dementia-Alzheimer's type*. Psychoneuroendocrinology 1986; 11: 337-345.
19. Honjo, H., Ogino, Y., Naitoh, K., Urabe, M., Kitawaki, J., Yasuda, J., et al. *An effect of conjugated estrogen to cognitive impairment in women with senile dementia-Alzheimer's type: a placebo-controlled double-blind study*. J. Jpn. Menopause Soc. 1993; 1: 167-171.

20. Aisen, P.S. *Inflammation and Alzheimers's disease: mechanisms and therapeutic strategies*. Gerontology 1997; 43: 143-149.
21. McGeer, P.L., McGeer, E., Roger, J., Sibley, J. *Anti-inflammatory drugs and Alzheimer's disease*. Lancet 1990; 335: 1037.
22. Stewart, W.F., Kawas, C., Corrada, M., Metter, A.J. *Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use*. Neurology 1997; 48: 628-632.
23. Masferrer, J.L., Zewiefel, B.S., Manning, P.T., Hauser, S.D., Leahy, K.M., Smith, W.G., et al. *Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is anti-inflammatory and nonulcerogenic*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1994; 91: 3228-3232.
24. Dani, J.A. *Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system*. Biol. Psychiatry 2001; 49: 166-174.
25. Rogers, S.L., Friedhoff, L.T. *The efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease: results of a US multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Dementia 1996; 7: 293-303.
26. Corey-Blom, J., Anand, R., Veach, J. *ENA 713 B352 Study Group. A randomized trial evaluating the efficacy and safety of ENA 713 (rivastigmine tartrate), a new acetylcholinesterase inhibitor, in patients with mild to moderately severe Alzheimer's disease*. Int. J. Geriatr. Psychopharmacol. 1998; 1: 55-65.
27. Tariot, P.N., Solomon, P.R., Morris, J.C., Kershaw, P., Lilienfeld, S., Ding, C. *Galantamine USA-10 Study Group. A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD*. Neurology 2000; 54: 2269-2276.
28. García, A.G. *Terapia colinérgica del Alzheimer*. JANO 2002; LXII (1427): 1104.
29. Rütther, E., Glaser, A., Bleich, S., Degner, D., Wiltfang, J. *A prospective PMS study to validate the sensitivity for change of the D-scale in advanced stages of dementia using the NMDA-antagonist memantine*. Pharmacopsychiatry 2000; 33: 103-108.
30. Wenk, G.L., Quack, G., Moebius, H-J., Danysz, W. *No interaction of memantine with acetylcholinesterase inhibitors approved for clinical use*. Life. Sci. 2000; 66: 1079-1083.
31. Blusztaja, J.K., Wurtman, R.J. *Choline and cholinergic neurons*. Science 1983; 221: 614-620.
32. Agut, J., Font, E., Sacristan, A., Ortiz, J.A.. *Bioavailability of methyl-14C CDP-choline by oral route*. Arzneimittelforschung. 1983; 33 (7A): 1045-1047.
33. Secades, J.J., Frontera, G. *CDP-choline: pharmacological and clinical review*. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1995; 17 (supl B):1-54.
34. De la Morena, E. *Efficacy of CDP-choline in the treatment of senile alterations in memory*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1991; 640: 233-236.
35. Petkov, V.D., Mosharrof, A.H., Petkov, V.V., Kehayov, R.A. *Age-related differences in memory and in the memory effects of nootropic drugs*. Acta Physiol. Pharmacol. Bulg. 1990; 16: 28-36.
36. Drago, F., Mauceri, F., Nardo, L., Valerio, C., Genazzani, A.A., Grassi, M. *Effects of cytidine-diphosphocholine on acetylcholine-mediated behaviors in the rat*. Brain Res. Bull. 1993; 31: 485-489.
37. Petkov, V.D., Konstantinova, E.R., Petkov, V.V., Vaglenova, J.V. *Learning and memory in rats exposed pre- and postnatally to alcohol. An attempt at pharmacological control*. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1991; 13: 43-50.
38. Petkov, V.D., Kehayov, R.A., Mosharrof, A.H., Petkov, V.V., Getova, D., Lazarova, M.B., Vaglenova, J. *Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits*. Arzneimittelforschung 1993; 43: 822-828.
39. Saligaut, C., Boismare, F. *Tratamiento oral crónico con citidin-(5')-difosfocolina de los efectos sobre el comportamiento y bioquímicos de una hipoxia*. Med. Clin. (Barc) 1986; 87 (supl 1): 19-22.

40. Dixon, C.E., Ma, X., Marion, D.W. *Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release*. J. Neurotrauma. 1997; 14: 161-169.
41. Mosharrof, A.H., Petkov, V.D. *Effects of citicholine and of the combination citicholine + piracetam on the memory (experiments on mice)*. Acta Physiol. Pharmacol. Bulg. 1990; 16: 25-31.
42. Agut, J., Ortiz, J.A. *Age-related changes in memory and their pharmacologic modulation*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1991; 640: 295-297.
43. Bruhwyler, J., Liegeois, J.F., Geczy, J. *Facilitatory effects of chronically administered citicoline on learning and memory processes in the dog*. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 1998; 22: 115-128.
44. Petkov, V.D., Mosharrof, A.H., Kehayov, R., Petkov, V.V., Konstantinova, E., Getova, D. *Effect of CDP-choline on learning and memory processes in rodents*. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1992; 14: 593-605.
45. Hogan, D.B., Mckeith, I.G. *Of MCI and dementia: improving diagnosis and treatment*. Neurology 2001; 56: 1131-1132.

CAPÍTULO 15

EFICACIA CLÍNICA DE LA CITICOLINA EN EL DETERIORO COGNITIVO LEVE

FRANCISCO ABAD SANTOS, JESÚS NOVALBOS,
SONIA GALLEGO SANDÍN, ESTHER MARTÍNEZ
SANCHO y M^a ÁNGELES GÁLVEZ MÚJICA

*Instituto Teófilo Hernando,
Departamento de Farmacología y Terapéutica,
Facultad de Medicina,
Servicio de Farmacología Clínica,
Instituto Universitario de Gerontología,
Hospital Universitario de la Princesa,
Universidad Autónoma de Madrid*

Introducción

El deterioro cognitivo leve se caracteriza por una pérdida de memoria superior a la que cabría esperar para la edad y el nivel educativo del paciente, sin afectación significativa de otras funciones cognitivas¹. A pesar de que no presenta criterios diagnósticos de demencia, algunos autores lo consideran un estadio precoz de la misma ya que alrededor del 12% de estos pacientes progresan anualmente a enfermedad de Alzheimer. Por este motivo, es importante buscar fármacos que puedan prevenir o enlentecer la evolución de esta situación clínica². Entre los fármacos que mejoran la memoria y otras facultades cognitivas y que se podrían utilizar para el tratamiento del deterioro cognitivo leve tenemos los nootropos (piracetam), los antioxidantes (selegilina, vitamina E, extracto de *Ginkgo biloba*), los estrógenos, los antiinflamatorios no esteroideos inhibidores selectivos de la COX-2 (rofecoxib, celecoxib), los inhibidores de la acetilcolinesterasa (donepezilo, rivastigmina y galantamina), la memantina (antagonista no competitivo del receptor glutamatergico NMDA), y la citicolina^{2,3}.

La citicolina activa la síntesis de fosfolípidos de membrana y preserva la integridad y permeabilidad de la membrana neuronal⁴. Además, aumenta la producción de acetilcolina y la neurotransmisión colinérgica e incrementa el

metabolismo cerebral y los niveles de dopamina y noradrenalina⁵. El deterioro cognitivo puede estar relacionado con una disfunción de la neurona colinérgica (teoría colinérgica de la enfermedad de Alzheimer)⁶ o con alteraciones de la función de la membrana a causa de una disminución de la síntesis o un aumento del catabolismo de los fosfolípidos⁵. La citicolina podría actuar a estos dos niveles, previniendo la muerte neuronal como neuroprotector y mejorando el funcionamiento de las sinapsis colinérgicas y catecolaminérgicas.

En varios modelos animales se ha comprobado que la citicolina mejora las pruebas de aprendizaje y memoria en animales de edad avanzada. También mejora estas funciones cognitivas en roedores con deterioro de memoria producido por escopolamina, clonidina, electrochoque, hipoxia o tratamiento con alcohol durante la gestación^{3,7}.

Además, varios ensayos clínicos han demostrado la eficacia de la citicolina en el tratamiento de distintas enfermedades neurológicas (ictus, enfermedad cerebrovascular crónica, traumatismos craneoencefálicos, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer)⁴, por lo que en este artículo se pretende revisar si existen datos clínicos que apoyen la utilidad de la citicolina en el tratamiento del deterioro cognitivo leve, con lo que podría retrasar la progresión a demencia. Por otro lado, debemos tener en cuenta que la citicolina es un fármaco con escasos efectos adversos, tanto a nivel de toxicología animal como en los numerosos ensayos clínicos realizados⁴. Esta seguridad de la citicolina es una característica imprescindible para cualquier fármaco que se vaya a utilizar a largo plazo, como se requiere en esta patología.

La evaluación clínica y los tests neuropsicológicos realizados en pacientes con diversas enfermedades neurológicas (insuficiencia cerebral, enfermedad cerebrovascular crónica y demencia) sugieren que la citicolina puede mejorar algunos de los déficits de memoria asociados a la edad⁵. Vamos a revisar en primer lugar el efecto de la citicolina sobre la memoria en pacientes con otras patologías y finalmente veremos si puede ser eficaz en ancianos que presentan alteración de la memoria aislada, como ocurre en el deterioro cognitivo leve.

Ensayos clínicos en enfermedades cerebrovasculares

La patología vascular cerebral crónica, también denominada insuficiencia cerebral, es una de las principales causas de deterioro cognitivo en el anciano, y es en esta patología donde se ha realizado un mayor número de estudios⁸. Existen al menos 3 ensayos clínicos con un diseño correcto (doble

ciego y controlados con placebo), en los que el efecto de la citicolina sobre la memoria ha sido uno de los parámetros de evaluación en este tipo de pacientes. En el primero se administró citicolina 1000 mg/día por vía intravenosa durante 28 días a 58 hombres con antecedentes de accidentes isquémicos transitorios⁹, y se observó una mejoría significativa de la memoria, así como de la capacidad de atención, la afectividad y la psicomotricidad. En otros dos estudios se administró citicolina por vía intramuscular a una dosis de 1000 mg/día durante 2 o 3 ciclos de 4 semanas, separados por una semana, en pacientes que padecían enfermedades cerebrovasculares crónicas^{10,11}. En uno de ellos se incluyeron 92 pacientes y la citicolina mejoró de forma significativa la memoria, la atención y la conducta¹⁰. En el otro participaron 31 pacientes y también mejoró la memoria, tanto a corto como a largo plazo¹¹.

Ensayos clínicos en pacientes con demencia

Los primeros estudios realizados en pacientes con demencia vascular o de tipo Alzheimer carecían de grupo control. En un estudio prospectivo de un año de seguimiento se evaluaron 288 pacientes con diferentes tipos de demencia, que fueron tratados con citicolina 600 mg/día por vía oral en tres tomas diarias¹². Se observó una mejoría significativa en la función cognitiva (test Mini-Mental State Examination) y en la escala de Bargheon, que es un indicador de la afectación de las actividades de la vida diaria (capacidad de orientación, memoria de hechos recientes, estabilidad emocional, cooperación, cuidados personales, capacidad de locomoción, ...). La mejoría fue similar en todos los tipos de demencia ya que el médico responsable del seguimiento del paciente consideró que existía una eficacia clara en el 45% de los casos con demencia degenerativa, en el 42% con demencia vascular y en el 39% con demencia mixta. En otro estudio más reciente que incluía 20 pacientes con enfermedad de Alzheimer, el tratamiento con citicolina 1000 mg/día por vía oral durante 1 mes produjo una mejoría de la puntuación del test Mini-Mental State Examination, especialmente en los pacientes con enfermedad de inicio precoz y en el subtest de orientación¹³. No obstante, la ausencia de grupo control limita la validez de estos resultados.

Posteriormente se han realizado al menos 4 ensayos clínicos con un diseño doble-ciego y controlados con placebo. En dos estudios cruzados, en los que participaron 89 y 111 pacientes con demencia senil (los autores lo denominan insuficiencia cerebral senil), el tratamiento con citicolina 600 mg/día por vía oral durante 5 semanas mejoró de forma significativa la

memoria y otras pruebas neuropsicológicas^{14, 15}. En otro ensayo clínico que incluía 146 pacientes con demencia multiinfarto, el tratamiento con citicolina 750 mg/día por vía intravenosa durante 2 meses produjo una mejoría de la función cognitiva que se mantenía a los 10 meses¹⁶. En un estudio más reciente se incluyeron 30 pacientes con enfermedad de Alzheimer y la citicolina a una dosis de 1000 mg/día por vía oral durante 3 meses también mejoró la función cognitiva¹⁷.

Ensayos clínicos en otras enfermedades neurológicas

En los pacientes con traumatismos craneoencefálicos, la citicolina acelera la recuperación del coma postraumático, los déficits motores, los trastornos de la memoria y la función cognitiva que conforman el síndrome postconmocional^{14, 18}. En un estudio reciente con 10 pacientes que presentaban déficit de memoria persistente después de lesión cerebral traumática, la mitad fueron tratados con citicolina 1000 mg/día por vía oral y la otra mitad con placebo mientras participaban en un programa de rehabilitación¹⁹. Mientras que las funciones neuropsicológicas no mejoraron en el grupo tratado con placebo, el grupo que recibió citicolina presentó una mejoría significativa de la memoria, los procesos de aprendizaje y la comunicación verbal.

En un estudio prospectivo, no controlado, se evaluó durante 2 meses a 2067 pacientes de 40 a 80 años con alteraciones neuropsíquicas (alteración de memoria reciente o del estado emocional, desinterés por el entorno o intranquilidad) que habían sido tratados con citicolina a una dosis media inicial de 600 mg/día seguida de 300 mg/día²⁰. Se apreció una recuperación de la memoria reciente en el 26% de los casos y mejoría en el 45,5%. También se produjo una mejoría clara de otros síntomas como vértigo, cefalea, intranquilidad, estado de ánimo, interés por el entorno, iniciativa y movilidad.

Ensayos clínicos que evalúan específicamente el efecto sobre la memoria

Se han realizado también varios estudios en ancianos con déficit de memoria no debido a enfermedades subyacentes, situación que se asemeja al deterioro cognitivo leve, aunque no se haya utilizado exactamente este criterio diagnóstico para incluir a los pacientes. En un estudio preliminar no comparativo, se trató con citicolina durante 3 semanas a 10 ancianos con déficit de memoria, y se observaron mejorías significativas y progresivas de varios tests de memoria y desórdenes físicos²¹. En otro estudio no controlado se

incluyeron 150 ancianos con alteración de memoria primaria sin demencia, que recibieron citicolina por vía oral en ciclos de 4 semanas con una semana de separación, durante 3 meses²². Se apreció una mejoría de la memoria, la atención, el nivel de activación y el comportamiento, y estos efectos beneficiosos se mantenían a largo plazo. No obstante, estos estudios presentan la limitación de no ser controlados, lo que es especialmente relevante en la evaluación de la memoria porque la puntuación de las pruebas psicológicas puede mejorar simplemente por la repetición de las mismas.

Tabla 1

Ensayos clínicos controlados que evalúan el efecto del tratamiento con citicolina en ancianos con déficit de memoria sin enfermedad subyacente.

| Referencia | Tipo de pacientes y diseño | Tratamiento | Resultado |
|---|---|--|--|
| Spiers y col, 1996 ²³ 1 ^{er} estudio | doble-ciego, paralelo, controlado con placebo; 95 sujetos de 50-85 años sin enfermedades neurológicas ni alteración de memoria | citicolina 1 g/día durante 3 meses | no diferencias en la memoria, excepto en el subgrupo de pacientes con una memoria inicial inferior a la media |
| Spiers y col, 1996 ²³ 2 ^o estudio | doble-ciego, cruzado, controlado con placebo; 32 sujetos de 50-85 años sin enfermedades neurológicas ni alteración de memoria, pero con memoria inferior a la media | citicolina 2 g/día durante 2 meses | mejoría de la memoria lógica inmediata y a largo plazo |
| Álvarez y col, 1997 ²⁴ | doble-ciego, cruzado, controlado con placebo; 24 ancianos con déficits de memoria sin demencia | citicolina 1 g/día o citicolina 500 mg/día o citicolina 300 mg/día + nimodipino 90 mg/día, durante 4 semanas | mejoría de casi todas las pruebas de memoria analizadas con respecto al placebo, eficacia similar en los 3 grupos de tratamiento |

Posteriormente se han realizado 3 ensayos clínicos doble-ciego y controlados con placebo (tabla 1). En el primero de ellos se incluyeron 94 voluntarios de 50 a 85 años, que no padecían ninguna enfermedad neurológica, ni tan siquiera alteración de la memoria²³. Se asignaron aleatoriamente a recibir tratamiento con placebo o citicolina 1000 mg/día por vía oral durante 3 meses. Como presentaban una memoria que se consideraba normal para su edad, no se observó ninguna diferencia con respecto al tratamiento con placebo, excepto en el subgrupo de pacientes con una memoria relativamente ineficiente (es decir, inferior a la media antes de empezar el estudio), en los que mejoró la memoria lógica inmediata y tardía (a largo plazo). Después de obtener estos resultados, los mismos autores realizaron otro ensayo clínico cruzado en 32 de los sujetos con una memoria relativamente ineficiente. Se

administró 2000 mg/día de citicolina o placebo y se observó una mejoría de la memoria inmediata y tardía mayor que la obtenida en el primer estudio, lo que se podría explicar por la mayor dosis recibida. El tercer ensayo clínico también fue doble-ciego, cruzado y controlado con placebo, y participaron 24 ancianos con déficit de memoria, pero sin demencia²⁴. Los pacientes recibieron durante 4 semanas placebo y durante otras 4 semanas uno de los siguientes 3 tratamientos: citicolina 500 mg/día, citicolina 1000 mg/día, o citicolina 300 mg/día asociado a nimodipino 90 mg/día. Se encontró una mejoría de casi todas las pruebas de memoria analizadas con respecto al placebo, pero no se detectaron diferencias entre los 3 grupos de tratamiento, lo que se puede explicar por el pequeño tamaño muestral (8 sujetos por grupo).

Meta-análisis

La Colaboración Cochrane, un organismo internacional de reconocido prestigio e imparcialidad, ha publicado recientemente un meta-análisis que evalúa el efecto del tratamiento con citicolina sobre los déficits cognitivo, emocional y de conducta asociados a enfermedades cerebrales crónicas en ancianos²⁵. Se incluyeron 12 ensayos clínicos con un diseño doble-ciego, controlados con placebo y aleatorizados, con un tamaño muestral pequeño (entre 15 y 188 pacientes), algunos de los cuales ya se han comentado anteriormente. La dosis administrada osciló entre 600 y 1000 mg/día por vía intravenosa, intramuscular u oral, y la duración del tratamiento fue de 20 días a 3 meses. Se evaluaron distintos parámetros como atención, memoria, conducta, impresión clínica global y tolerabilidad, y los autores llegaron a la conclusión de que la citicolina mejora la memoria, la conducta y la impresión clínica global, al menos a corto plazo. El efecto beneficioso de la citicolina es más significativo sobre la impresión clínica global (figura 1), donde los pacientes tratados con citicolina tienen casi 9 veces más probabilidades de mejorar que el grupo control. Además, la incidencia de efectos adversos era significativamente inferior con citicolina que con placebo (figura 2). No obstante, los autores recomiendan que se realicen más estudios para conocer los efectos de la citicolina a largo plazo.

Resumen y conclusiones

En los ensayos clínicos realizados en pacientes con ictus, enfermedad cerebrovascular crónica y demencia, la citicolina mejora los déficits de memoria y otras funciones cognitivas. También se han realizado ensayos clínicos en

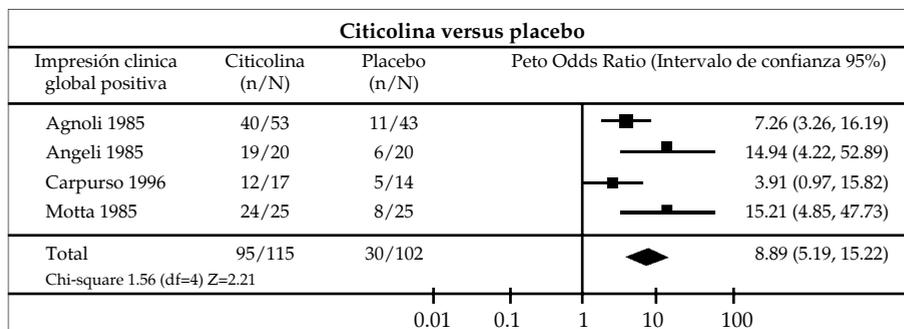


Figura 1
 Resultado de la impresión clínica global en un meta-análisis de la colaboración Cochrane sobre la eficacia de la citicolina en el tratamiento de las enfermedades cerebrales crónicas en el anciano²⁵.

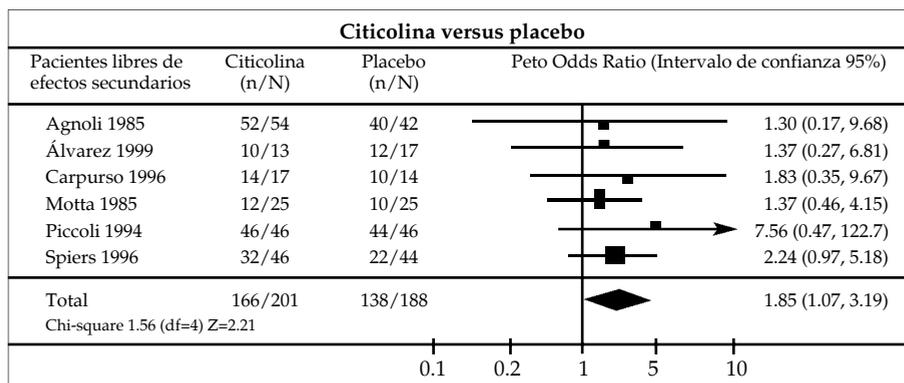


Figura 2
 Resultado de la incidencia de efectos adversos en un meta-análisis de la colaboración Cochrane sobre la eficacia de la citicolina en el tratamiento de las enfermedades cerebrales crónicas en el anciano²⁵.

ancianos con pérdida de memoria primaria sin demencia, y se ha observado una mejoría de la memoria inmediata y tardía, efecto beneficioso que se mantiene a largo plazo en alguno de los estudios. Por otra parte, en un meta-análisis de 12 ensayos clínicos, realizado por la Colaboración Cochrane, se concluye que la citicolina mejora la memoria, la conducta y la impresión clínica global en ancianos que sufren enfermedades cerebrales crónicas. Además, es un fármaco muy bien tolerado que apenas produce efectos adversos, lo que posibilita su administración a largo plazo.

En conclusión, la citicolina mejora la memoria en diversas situaciones clínicas y podría ser eficaz en los pacientes con deterioro cognitivo leve, aunque son necesarios más estudios para comprobar si el efecto se mantiene a largo plazo y si consigue retrasar la progresión a demencia.

Bibliografía

1. Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001; 58: 1985-92.
2. Sramek JJ, Veroff AE, Cutler NR. Mild cognitive impairment: emerging therapeutics. *Ann Pharmacotherapy* 2000; 34: 1179-87.
3. Abad-Santos F, Novalbos J, Gallego-Sandín S, García AG. Tratamiento del deterioro cognitivo leve: utilidad de la citicolina. *Rev Neurol* 2002; 35: 675-682.
4. Secades JJ, Frontera G. CDP-choline: pharmacological and clinical review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1995; 17 (supl B): 1-54.
5. De la Morena E. Efficacy of CDP-choline in the treatment of senile alterations in memory. *Ann NY Acad Sci* 1991; 640: 233-6.
6. García AG. Teoría colinérgica del Alzheimer. *JANO* 2002; LXII (1427): 1104.
7. Petkov VD, Kehayov RA, Mosharrof AH, Petkov VV, Getova D, Lazarova MB, Vaglenova J. Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits. *Arneimittelforschung* 1993; 43: 822-8.
8. Abad-Santos F, Gallego-Sandín S, Novalbos J, Gálvez-Múgica MA. Estado actual de la citicolina en la isquemia cerebral. *Rev Neurol* 2000; 30: 663-70.
9. Sinforiani E, Trucco M, Pacchetti C, Gualtieri S. Valutazione degli effetti della citicolina nella malattia cerebro-vascolare cronica. *Minerva Med* 1986; 77: 51-7.
10. Piccoli F, Battistini N, Carbonin P, Curro Dossi B, Fiori L, La Bella V et al. CDP-choline in the treatment of chronic cerebrovasculopathies. *Arch Gerontol Geriatr* 1994; 18: 161-8.
11. Capurso A, Capurso S, Panza F, Solfrizzi V, Mastroianni F, Giaquinto S, Denaro A. Efficacy of cytidine diphosphate choline in patients affected by chronic cerebrovascular disease. *Clin Drug Invest* 1996; 12: 26-38.
12. Grupo Ibero-Americano Alzheimer y Longevidad (GIAL). Deterioro pisocoorgánico, estudio prospectivo a un año, influencia de la CDP-colina. *Geriatrka* 1989; 5: 40-3.
13. Caamano J, Gomez MJ, Franco A, Cacabelos R. Effects of CDP-choline on cognition and cerebral hemodynamics in patients with Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1994; 16: 211-8.
14. Eberhardt R, Schurmann W. Valoración clínica de la citicolina en pacientes con insuficiencia cerebral. *Med Clin (Barc)* 1986; 87 (supl 1): 26-9.
15. Eberhardt R, Dehrr I. Eficacia y tolerancia de CDP-colina en pacientes geriátricos con insuficiencia cerebral senil: estudio doble ciego cruzado. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 1989; 24 (supl 1): 73-81.
16. Chandra B. Treatment of multi-infarct dementia with citicholine. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 1992; 2: 232-3.
17. Álvarez XA, Mouzo R, Pichel V, Perez P, Laredo M, Fernández-Novoa L et al. Double-blind placebo-controlled study with citicolina in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioelectrical activity and cerebral perfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21: 633-44.
18. Calatayud V, Calatayud JB, Aso J. Effects of CDP-choline on the recovery of patients with head injury. *J Neurol Sci* 1991; 103: S15-8.
19. León-Carrión J, Domínguez-Roldan JM, Murillo-Cabezas F, del Rosario Domínguez-Morales M, Muñoz-Sánchez MA. The role of citicholine in neuropsychological training after traumatic brain injury. *NeuroRehabilitation* 2000; 14: 33-40.

20. Lozano R, Fernández MV, Balagué A. Alteraciones neuropsíquicas del anciano: evolución tras la administración de CDP-colina (citicolina). *Med Clin (Barc)* 1986; 87 (supl 1): 30-3.
21. Suryani LK, Adnjana TK, Jensen GD. Citicoline treatment of memory deficits in elderly people. *Int J Geriatr Psychiatry* 1988; 3: 235-6.
22. Di Trapani G, Fioravanti M. La citicolina nel trattamento dei disturbi cognitivi e comportamentali del decadimento senile patologico. *Clin Ter* 1991; 137: 403-13.
23. Spiers PA, Myers D, Hochanadel GS, Lieberman HR, Wurtman RJ. Citicoline improves verbal memory in aging. *Arch Neurol* 1996; 53: 441-8.
24. Álvarez XA, Laredo M, Corzo D, Fernández-Novoa L, Mouzo R, Perea JE, et al. Citicoline improves memory performance in elderly subjects. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 1997; 19: 201-10.
25. Fioravanti M, Yanagi M. Cytidinediphosphocholine (CDP choline) for cognitive and behavioural disturbances associated with chronic cerebral disorders in the elderly (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library, Issue 2, 2002*. Oxford: Update Software.

CAPÍTULO 16

EL PACIENTE DE ALZHEIMER Y SU ENTORNO FAMILIAR

MARÍA ÁNGELES DÍAZ DOMÍNGUEZ

*Presidenta de C.E.A.F.A.*¹

Impacto en los distintos miembros de la familia

Las demencias en general y la enfermedad de Alzheimer en particular se caracterizan por el deterioro progresivo de las facultades físicas y mentales de los pacientes que conducen a una situación de total dependencia de una tercera persona para poder subsistir. Por ello, cuando una persona padece Alzheimer, toda la familia sufre la enfermedad en mayor o menor medida.

Por ejemplo, el cónyuge del enfermo, si vive, se encuentra angustiado ante la enfermedad de la persona con la que ha compartido su vida durante tantos años. En ocasiones, no acepta la enfermedad, se niega a informarse sobre ella y adopta un papel secundario. Por supuesto, esta actitud no significa que se sienta menos involucrado en el problema. Otros cónyuges, por el contrario, participan activamente en el cuidado del enfermo; y, así, se ha dado el caso de que ahora permanecen juntos mucho más que antes.

El impacto de la enfermedad alcanza también a los hijos del enfermo y a sus respectivas familias. A veces, la distribución de las tareas para cuidar al enfermo hace aflorar problemas o conflictos familiares que ya existían e incluso se provocan situaciones de celos y envidias. Al respecto, más de una vez se escuchan frases como ésta: “Ahora te pasas el día con tu madre, ¿es que no soy tu marido?”.

¹ Confederación Española de Familiares de Enfermos de Alzheimer y otras Demencias (C.E.A.F.A.)

A los niños también les afecta la enfermedad. En el nuevo reparto del tiempo familiar, lo normal es que los niños pierdan alguna atención por parte de sus progenitores; eso sí, no deben llegar a sentirse ni estar descuidados. En general, estas ausencias se compensan por la lección humana que reciben de sus padres que atienden cada día al abuelo o abuela con Alzheimer. Si los padres viven la enfermedad con serenidad, el niño no se verá angustiado y también reaccionará de una manera natural ante el enfermo; incluso se le puede hacer participar en algún cuidado; por ejemplo, la nieta ayuda a su abuela a comer el postre. En otras ocasiones, hay niños que rechazan o no aceptan la enfermedad. En estos casos, los padres deben explicarles de un modo adaptado a la comprensión del niño en qué consiste la enfermedad, tranquilizando sus posibles miedos.

En definitiva, la vida de todos, incluso de los que no van a colaborar, se ve afectada. En el caso de los que aportan ayuda, porque tienen menos tiempo personal; en el caso de los que permanecen al margen, porque sienten inquietud, miedo y rechazo.

El cambio de papeles en la familia

Asimismo, el cambio de papeles en la familia comienza desde la primera fase de la enfermedad. El enfermo no puede seguir dirigiendo el hogar, trabajando, llevando responsabilidades anteriores, así que poco a poco los familiares van tomando nuevas funciones como administrar la economía del hogar, ayudar en la limpieza, atender al enfermo, aportar dinero, etc.

La responsabilidad de cuidar a una persona enferma a menudo no se comparte de forma equitativa en la familia. En ocasiones, sus miembros no ayudan tanto como deberían porque les resulta difícil aceptar la realidad, porque viven lejos, porque tienen problemas de salud... Suele ocurrir que alguien cercano sea quien se ocupe de la mayoría de los cuidados. Es decir, durante esta primera etapa de la enfermedad surge el cuidador principal. Con frecuencia se trata de una de las hijas que se hace cargo de la situación, aunque también otros familiares o cuidadores la ayuden.

Desde el primer momento y conforme avanza la dolencia, cada familia debe planificarse y organizarse en sus funciones y asistencia al enfermo. Dado que las necesidades que requiere el cuidado del paciente van variando, la familia tiene que reunirse y evaluar la situación cada cierto tiempo con el fin de prestar una colaboración eficaz. En esta planificación se ha de prestar atención a los recursos económicos de que se dispone y del grado de solidaridad entre los miembros de la familia.

Los problemas del día a día

Tanto el cuidador principal como el resto de la familia deben adaptarse a la nueva situación y enfrentarse a los problemas diarios que provoca atender al enfermo. Así, aparecen numerosos problemas relacionados, por ejemplo, con el aseo, la alimentación, la incontinencia de esfínteres, el sueño nocturno o la disposición del hogar.

En cuanto al aseo, existen pacientes que, habiendo sido muy limpios y aseados, se muestran totalmente contrarios a ir bien peinados y limpios, a cambiarse regularmente de ropa interior o de camisa y pantalón... Este comportamiento de negarse a asearse diariamente es uno de los primeros problemas a los que debe enfrentarse el cuidador de un enfermo de Alzheimer. Para solventarlo, el cuidador debe utilizar técnicas que conduzcan al paciente, sin darse cuenta, a efectuar aquello que en un principio no quería hacer. Por ejemplo, ha de demostrar que el enfermo puede hacerlo por sí sólo y que, además, lo hace muy bien y está mucho más guapo.

Conforme la enfermedad avanza, esta tarea tan cotidiana se complica. Llega el momento de sustituir la bañera por la ducha, de colocar alfombrillas antideslizantes y barras asideras, de levantar la altura de inodoro para que no tenga que agacharse y se levante fácilmente, de asegurarse de que no hace frío en el cuarto de baño, de no hacer ruidos intensos ni molestos durante el aseo.

Más adelante, el enfermo no es capaz de lavarse por sí sólo, por lo que el cuidador debe ocuparse de su aseo, incluso lo tiene que realizar en el propio lecho.

En cuanto a la alimentación, en la primera fase de la enfermedad, no es estrictamente necesaria una esmerada atención. Basta con procurar que los platos –es recomendable que sean de un material irrompible– en los que se coloca el alimento siempre sean más amplios que el propio alimento con el fin de que lo identifique correctamente.

En la segunda fase, en la que el paciente se suele decantar por negativismos, conviene ser perspicaz y ofrecerle comidas sabrosas, nutritivas y variadas para que no rechace la comida. Más adelante, el enfermo tiene dificultades para deglutir los alimentos con consistencia normal. Entonces, se ha de disponer comida con una textura más blanda.

Sin embargo, a veces y en la primera etapa, no siempre es debido a la consistencia del alimento que el paciente se niega a comer. El cuidador debe,

entonces, analizar por qué se produce esta situación: ¿se ha cambiado el lugar donde comía?, ¿hace frío donde come?, ¿la comida está fría o muy caliente?, ¿hay mucho ruido?, ¿tiene algún dolor?, ¿sufre de estreñimiento?, ¿el cuidador tiene prisa por darle de comer?...

En fases más avanzadas se recomienda el uso de la alimentación por sonda nasogástrica o incluso la práctica de una ostomía. En estos momentos conviene seguir los consejos de un profesional experto en nutrición.

En referencia a la incontinencia de esfínteres, el paciente pierde la autonomía contención de esfínteres urinarios y fecales. Se trata de una etapa en la que el paciente todavía tiene conciencia de sus actos, por lo que sufre. Así que procura esconder en los lugares más insospechados –cajones, maceteros, ducha– los utensilios que haya utilizado para empapar estas pérdidas hasta que su olor los delate.

El comportamiento del cuidador tras percatarse de esta situación –estresante por el contexto de aseo y limpieza que nuestra sociedad da a todo lo relacionado con la eliminación urinaria y fecal– ha de ir en la línea de pensar que aquello que el enfermo está haciendo no lo hace porque quiere, sino que lo está haciendo la propia enfermedad.

Una de las primeras complicaciones que el cuidador comunica corresponde a las alteraciones en el **sueño nocturno**. Aprecia que al enfermo le cuesta mucho esfuerzo dormirse por la noche o que se despierta muy a menudo para dedicarse a efectuar tareas que serían lógicas hacerlas en otro momento del día –por ejemplo, cocinar, barrer, colgar un cuadro, sacar ropa del armario–. Otras veces el paciente se despierta porque no reconoce la habitación donde duerme y quiere irse a su casa –estando en su propio hogar–, o no reconoce a su pareja con la que tantos años hace que duerme, o se imagina que alguien quiere hacerle daño y tiene terrores nocturnos...

Si ya para el propio paciente es una complicación importante que lo desorienta, estresa, hace consumir más energía que de forma usual y le variará el orden de descanso usual, es también para el cuidador un grave inconveniente que le ocasionará frustración y carencia de descanso reparador.

En cuanto al hogar, el espacio en el que vive una persona diagnosticada de demencia tipo Alzheimer debe cumplir una serie de premisas importantes para convivir en él la mayor parte del tiempo que dure su enfermedad. Así, deben coexistir los recuerdos en forma de objetos que posee el enfermo y la practicidad de eliminar lo superfluo. Es por ello que se ha de evaluar

cuáles son los lugares donde el paciente pasa la mayoría del tiempo y adaptarlos a sus necesidades presentes y futuras.

Así, se adoptan las siguientes medidas: suprimir alfombras; evitar los cables por el suelo con el fin de evitar caídas; reducir al máximo los objetos decorativos –sobre todo mesitas auxiliares que pueden obstaculizar el paso del paciente–; procurar la comodidad –por ejemplo, situar su sillón preferido en el lugar donde se le nota más a gusto–; guardar los cuadros en los que existen muchas figuras ya que pueden desorientarle por no conocer la caras o creer que son reales; suprimir los espejos –pueden crearle confusión al no reconocerse en ellos–; colocar barandillas en el pasillo para que pueda sujetarse si se marea; instalar luz permanente a nivel del suelo para evitar caídas si se levanta por la noche, cerrar con llave los armarios en los que se guardan utensilios peligrosos; cambiar el gas por la luz eléctrica para cocinar, colocar carteles en los que se dé información acerca de qué habitaciones son.

Síndrome del cuidador “quemado”

Estos problemas cotidianos y el hecho de que las necesidades del paciente de Alzheimer son cada vez mayores provocan que el cuidador se vea sometido a un estrés psíquico y físico constante mientras que, como todo ser humano, tiene sus limitaciones. Es decir, el cuidador quiere asistir y ayudar de la mejor manera posible; pero, evidentemente, conforme pasa el tiempo, va sufriendo las consecuencias de no poder dar la asistencia o el servicio que quisiera, bien por falta de medios o fuerzas, bien porque las necesidades que demanda el enfermo superan sus posibilidades.

El resultado es que el cuidador, sin quererlo, se “quema”, lo que perjudica su salud y bienestar tanto físico como mental, de manera que repercute todo ello en la persona a quien quiere ayudar y en el resto de sus familiares o personas de su entorno más cercano.

Para referirse a esta situación del cuidador, se ha hablado del “síndrome del cuidador quemado”, el “síndrome de sobrecarga del cuidador” o, sencillamente, el “síndrome del cuidador”, para describir los devastadores efectos que sufren aquellas personas que tienen a su cargo a un paciente con enfermedad de Alzheimer.

Cuando el cuidador comienza a quemarse, muestra alguno de los siguientes síntomas:

- Pérdida de energía, fatiga crónica.
- Aislamiento.

- Consumo excesivo de sustancia tales como tabaco, alcohol o café.
- Problemas de sueño, ya sea insomnio, pesadillas o somnolencia.
- Problemas físicos, como palpitaciones, temblor de manos y molestias digestivas.
- Problemas de memoria y dificultad para concentrarse.
- Menor interés por personas o cosas que antes les interesaban.
- Aumento o disminución del apetito.
- Enfadarse fácilmente.
- Dar demasiada importancia a pequeños detalles.
- Cambios del estado de ánimo.
- Depresión y nerviosismo.
- Hartazgo respecto al enfermo y otras personas.

A través del tiempo de atención al enfermo de Alzheimer, el cuidador principal padece sentimientos encontrados, variables y, a menudo, contradictorios. He aquí algunos de estos sentimientos.

- El cuidador se siente SOLO, SIN AYUDA para afrontar la enfermedad y cuidar al enfermo. Esto es lógico dadas las muchas y crecientes dificultades que van apareciendo a medida que la enfermedad progresa y el hecho cierto de que el peso principal recae sobre ese cuidador.
Mi consejo es que no se sienta solo ni pierda la confianza. Muchas personas están viviendo la misma experiencia. Acuda, pues, a las asociaciones de familiares de enfermos de Alzheimer, diseminadas por toda la geografía española. Acuda también a los servicios sociosanitarios públicos y privados que, aunque se quedan cortos, le pueden proporcionar alguna ayuda. El médico de cabecera o la trabajadora social de la zona le informarán de los recursos disponibles.
- Se siente NERVIOSO, ESTRESADO, ANSIOSO. Aguantar la tensión diaria de las tareas de cuidado es mucho aguantar.
Mi experiencia me dice que cuando se está a punto de explotar conviene tomarse un descanso. Puede bastar con cambiar de actividad, por ejemplo, dar un paseo, hablar con una vecina o una amiga, escuchar música... Cualquier cosa antes de que en vez de un enfermo haya dos en la familia.
- Se siente TRISTE Y APENADO al recordar cómo era su familiar antes y pensar lo que le espera. ¡Cuántas veces hemos dicho u oído la frase "quién te ha visto y quién te ve"! Incluso se plantea si el enfermo sigue siendo la misma persona.

Es normal añorar tiempos pasados y también es normal asustarse con el futuro. Pero hay que procurar vivir el presente, porque el enfermo precisa cuidado y afecto, y es capaz de percibirlos y valorarlos. A pesar de lo doloroso de la situación, el cuidador no debe abandonarse a la tristeza ni dejar que la melancolía le empañe la vida, pues no le permitirá disfrutar de otros momentos felices.

- Se siente IRRITABLE, A PUNTO DE EXPLOTAR Y SE ENFADA CON FACILIDAD Y SIN MOTIVO. Se plantea una y mil veces por qué le ha caído esa desgracia, se plantea que los servicios asistenciales no son los adecuados, culpa a los médicos de que no solucionan nada, incluso llega a gritar al enfermo.

Es comprensible que se sienta así, al fin y al cabo es él quien lleva el peso principal de la carga. Por ello, quizá compartir los sentimientos con los demás –amigos, familiares, otros cuidadores, personal sanitario, etc.– sea una forma de evitar reacciones exageradas y fuera de tono de las que luego a menudo uno se arrepiente.

- Muchas veces se siente AVERGONZADO por el comportamiento del enfermo. Cada vez con mayor frecuencia el enfermo realiza acciones que le ponen en un aprieto; por ejemplo, grita en la iglesia, coge lo que no es suyo, no consigue hacerle entrar en el coche, se le cae la baba constantemente, etc.

En estas situaciones conviene explicar con claridad y llaneza que su ser querido está enfermo y que sus comportamientos son uno de los síntomas que padece. En cualquier caso, no debe aislarse: siga invitando a sus amigos a su casa o siga saliendo con ellos. Cuanto más se aisle, más cuesta arriba le resultará afrontar los problemas diarios.

- Se siente CULPABLE con mucha frecuencia y por diversos motivos. Por ejemplo, por perder los nervios con el enfermo y gritarle, por cómo le trató en el pasado, por tomarse tiempo libre en vez de estar cuidándole, por plantearse ingresarle en una residencia...

Sin embargo, el cuidador puede estar seguro de que nada de lo que haya hecho o dejado de hacer en el pasado ha causado la enfermedad. Así que, en la medida de sus posibilidades, ha de poner los medios a su alcance para que el enfermo esté cuidado lo mejor posible. Y llegará un momento en el que lo mejor para el paciente sea acudir a un centro de día; e incluso llegará el momento en que lo mejor será ingresarlo en una residencia asistida, donde le proporcionarán aquellos cuidados que, por su gravedad, el cuidador ya no puede ofrecerle.

Aparte de estos sentimientos, sucede que en muchas ocasiones se descuida la propia salud. Así, por ejemplo:

- Se descuida la dieta, ya que cuando uno está cansado es fácil que un bocadillo se convierta en habitual.
- No se duerme lo necesario, bien porque el enfermo se altera por la noche y le despierta, bien por preocupaciones o porque no reserva tiempo suficiente para dormir.

No se dedica tiempo al descanso, a pesar de que el proceso de cuidar a un enfermo de Alzheimer agota física y psíquicamente.

Al respecto, cabe señalar la importante labor de los centros de día, de la asistencia residencial temporal o de cuidadores profesionales al respecto. Su labor es importante no sólo para mejorar la calidad de vida del enfermo, sino también la del cuidador, ya que estas opciones permiten tomarse un respiro y reducir el estrés. Y es que es fundamental que el cuidador tenga tiempo para seguir cultivando sus amistades, sus aficiones, sus intereses y, si está trabajando, su empleo. En definitiva, es importante que el cuidador se reserve tiempo para sí mismo.

Cómo evitar ese síndrome del cuidador “quemado”

Para evitar el problema del cuidador “quemado”, es preciso recibir una formación e información adecuada, contar con el apoyo familiar, coordinar los distintos servicios asistenciales disponibles y recibir apoyo emocional.

En primer lugar, el cuidador debe recibir FORMACIÓN ADECUADA, VERAZ Y ACTUALIZADA respecto a todos los aspectos de la enfermedad, así como la relacionada con los avances terapéuticos. Por supuesto, no se trata de crear falsas expectativas.

En segundo lugar, EL CUIDADOR Y LOS FAMILIARES DEL ENFERMO DEBEN ESTAR UNIDOS, APOYÁNDOSE UNOS A OTROS para hacer más llevadera la tarea de cuidar al paciente.

En tercer lugar, conviene COORDINAR LAS DISTINTAS PERSONAS Y RECURSOS DISPONIBLES con el objetivo de conseguir una acción más eficaz a la hora de asistir al enfermo con humanidad, calidad y eficiencia. Para ello, es preciso recurrir a familiares, amigos, servicios médicos, servicios sociales, asociaciones de familiares de enfermos de Alzheimer, etc.

En cuarto lugar, además de estar informados y ayudados en su ardua tarea, en ocasiones LOS CUIDADORES NECESITAN UN APOYO EMOCIONAL POR PARTE DE PROFESIONALES ESPECIALIZADOS. No debe avergonzar a nadie solicitar apoyo médico y psicológico; cualquiera en su situación se sentiría agobiado y sobrecargado.

Apoyo ofrecido desde C.E.A.F.A.

Al hilo de este tema, las Asociaciones de Familiares de Enfermos de Alzheimer constituyen actualmente un apoyo fundamental para miles de familias en nuestro país. Por ello, a continuación les explicaré cómo fueron gestándose las Asociaciones de Familiares.

Las demandas planteadas por enfermos y familiares y la falta de una respuesta adecuada por parte de las diferentes Administraciones Públicas fue la razón principal para que, allá por finales de los ochenta, surgieran en nuestro país una serie de Asociaciones, con el propósito de aglutinar los objetivos, las demandas, las reivindicaciones y las exigencias de muchos familiares implicados. Pronto se vio que estas Asociaciones eran una excelente plataforma para difundir en la sociedad la existencia de la enfermedad, fomentar la investigación científica sobre este tipo de demencia y conseguir una mayor calidad de vida para los enfermos de Alzheimer y sus cuidadores.

Las primeras Asociaciones que surgieron fueron las de Madrid, Barcelona, Pamplona, Málaga y Vizcaya. Ya en el año 1990 se constituyó la Federación de Asociaciones de Familiares de Enfermos de Alzheimer, declarada de utilidad pública el 18 de diciembre de 1996. En 1999 esta Federación se convirtió en Confederación, quedando compuesta por 13 Federaciones autonómicas y 6 asociaciones uniprovinciales. Desde su nacimiento y hasta hoy han sido numerosas las agrupaciones de familiares que han ido surgiendo y consolidándose; y así, en la actualidad, somos 106 Asociaciones, con cerca de 50.000 familias asociadas a la Confederación.

Con el propósito de minimizar los efectos que esta cruel enfermedad ocasiona, tanto en los afectados como en las familias, la Confederación, de forma globalizada, y las diferentes Asociaciones, con carácter individualizado, ponen en marcha diversos programas como son:

- Información: Personalizada, telefónica, informatizada, y/o mediante órganos de difusión escrita como pueden ser los boletines o revistas etc.

- Sensibilización: Día Mundial de Alzheimer, charlas, conferencias, foros tanto nacionales como internacionales, etc.
- Apoyo psicológico a los cuidadores: Mediante terapia individual, terapia familiar y grupos de ayuda mutua.
- Talleres de psicoestimulación para los enfermos.
- Servicios de Ayuda a Domicilio.
- Programas de actividades para familiares.
- Centros de respiro.
- Programas de formación a familiares, cuidadores y voluntarios: Mediante cursos, actividades de formación continuada y talleres.
- Sensibilización y formación de Voluntarios.
- Asesoría jurídica y social.
- Centros de Día.
- Residencias asistidas.
- Espacios de convivencia.
- Préstamos de ayudas técnicas y material ortoprotésico.
- Apoyo educativo y cuidados a familias y enfermos que residen en el medio rural.
- Estimulación y fisioterapia a domicilio.

De entre estos servicios, especialmente es bien recibida y con resultados satisfactorios la ayuda psicológica a los cuidadores, ya sea prestada en una terapia individual, familiar o grupal.

En cuanto a la terapia individual, permite abordar temas que a veces son vividos como especialmente delicados y para los que el cuidador demanda un espacio más privado. Esta terapia ofrece apoyo humano para que el cuidador pueda canalizar y expresar sus emociones, favorece el proceso de aceptación de la nueva situación, trata los conflictos, modifica las conductas inadecuadas, y previene las alteraciones psicológicas perjudiciales proponiendo respuestas alternativas y compatibles con el cuidado del enfermo.

La terapia familiar se dirige a crear un marco de entendimiento y comunicación positiva entre los distintos miembros de la familia. Esta intervención busca la resolución de problemas tales como la adaptación a la nueva situación, a los posibles cambios de roles, a las responsabilidades que aparecen con la enfermedad...

En la terapia grupal participa un grupo de familiares con una serie de problemas comunes, de forma que permite a cada familiar identificarse con otras personas que experimentan la misma realidad. A su vez, se produce un fuerte sentimiento de pertenencia grupal y un gran sentido de solidaridad. El grupo se convierte en el marco donde compartir problemas y dificultades,

donde los familiares se sienten comprendidos, apoyados y reforzados por prestarse atención a sí mismos.

En definitiva, las nuevas familias afectadas por la enfermedad pueden sentirse esperanzadas; se ha progresado en los fármacos y se cuenta con más apoyos, como los que ofrecen las Asociaciones de Familiares de Enfermos de Alzheimer.

Bibliografía

- M. A. Díaz, N. Doménech, C. Elorriaga, S. Elorriaga, A. Ortiz, M. S. Perex, B. Sendagorta. *En casa tenemos un enfermo de Alzheimer*. 2000, 61-76.
- L. Mínguez, E. González, Y. García, A. I. Blanco, R. López, E. Sota, T. Isla, S. Gallinas, A. Rodríguez, M. Hernández. *Alzheimer. Familiares y cuidadores*. 2001, 75-84.

CAPÍTULO 17

RELEVANCIA SOCIO-SANITARIA DE LA INVESTIGACIÓN FARMACOTERÁPICA EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

ANTONIO FERNÁNDEZ

Director Médico. Janssen-Cilag España

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA), caracterizada por una pérdida progresiva de funciones cognitivas y psíquicas, es la forma más frecuente de demencia degenerativa. Su prevalencia se puede considerar elevada y su curso clínico es, por lo general, de lento declinar. La afectación de las funciones superiores del paciente hacen de la EA una de las enfermedades que genera más discapacidad crónica. La investigación de fármacos capaces de revertir o, cuando menos, reducir el impacto del deterioro que sufren estos pacientes se ha convertido en una prioridad para las compañías farmacéuticas. A pesar de estos esfuerzos, las barreras encontradas para el desarrollo en este campo no son pocas. Aún así, se han conseguido desarrollar una serie de fármacos que enlentecen la progresión del deterioro y que han demostrado capacidad para influir positivamente sobre los costes directos que esta enfermedad genera. En la situación actual también se hace necesario evaluar las modificaciones que tendría la implantación efectiva de los actuales tratamientos sobre la calidad de vida del paciente con enfermedad de Alzheimer y especialmente de su cuidador.

Enfermedad de Alzheimer: una pandemia de las sociedades envejecidas

La EA se caracteriza por un deterioro progresivo de las funciones cognitivas y psicológicas del paciente. Se estima que afecta a unos 2,5 millones de europeos¹ y alrededor de 17-25 millones de personas en todo el mundo².

En el campo de la neuroepidemiología de las demencias, la prevalencia ha sido la más investigada. Los estudios publicados muestran una gran variabilidad en los resultados, debidos en parte a la utilización de diferentes criterios diagnósticos. Las estimaciones de prevalencia en nuestro país oscilan entre un 2,2 al 7% de la población de más de 64 años³⁻⁵. La incidencia, aumenta exponencialmente con la edad y, a partir de los 65 años, se multiplica por 3 cada 10 años⁶. Así, la incidencia sería del 1% en un grupo de edad entre los 70 y 79 años y del 3% entre los 80 y 84 años de edad.

Los primeros síntomas de la EA son en su inicio de naturaleza cognitiva, afectando a la memoria, nominación y orientación temporal. Aún así, existe una gran variabilidad en las alteraciones cognitivas iniciales y en la progresión de los mismos, que depende también del entorno social y de la complejidad de tareas que el paciente tenga que realizar⁷. La EA queda caracterizada además por la pérdida de la independencia del paciente, tanto para actividades instrumentales (p. ej.: planificación, economía doméstica, actividades de ocio) como básicas (p. ej.: higiene, vestido, deambulación) que es inexorablemente progresiva hasta que los pacientes llegan a ser completamente dependientes. Otra esfera importante que se afecta en la EA es la frecuente asociación de trastornos psicológicos y de conducta (p. ej.: depresión, delirio, alucinaciones, agresividad, agitación) que complican aún más el cuidado. Los pacientes requieren cuidados cada vez mayores durante un curso que típicamente dura 8-10 años⁸.

Desarrollo farmacológico en la enfermedad de Alzheimer

La EA y otras demencias degenerativas suponen un reto muy elevado para la investigación. En primer lugar, el diagnóstico *ante mortem* es imposible hoy en día con certeza absoluta y no hay ningún parámetro objetivo de progresión de la enfermedad si exceptuamos, quizás, la evaluación neuropsicológica exhaustiva. Esta ausencia de marcadores biológicos plantea un primer reto para la adecuada evaluación de terapias, tanto sintomáticas como modificadoras de la enfermedad. La patogenia de la EA no está determinada por completo lo que dificulta encontrar una diana terapéutica adecuada y plantea la posibilidad que las manifestaciones clínico-patológicas fuesen el resul-

tado de una vía final común a distintas patogenias y, en vez de una enfermedad, tuviésemos que referirnos a un conjunto de trastornos que finalizan en una anatomía patológica común de ovillos neurofibrilares y placas seniles⁹. Finalmente, la ausencia de modelos animales que reproduzcan todos los aspectos de esta compleja enfermedad no permiten una investigación adecuada de posibles agentes terapéuticos. Algunos modelos animales parciales y el desarrollo de cultivos celulares¹⁰ han permitido, sin embargo, un conocimiento de los mecanismos implicados en la patogenia de la EA y plantear objetivos terapéuticos.

Este desconocimiento de la patogenia de la EA y las diversas corrientes teóricas sobre la misma ha venido marcado el desarrollo farmacológico en las demencias¹¹ y al amparo de los conocimientos, se desarrollaron fármacos vasodilatadores selectivos, nootrópicos, suplementos vitamínicos, estrógenos, antiinflamatorios e hipolipemiantes. En la década de los 80 se constata la pérdida inicial selectiva de neuronas productoras de acetilcolina encefálica y se hipotetiza, por analogía con la enfermedad de Parkinson, con que el déficit de acetilcolina era responsable de las alteraciones cognitivas de la EA¹². Esta hipótesis patogénica ha dado lugar a terapias precursoras de acetilcolina y a fármacos que intentan incrementar el tiempo de exposición de la acetilcolina en la sinápsis o modular la actividad de los receptores para la acetilcolina (nicotínicos y muscarínicos). Hoy en día, solo estos últimos han demostrado una eficacia en el tratamiento de las manifestaciones clínicas iniciales de la EA.

El futuro del desarrollo farmacológico seguirá marcado por los conocimientos básicos que se producen. Se están abriendo campos destinados a terapias que tienden a reducir la hiperexcitabilidad neuronal, de acuerdo con las hipótesis excitotóxicas, hoy en auge, y quedan todavía por desarrollarse en la clínica terapias de modificación genética o autoinmune frente a las proteínas patógenas de la EA.

Este desarrollo farmacológico es muy costoso y de alto riesgo. Aunque la prevalencia presente y también futura, observando el envejecimiento de la población, de la enfermedad de Alzheimer sugieran la posibilidad de una elevada rentabilidad de una terapia, sin embargo la industria farmacéutica tropieza con muchas dificultades para el desarrollo terapéutico en este campo. Además de las dificultades ya mencionadas relativas a la ausencia de una diana terapéutica clara y de modelos experimentales fiables, se añaden las dificultades derivadas de la demostración mediante ensayos clínicos de la eficacia de un tratamiento. La falta de marcadores objetivos ha hecho que las Autoridades Sanitarias fijen una serie de criterios para aprobar el uso de un fármaco en la EA, criterios basados en la evaluación seriada de los pacientes por medio de escalas neuropsicológicas que pueden no reflejar un

beneficio real para el paciente o los familiares y que son de difícil aplicación a lo largo de todas las fases de la enfermedad¹⁴.

La EA es una afección crónica. Sin embargo, los ensayos de eficacia se extienden por un periodo máximo de 6-12 meses. Los beneficios potenciales a más largo plazo no se pueden demostrar en ensayos clínicos aleatorizados, ya que éstos son difíciles de mantener por periodos prolongados y no están exentos de condicionantes éticos. Sin embargo, otros grados de evidencia inferiores como podrían ser estudios abiertos controlados no son aceptados por las Autoridades Sanitarias para ser incluidos en las modificaciones de la indicación terapéutica, a pesar de la creciente opinión de su validez científica¹⁵.

Todo esto incrementa los riesgos de un desarrollo farmacológico en este campo y limita seriamente la posibilidad de una terapia efectiva para la demencia¹⁴.

Análisis fármaco-económico de la enfermedad de Alzheimer y sus tratamientos

Esta enfermedad genera unos costes muy elevados tanto directos como indirectos que afectan no solo al paciente y su entorno más cercano sino a toda la sociedad. Actualmente, se considera a la demencia como la tercera enfermedad más costosa detrás de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer¹⁶.

Los costes asociados a la EA son fácilmente divisibles en directos sanitarios e indirectos o sociales (Tabla 1). Además de los costes directos e indirectos, la EA supone un incremento seguro en costes intangibles psicológicos a los familiares y al cuidador principal. Se calcula que España, el coste medio anual por paciente con EA se aproxima a los 19.000 euros¹⁷. Son los cuidados que precisan estos pacientes con una enfermedad discapacitante, los que determinan en mayor medida los incrementos del gasto. No hay que olvidar que un paciente con EA avanzada depende las 24 horas del día de la ayuda y atención de una persona.

En cuanto a los tratamientos antialzheimer disponibles en la actualidad han sido criticados en términos de coste-efectividad. La eficacia clínica ha quedado consistentemente demostrada en los ensayos clínicos realizados, pero han sido muy cuestionada la aplicabilidad clínica de los resultados obtenidos en los ensayos¹⁸.

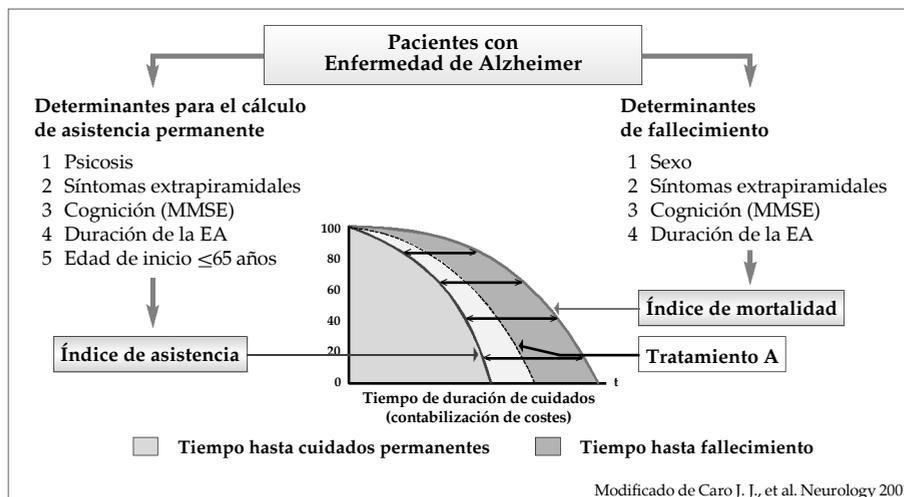
De una parte, el coste neto de los tratamientos antialzheimer se mueve en cifras que no superan el 8% de los costes directos totales de la enfermedad¹⁹, aunque suponen un gasto muy tangible y, por lo tanto, muy fácil para ser sometido a intervención.

Tabla 1

Costes asociados a la enfermedad de Alzheimer

| | |
|--------------------|--|
| DIRECTOS | Cuidados médicos (visitas, hospitalización) Tratamientos farmacológicos Adaptaciones del entorno Atención domiciliaria Cuidadores profesionales Residencias |
| INDIRECTOS | Pérdida productiva del paciente y de familiares (cuidador principal y resto de los familiares) |
| INTANGIBLES | Costes emocionales y psicológicos Calidad de vida de los pacientes y cuidadores |

Recientemente, se han llevado a cabo estudios farmacoeconómicos que indican que estos tratamientos son además coste-efectivos²⁰. Mediante un modelo farmacoeconómico (figura 1) se pueden calcular el tiempo que transcurre hasta que un paciente precisa asistencia total y el tiempo hasta que

**Figura 1**

Modelo de evaluación fármaco-económica. Basado en la historia natural de la progresión de la enfermedad de Alzheimer se puede preveer el tiempo que una población determinada de pacientes progresa hasta requerir asistencia completa (índice de asistencia). Asimismo, también se puede prececir la supervivencia de los pacientes (índice de mortalidad). El tiempo que resta entre estos 2 índices sería el tiempo de más gasto sanitario ya que el paciente se encuentra en una situación de necesidad completa de ayuda. Un tratamiento será coste-efectivo si logra modificar la curva de progresión de la enfermedad de tal manera que disminuya el tiempo que los pacientes necesiten ayuda completa.

fallece. La diferencia entre ambos índices será el tiempo que el paciente se encuentra en una situación de cuidados permanentes. Este gasto en cuidados permanentes supone el mayor desembolso económico y es cuantificable. Un tratamiento que sea capaz de aumentar el tiempo de funcionalidad de los pacientes será, por tanto, coste-efectivo. En este modelo, los 3 fármacos disponibles actualmente para el tratamiento específico de la EA, han demostrado coste-efectividad²¹.

A pesar de los avances realizados en la investigación farmacológica de la EA en las últimas décadas, todavía quedan muchos retos por afrontar. Además, a pesar de que la prevalencia de la EA es alta, la tendencia a utilizar tratamientos en este grupo de población sigue siendo alarmantemente baja. No obstante, la investigación e inversión en la búsqueda de terapias deben ser perseguida por la relevancia socio-sanitaria que esta enfermedad tiene. Incluso la búsqueda de terapias sintomáticas es importante ya que el simple retraso en las manifestaciones clínicas durante 5 años, reduciría considerablemente el número de pacientes necesitados de cuidados mínimos.

Conclusiones

La enfermedad de Alzheimer supone un reto muy importante para el desarrollo farmacéutico. Un conjunto de dificultades y barreras se alzan en una sucesión que parece imbatible con los conocimientos actuales. La escasez de modelos experimentales, de marcadores biológicos de la enfermedad y de su progresión, las dificultades en el diseño de ensayos clínicos y en la demostración de eficacia son limitaciones que incrementan el riesgo de una inversión en esta patología.

Además, hasta la fecha, los tratamientos disponibles para la EA, no son mayoritariamente utilizados. A pesar de los beneficios demostrados en los ensayos clínicos y de su potencial influencia en la calidad de vida de las familias de pacientes con demencia, se estima que en España de los 500.000 pacientes con EA sólo reciben tratamiento algo más de un 10%. Más aún, el mantenimiento del tratamiento de forma crónica también es problemático calculándose una media de 120 días de tratamiento por paciente, a pesar de la existencia de datos clínicos de efectividad por periodos de al menos 1 año²².

El futuro no es por tanto esperanzador, pero más que nunca se deben de aunar esfuerzos por parte de la industria farmacéutica, las autoridades sanitarias y la investigación básica para dar solución a esta epidemia silente que es la demencia.

Bibliografía

1. Rocca W.A., Hofman A., Brayne C., et al. *Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 prevalence findings. The EURODEM-Prevalence Research Group*. Ann. Neurol. 1991, 30: 381-90.
2. Kukull W.A., Ganguli M. *Epidemiology of dementia: concepts and overview*. Neurol. Clin. 2000, 18: 923-50.
3. Manubens J.M., Martínez-Lage J.M., La Cruz F., et al. *Prevalence of Alzheimer's disease and other dementing disorders in Pamplona, Spain*. Neuroepidemiology. 1995, 14: 155-64.
4. García García F.J., Sánchez Ayala M.I., Pérez Martín A., et al. *Prevalencia de demencia y de sus subtipos principales en sujetos mayores de 65 años: efecto de la educación y ocupación. Estudio Toledo*. Med. Clin. (Barc). 2001, 116: 401-7.
5. Lobo A., Launer L.J., Fratiglioni L., et al. *Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts*. Neurology 2000, 54 (Suppl. 5): S4-S9.
6. Aronson M.K., Ooi W.L., Geva D.L., Masur D., Blau A., Frishman W. *Dementia. Age-dependent incidence, prevalence, and mortality in the old old*. Arch. Intern. Med. 1991, 151: 989-92.
7. American Psychiatric Association Clinical Resources. *Practice Guideline for the Treatment of Patients With Alzheimer's Disease and Other Dementias of Late Life* (en línea) http://www.psych.org/clin_res/pg_dementia_3.cfm, consultado 26.08.02.
8. Gauthier, S. *Update on diagnostic methods, natural history and outcome variables in Alzheimer's disease*. Dement. Geriatr. Cogn. Disord. 1998, 9 (Suppl. 3): 2-7.
9. Förstl H. *What is Alzheimer's disease?* En: O'Brien J., Ames D., Burns A. (eds.) *Dementia, 2nd edition*. Londres, Arnold 2000: 371-382.
10. Quon D., Wang Y., Catalano R., et al. *Formation of β -amyloid protein deposits in brains of transgenic mice*. Nature 1991, 352: 239-41.
11. Sano M., Mitsis E.M. *Alzheimer's disease treatment and management*. En: Johnson R.T., Griffin J.W. McArthur J.C. (eds.) *Current therapy in neurologic disease*, 6th ed. St. Louis, Mosby 2002: 308-311.
12. Bartus R.T., Dean R.L., Beer B., Lippa A.S. *The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction*. Science 1982, 217: 408-417.
13. Whalley L., Leaper S. *Non-cholinergic therapies of dementia*. En: O'Brien J., Ames D., Burns A. (eds.) *Dementia, 2nd edition*. Londres, Arnold 2000: 559-570.
14. Anand R. *Barriers to Alzheimer disease drug discovery and drug development in the pharmaceutical industry*. Alz. Dis. Assoc. Disord. 2002, 16 (suppl. 1): S33-S39.
15. Concato J., Shah N., Horwitz R. I. *Randomized, Controlled Trials, Observational Studies, and the Hierarchy of Research Designs*. N. Engl. J. Med. 2000, 342: 1887-1892.
16. Meek P.D., McKeithan E.K., Schumock G.T. *Economic considerations of Alzheimer's disease*. Pharmacotherapy 1998, 18: 68-73.
17. Boada M., Peña Casanova J., Bermejo F., Guillén F., Hart W.M., Espinosa C., Rovira J. *Coste de los recursos sanitarios de los pacientes en régimen ambulatorio diagnosticados de enfermedad de Alzheimer en España*. Med. Clin. (Barc). 1999, 113: 690-5.
18. Wilkinson D. *How effective are cholinergic therapies in improving cognition in Alzheimer's disease?* En: O'Brien J., Ames D., Burns A. (eds.) *Dementia, 2nd edition*. Londres, Arnold 2000: 549-558.
19. Domínguez Castro A., López Alemán J.M. *La enfermedad de los costes indirectos*. Economía de la Salud, 2002, junio: 52-54.

20. Caro J.J., Getsios D., Migliaccio-Walle K., et al. *Assessment of health economics in Alzheimer's disease (AHEAD) based on need for full-time care*. Neurology 2001, 964-971.
21. Getsios D., Caro J.J., Caro C., Ishak K., for the AHEAD Study Group. *Assessment of health economics in Alzheimer's disease (AHEAD): Galantamine treatment in Canada*. Neurology 2001, 57: 964-971.
22. Raskind M.A., Peskind E.R., Wessel T., Parys W., Yuan W., for the Galantamine USA-1 Study Group. *Galantamine in Alzheimer's disease – A 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension*. Neurology 2000, 54: 2261-68.

© FARMAINDUSTRIA 2003

Realización: Equipo de Diseño La Luna de Madrid, S.A.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de la presente obra bajo cualquiera de sus formas, gráficas o audiovisuales, sin la autorización previa y escrita del editor, excepto citas en revistas, diarios o libros, siempre que se mencione la procedencia de las mismas.

Depósito legal: M-7088-2003

Imprime: Eurocolor S.A.