S. Manzano[1]
J. L. González[1]
A. Marcos[1]
M. Payno[2]
C. Villanueva[2]
J. Matías-Guiu

Modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer

Servicio de Neurología
Instituto Neurociencias
Hospital Clínico San Carlos
Madrid

[1]Unidad de Estudio de la Cognición y la Conducta
[2]Sección de Neuropsicología

Introducción. La enfermedad de Alzheimer (EA) constituye la primera causa de demencia (60-80% del total). Su diagnóstico definitivo se realiza a través de los hallazgos anatomopatológicos de los cerebros de pacientes afectos. Desde los años 70 del pasado siglo se han desarrollado modelos experimentales que nos han permitido profundizar en su conocimiento y poner en marcha nuevas estrategias terapéuticas.

Método. Se revisan todos los artículos publicados concernientes a modelos experimentales de EA, así como las nuevas estrategias terapéuticas basadas en ellos empleando la base de datos PubMed.

Resultados. El objetivo de los modelos animales es conseguir replicar los síntomas y las lesiones responsables de la EA. Exsisten modelos animales basados en el metabolismo de la proteína precursora del amiloide (APP) (APP humana-*wild type* wt– o las formas mutadas), otros basados en la presenilina (PS) (ratones transgénicos que sobreexpresan la forma *wild-type* o las mutadas), los dobles mutantes PS/APP. Otros basados en la proteína tau (tau-JNPL3) y los triple transgénicos PS/APP/tau. También se dispone de líneas con alteración de la expresión de la neprelisina, principal enzima en la degradación de Aß, así como de APOE. Otros modelos son la rata, el embrión de pollo, el perro, los cetáceos y los primates, los cultivos de neuronas hipocámpicas maduras y el efecto de los oligómeros de Aß sobre ellas (especies tóxicas solubles).

Conclusiones. Los modelos experimentales suponen una herramienta decisiva para el conocimiento de las enfermedades neurodegenerativas como la EA. Además permiten el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

Palabras clave:
Modelos experimentales. Enfermedad de Alzheimer. Ratones transgénicos. Modelos celulares. Tratamiento.

Neurología 2009;24(4):255-262

Experimental models in Alzheimer's disease

Introduction. Alzheimer´s disease (AD) is the most common neurodegenerative disease and (it accounts for 60-80%). The certain diagnosis is made thanks to the brain patients study. Since 1970 there have been developed experimental models that have done a deep approach of this disease and new therapeutic researching.

Methods. We review all the papers published about experimental models in AD, and all the new therapeutical approaches base don them using the database Pubmed.

Results. Animal models aim to replicate the symptoms, the lesions or the cause(s) of AD. It has been described many experimental models in AD. There are animal models based on the metabolism of the amyloid precursor protein (APP) (human APP-wild type wt– o the mutants forms), other based on Presenilin (PS) (transgenic mice that overexpress the form wild-type or the mutant ones), the double mutants PS/APP that develop the lesions earlier. There are other based on tau protein (tau-JNPL3) or the triple transgenic PS/APP/tau. There are also lines with altered expression of neprilysin, the main degrading enzyme of Aß and also models based on APOE. Other models are rats, chick embryo, dog, primates and cetacean, cell culture of mature hippocampic neurons and the effects of the Aß oligomers in them (soluble toxic species).

Conclusions. Experimental models in AD have supposed a key tool in order to know deeply about neurodegenerative diseases, over all AD. Besides they allow us design new therapeutic approaches.

Key words:
Experimental models. Alzheimer´s disease. Transgenic mice. Cellular models. Treatment.

Correspondencia:
Sagrario Manzano
Servicio de Neurología
Hospital Clínico San Carlos
Avda. Profesor Martín Lagos, s/n
28040 Madrid
Correo electrónico: neurol@salud.madrid.org

Recibido el 21-7-08
Aceptado el 28-7-08

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo etiológicamente heterogéneo. El progreso en lo concerniente a la etiopatogenia de la EA sufrió un curso evolutivo lento hasta mediados de 1985, cuando los estudios en enfermos por encima de 30 años con trisomía del par 21 (síndrome de Down) revelaron que poseían ovillos neurofibrilares y placas seniles, sugiriendo que genes localizados en este cromosoma serían capaces de inducir el espectro patogénico de la EA[1]. En 1991, el estudio de una familia con ligamiento positivo puso de manifiesto que el locus de la enfermedad se

localizaba en la parte central del brazo largo del cromosoma 21 y codificaba la llamada APP (proteína precursora del amiloide). Es una glicoproteína de membrana con un largo dominio NH_2 terminal, una región transmembrana y un extremo citoplasmático C-terminal. Tiene 18 exones, con el péptido Aß codificado por los exones 16-17[2]. Diferentes transcriptos de APP (365, 563, 695, 714, 751 y 770) son generados por *splicing* alternativo principalmente de los exones 7 y 8[3]. Sólo las formas de APP 695, 714, 751 y 770 contienen la secuencia Aß y, por tanto, son potencialmente amiloidogénicos. Las dos formas potenciales de generar EA por mutaciones de APP implican la alteración de la función de la proteína o menos probablemente de Aß, o por otro lado un trastorno en el procesamiento de APP con el consecuente depósito de APP. En la neurona, la APP es sintetizada en el perikarion y transportada por flujo axonal rápido a la terminal sináptica donde probablemente está implicada en el mantenimiento de la interacción sináptica[4]. Existe una evidencia sustancial de que la EA no se produce como consecuencia de una pérdida de función de la APP a su vez causada por una mutación, sino por la anormal producción de Aß y la toxicidad de este producto. La APP es degradada en varios fragmentos, en primer lugar entre la Lys687 y la Leu688 por la α-secretasa, y, en segundo lugar, en la posición Met671 y Asp672 por la ß-secretasa y finalmente a partir de la posición Ile712 por la γ–secretasa. Tanto la ß-secretasa como la γ–secretasa producen fragmentos amiloidogénicos, algunos de ellos conteniendo el fragmento Aß intacto[5-7]. El fragmento Aß es una proteína de 4.2 KDa que aparece tras el corte proteolítico de la APP y tiene 40, 42 o 43 aminoácidos ($Aß_{1-40}$. $Aß_{1-42}$ y $Aß_{1-43}$). Para la actividad de clivado proteolítico se precisan las presenilinas y las nicastrinas. Ambas son parte del complejo multimérico γ–secretasa que es necesario para la proteolisis intramembranosa de las proteínas tales como Notch, GLP-1 *(glucagon-like peptide-1)* y APPß[8].

Un segundo locus relacionado con una forma dominante de EA se localizó en el cromosoma 14 (q24-qter)[9], que codifica una proteína denominada Presenilina 1 (PSE-1)[10]. El gen contiene 10 exones y codifica una proteína de 467 aminoácidos, que posee de 7 a 10 dominios transmembrana.

En un grupo de familias con patrón de herencia AD y en las que el debut de la enfermedad acontece entre los 50 y 65 años, conocidas como las familias alemanas del Volga[11], se identificó un locus en el cromosoma 1q31 que codifica una proteína homóloga a la codificada por el gen S182 (en 14q24.3). La proteína se denominó Presenilina 2 (PSE-2)[12]. Esta proteína, constituida por 448 aminoácidos, tiene un porcentaje de homología con la S182 que alcanza el 84 % de los dominios hidrofóbicos transmembrana.

Otro gen involucrado se sitúa en el brazo largo del cromosoma 19, y que, a diferencia de lo descrito hasta ahora, constituye un polimorfismo de riesgo. Presenta una especial relevancia en la EA de inicio tardío. Codifica una proteína de 299 aminoácidos, denominada Apolipoproteína E (APO E), ya identificada como trasportador de colesterol en sangre. Aunque no se han descrito mutaciones en esta proteína, existe una variante alélica, la e4, que es la menos frecuente (aproximadamente un 15% del total) y que incrementa de manera sustancial el riesgo de padecer la enfermedad.

Finalmente mencionaremos a la proteína tau como marcador importante en la EA. Se localiza fundamentalmente a nivel intracelular (NFT), y los axones distróficos rodean al core de la placa amiloide y el neuropilo se degrada. A la microscopía electrónica la proteína tau se acumula como filamentos helicoidales pareados.

Existen enfermedades en animales que son semejantes a la EA del ser humano. Destacamos el caso de los monos de edad avanzada, que desarrollan ovillos y placas seniles; también los perros, gatos y ratones *(Microcebus murinus)* de edad avanzada. Ninguno de ellos se constituyó como el modelo más práctico para su utilización. En la investigación de las enfermedades donde acontece una neurodegeneración ha resultado fundamental la introducción de diferentes modelos experimentales[13]. El verdadero punto de partida en la investigación con modelos experimentales procede de la tecnología de los transgenes. Y en concreto de los ratones transgénicos[14]. Hay trabajos sobre modelos experimentales celulares o en ratas, por ejemplo, los trabajos que llevaron al descubrimiento de la neprelisina[15], en embrión de pollo[16], en invertebrados como la *Drosophila melanogaster*[17], en *Caenorhabditis elegans*[18], y se postula la conveniencia de emplear otros modelos como el perro, los primates o cetáceos por su proximidad filogenética y su mayor longevidad (similar al hombre)[19]. Las moscas y los gusanos juegan un papel en las llamadas «*gene factories*» que son útiles en el estudio de las interacciones proteicas y vías moleculares[20]. Los cultivos celulares han sido útiles para elucidar la topografía subcelular de la actividad de las secretasas. La BACE se localiza en los endosomas y también en la membrana celular[21]. Inmunorreactividad a las PS 1 se encuentra en el retículo endoplásmico, mientras que el clivado γ-secretasa tiene lugar lejos del retículo endoplásmico («la paradoja espacial» de la PS). La producción del péptido $Aß_{42}$, pero no de $Aß_{40}$, parece que acontece en el retículo endoplásmico/compartimento intermedio[22], mientras que la producción de $Aß_{40}$ se produce exclusivamente en red trans-Golgi[23]. Otros modelos experimentales emplean cultivos de células (neuronas hipocámpicas maduras)[24] para analizar el impacto de los oligómeros de Aß, especies tóxicas cada vez más implicadas en la etiopatogenia de la EA.

La ingeniería genética del ratón puede lograrse mediante dos procedimientos básicos. Ratones transgénicos al insertar un gen extraño (transgen) en el genoma del ratón. Y, por otro lado, la denominada *gene targeting*, que consiste en la modificación selectiva de secuencias genómicas específicas por recombinación homóloga. A su vez, este procedimiento tiene dos vertientes. La denominada inhibición de la expresión de un gen obteniéndose en ratones *knock-out* o el reemplazamiento de un gen endógeno por otro exógeno obtenido en ratones *knock-in*[25]. En el caso concreto de la EA, los modelos se fundamentan en función de la proteína mutada. De esa forma existen modelos basados en la APP (ratones transgénicos que sobreexpresan APP humana-*wild-type*-wt– o formas mutadas que presentan algunos humanos), y modelos basados en la Presenilina (PS), tau y APOE de os que se hablará más adelante.

En el presente artículo se ha procedido a realizar una revisión de los modelos experimentales empleados en el estudio de la EA, considerando sus ventajas e inconvenientes, así como su gran aplicabilidad en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

MODELOS ANIMALES EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER: RATONES TRANSGÉNICOS

Un modelo experimental de ratón que recapitule todos los aspectos de la EA no ha sido generado hasta la fecha, y es precisamente esto lo que revela las limitaciones de utilizar un roedor para reproducir una enfermedad del humano que se desarrolla durante décadas, frente la corta vida de éstos y la implicación de funciones mentales superiores. Sin embargo, existen líneas de ratones transgénicos que reproducen características de la enfermedad y que vamos a proceder a exponer (ver tabla 1)[26].

Tabla 1 Modelos experimentales más desarrollados en ratones de la enfermedad de Alzheimer[63]

Modelo	Descripción
PDAPP	Primer modelo de ratón transgénico con abundantes placas en la neuropatología[64]. Los ratones expresan la forma cDNA humana de la mutación Indiana (APP_{V717F}) con porciones de intrones APP 6-8. Este modelo se ha empleado extensamente en terapias basadas de la inmunización. Desde la edad de 6 meses, los ratones heterocigotos desarrollan depósitos visibles extracelulares de péptido Aß en el hipocampo, y a los 8 meses en el isocortex[65]. Algunos depósitos son amiloide (Rojo Congo y tioflavina S positivos). El péptido Aß se encuentra también en las paredes vasculares
Tg2576	Ratones mutantes que expresan APP_{SWE} (la isoforma 695 de hAPP con la doble mutación sueca-K670N/M671L) bajo el control de un prión de promotor de hamster[66]. Es uno de los modelos transgénicos más empleados. A los 9-11 meses de edad aparecen depósitos difusos y focales en los animales heterocigotos)
APP23	Ratones que expresan la mutación APP_{SWE} bajo el control del promotor Thy1[67]. Existe un depósito congófilo difuso del péptido Aß en el parénquima y los vasos en ratones de 6 meses de edad
TgCRND8	Ratones que expresan múltiples mutaciones de APP (Sueca e Indiana-hAPP695 K670N,M671L + V717F) bajo el promotor que es un prion de hamster[68]. Desarrolla placas a los 3 meses de edad. La elevada concentración de péptido Aß y el ratio rápidamente elevado de $Aß42/Aß_{40}$ explica porqué este modelo es particularmente agresivo
$PSEN1_{M146V}$ o $PSEN1_{M146L}$	Estos modelos fueron la primera demostración in vivo que la PS1 mutada eleva selectivamente $Aß_{42}$[69]
PSAPP	Tg2576x$PSEN1_{M146L}$[70], PSEN1-A246E+ APP_{SWE}[71]. Ratones trangénicos bigénicos. El añadir el transgen mutado de PS1 acelera marcadamente la patología amiloide
hAPP H6, J9 y J20 hAPP	Existen varias líneas de ratones transgénicos que expresan, a varios niveles, la forma salvaje-*wild-type,* o la mutada hAPP bajo el promotor PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas)[72]. La líneas J9 y J20 al igual que Tg CRND8 expresan hAPP con la mutación Sueca e Indiana. En estas líneas, el transgen humano es la isoforma 770. La línea J9 («hAPPlow») expresa un moderado nivel de APP neuronal y de Aß. El nivel de expression es mayor en la línea J20[73]. La línea H6 también expresa la hAPP con la mutación Indiana bajo el control del promotor PDGF[74]
APP_{Dutch}	Ratones que expresan APP con la mutación Danesa que produce hemorragia cerebral con depósito amiloide tipo Danés en humanos. Estos ratones producen angiopatía amiloide congófila severa[75]. La mutación E693Q de APP induce a una angiopatía amiloide masiva, como lo descrito en pacientes Daneses. La enfermedad ha sido replicada generando una línea de ratón que expresa hAPP751 con la mutación E693Q bajo el promotor Thy1.2
ARC6 y ARC48	La mutación Arctic (E22G) se localiza en la secuencia Aß. Estimula la fibrilización de Aß sin cambios en el ratio $Aß42/Aß_{40}$[76]
BRI-$Aß_{40}$ o BRI-$Aß_{42}$	Ratones que expresan isoformas Aß sin sobreexpresión de APP[77]
JNPL3	Ratones que expresan 4RON MAPT con la mutación P301L[78]. Fue el primer modelo trangénico, con marcado depósito de ovillos neurofibrilares y pérdida celular, demostrando que MAPT puede producir daño celular
Tau_{P301S}	Ratones transgénicos que expresan la isoforma más corta de 4R MAPT con la mutación P301S[79]
Tau_{V337M}	La síntesis de bajos niveles de 4R MAPT con la mutación V337M dirigido por el promotor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)[80]
$TauR_{406W}$	Ratones que expresan 4R MAPT humana con la mutación R406W bajo el control del promotor CAMKII[81]
rTg4510	Ratones trangénicos con MAPT inducible utilizando el sistema TET-off[82]
Htau	Ratones transgénicos que expresan la MAPT humana exclusivamente (raton *knocked-out* para MAPT)[83]
TAPP	Tg2576Xjnpl3. Incrementa la neuropatología MAPT en ratones TAPP comparado con JNPL3, lo que sugiere que la APP mutada y/o Aß pueden afectar a la propagación de la patología MAPT[84]
3xTgAD	Triple modelo trangénico que expresa la APP_{SWE}, $MAPT_{301L}$ en un ratón *Knock-in* para $PSEN1_{M146L}$ (PSEN1-KI)[85]

Modelos basados en la proteína precursora del amiloide (APP)

La neurodegeneración de las neuronas colinérgicas, noradrenérgicas, serotoninérgicas, gabaérgicas y glutamatérgicas se observa en distintas áreas cerebrales relacionadas con la memoria como pueden ser el córtex de asociación y el sistema límbico. El *hallmark* para su diagnóstico es la presencia de depósitos extracelulares de amiloide e intracelulares de NFT. Los depósitos de amiloide son agregados de ß amiloide (Aß), péptidos de 39 a 43 aminoácidos que derivan de una gran proteína transmembrana denominada APP. Los NFT son filamentos helicoidales compuestos por proteína tau hiperfosforilada asociada a microtúbulos. Hasta la fecha las mutaciones identificadas en familias con EA (APP/PS) alteran el procesamiento de la APP con la consecuente acumulación de Aß. En concreto, la producción del péptido $Aß_{42}$ incrementa la predisposición a formar depósitos a amiloide[27]. Las investigaciones en la EA se han realizado tradicionalmente mediante el estudio de cerebros humanos (autopsia) o mediante la reproducción de lesiones específicas en cerebros de ratas. Sin embargo, la generación de modelos animales es de especial relevancia. La mayoría de los esfuerzos se han concentrado en la construcción de modelos de ratones transgénicos que sobreexpresen APP humana *(wild-type-wt)* o las formas mutadas que presentan algunos humanos. La primera se desarrolló en los años 90 y fracasó al generar depósitos Aß después de sobreexpresar APP en ratones, probablemente por una expresión transgénica insuficiente o por el *background* genético de los mismos. En 1995, Games et al. utilizaron la región promotora del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) para sobreexpresar un cDNA –minigen de APP (incluyendo varios intrones para producir variaciones alternativas *spliced)*– con la mutación V717F[28]. Este minigen sobreexpresaba las tres isoformas mayores de la APP humana (APP695, 751 y 770) en los ratones. El ratón transgénico generado se llamó PDAPP (ver tabla 1) y mostraba depósitos extracelular de Aß, así como placas neuríticas tras 6-9 meses de edad, pérdida sináptica y microgliosis. Se producían acúmulos primariamente de $Aß_{42}$, aunque también de $Aß_{40}$. La distribución de las lesiones en todos los modelos de ratones transgénicos es similar, con un gran número de depósitos marcados en las regiones más afectadas. Existen algunas diferencias como la mayor producción de péptido $Aß_{42}$ respecto al $Aß_{40}$ en ratones que expresan la mutación V717F. En aquellos con la mutación L670/M671L existe una proporción similar de ambos péptidos. Para obtener placas Aß en ratones, la APP debe estar sobreexpresada al menos 4 o 5 veces más respecto a los niveles endógenos, siendo el determinante crítico un incremento en el ratio péptido $Aß_{42}/Aß_{40}$. Un dato importante respecto a la mayoría de ratones APP es que no desarrollan NFT, y no se observa pérdida neuronal en el córtex entorrinal, CA1 o córtex cingulado. Solo una línea de ratón transgénico llamado APP23 muestra perdida neuronal en región CA1 del hipocampo a los 14-18 meses de vida. Esa pérdida neuronal rodea los depósitos de Aß[29]. El hipometabolismo cerebral se observa en ratones APP jóvenes, antes del depósito Aß en áreas cerebrales afectadas por la EA y probablemente debidas a niveles anormales de APP y Aß. En paciente con EA, las alteraciones del metabolismo cerebral también ocurren y se relacionan con el declinar cognitivo[30].

Los modelos de trisomía del par 21 también se han estudiado ampliamente. El cromosoma 21, que está presente en dosis triple en el síndrome de Down, contiene el gen de la APP. Eso explica porqué hallamos lesiones anatomopatológicas de EA en ellos a edades relativamente tempranas. Un paciente excepcional con trisomía parcial en el cromosoma 21 que no incluía el gen de la APP no desarrolló EA[31]. Por otro lado, microduplicación del gen de la APP, induce una EA con angiopatía amiloide prominente[32]. Modelos de trisomía del par 21 (trisomía 16 en el ratón) han sido generados y proporcionan información no sólo a cerca del papel del gen de la APP, sino también de los genes contiguos en la patología. Dos trisomías segmentarias de modelos 16, Ts65Dn y Ts1Cje, poseen consecuencias diferentes. En la Ts65Dn[33] un gran segmento del cromosoma 16, incluyendo el gen de la APP, se encuentra en 3 copias, mientras que el segmento triplicado en el ratón Ts1Cje es más pequeño y no incluye el gen de la APP ni el gen de la superoxido dismutasa 1 (SOD1)[34]. Niveles elevados de APP mRNA y de la proteína misma han sido detectados en el ratón Ts65Dn en el estriado a la edad de 6–8 meses, y en el hipocampo y córtex parietal a los 13–16 meses de edad. Los niveles $Aß_{42}$ se elevan a la edad de 6 meses. A esta edad, las neuronas colinérgicas del cerebro basal (BFCN) comienzan a degenerarse[35], y esto se relaciona con el deficiente transporte retrógrado del factor de crecimiento nervioso (NGF)[36,37]. Ni la tau total ni la tau fosforilada en posición serina 199 están elevadas en el ratón Ts65Dn[38]. Como era esperable, el nivel de $Aß_{42}$ es normal en el ratón Ts1Cje (que posee las dos copias normales del gen APP) y no existe degeneración del cerebro basal. Sin embargo, y de forma inesperada, una fosforilación anómala de tau se detectó en esta línea de ratones sin formación de ovillos[39]. En el modelo «transcromosómico» 21 (Tc1), un cromosoma humano 21 casi completo se incorpora al genoma del ratón[40]. En el cerebro basal de los ratones Ts65Dn, las neuronas desarrollan grandes endosomas a los 2 meses. No existe aumento de tamaño de los endosomas en los ratones Ts1Cje (no sobreexpresión de APP) o en ratones transgénicos con sobreexpresión de APP751 con la doble mutación Sueca o en combinación con la mutación London[41]. La causa del aumento de los endosomas se desconoce actualmente.

Modelos basados en la presenilina (PS)

Se han encontrado mutaciones del tipo *missense* responsables de EA familiar de inicio precoz tanto en PS1 como en PS2. Ratones transgénicos que sobreexpresan la forma salvaje o la mutada fracasaron al no desarrollar neuropatología del tipo EA. Sin embargo, al cruzar transgénicos APP y PS –dobles mutantes PS/APP– se observó una aceleración del depósito Aß[42,43]. El modelo doble transgénico APP y BACE (ß-secretasa) (con el promotor del gen de la Ca2+/calmodulina-dependiente proteina kinasa II=CaMKII) posee un recambio aumentado de la serotonina y muestra un comportamiento más agresivo que los controles[44]. Los ratones hAPP han sido cruzados con los ratones que sobreexpresan BACE1. La coexpresión de BACE1 en un transgénico APP incrementa la densidad de depósitos Aß de forma focal o difusa, pero, inexplicablemente, disminuye de forma dramática la severidad de la angiopatía amiloide. Esto se consideró como consecuencia de la abundancia de especies Aß N-truncadas. En esta hipótesis, el péptico Aß N-truncado se acumula fundamentalmente en le parénquima, mientras que el péptido Aß de longitud completa se acumula en los vasos sanguíneos[45].

El doble modelo APP y PS (γ-secretasa) también ha sido estudiado. La cotransfección de la forma humana mutada de PS1 (M146L o M146V) disminuye significativamente la edad de detección de placas[46-48], y lo más probable es que se deba a un incremento de la cantidad de $Aß_{42}$ secretada. El tipo salvaje de PS1 o PS2 no posee efecto[49]. En los ratones C3-3 cruzados con ratones que expresan la forma mutada de PS1, los depósitos Aß son visibles a los 9 meses[50,51]. La línea PSAPP se obtiene de cruzar ratones Tg2576 con los que expresan la forma mutada humana PS1M146L. Los depósitos de amiloide están presentes a los 6 meses de vida (9 meses en los Tg2576).

Los ratones *knock-out* (KO) para PS1 no son viables. Presentas defectos a nivel esquelético y el sistema nervioso central (hemorragias, deficiencias en la neurogénesis) que en parte pueden ser debidas al papel de la γ-secretasa en la señalización de Notch[52].

Modelos basados en Tau

Tau es una proteína fosforilada que pertenece a la familia de las proteínas asociadas a los microtúbulos. Se une a la tubulina y facilita la polimerización de los túbulos[53]. Tienen una localización axonal subcelular en el cerebro del adulto normal. Cuando está fosforilada, se separa de la tubulina que depolimeriza y esto ocurre a favor del crecimiento axonal y la plasticidad. Se conocen 6 isoformas de la proteína[54] y difieren entre sí en función de la presencia o ausencia de los exones 2, 3 o 10. El *splicing* alternativo del exón 10 produce tanto la forma tau con 4 repeticiones (4R) como la forma tau con 3 repeticiones (3R)[55]. La forma tau hiperfosforilada es el principal constituyente de los NFT en la EA, y contiene tanto 3R como 4R. La fisiología de la proteína tau es diferente en ratones adultos y en humanos adultos. El cerebro del ratón contiene exclusivamente isoformas 4R, mientras que en el humano adulto normal existe un equilibrio entre 3R y 4R. Los NFT se obtienen empleando ratones que expresan la proteína tau humana mutada (P301L) –JNPL3–, que causa degeneración neurofibrilar. Al cruzar estos ratones con ratones Tg2576 que sobreexpresan APP se induce la producción tanto de NFT en el sistema límbico y córtex olfatorio, como depósitos Aß[56]. Para analizar el mecanismo de progresión de los NFT se generaron ratones que expresan la variante humana tau (rTg4510). El transgen respondedor consistía en un elemento tetracyclina operon-respondedor situado en el extremo de un cDNA que codifica la proteína tau 4R y la mutación P301L. La doxiciclina, cuando se introducía en la comida o en el agua, suprimía la expresión del transgen. Antes de la administración de la doxiciclina, los ratones desarrollaban NFT en relación con la edad, pérdida neuronal y deterioro de la conducta; cuando la expresión de la tau humana estaba representada, el déficit cognitivo se recuperaba y la pérdida neuronal permanecía estable, aunque el número de ovillos continúa incrementando. Esta observación sugirió que el efecto tóxico de tau no se ligaba a las lesiones visibles (NFT), pero sí a otras especies tau, cuya producción se prevenía al reprimir el gen tau[57]. Estas tau parecen, al igual que ocurre en la patología Aß, multímeros[58]. Los multímeros tau tóxicos de 140 y 170 kDa contienen probalemente la tau de longitud completa[59].

Los triples transgénicos

Los ratones triples transgénicos son aquellos mutados para APP/PS/tau. Han sido creados al pertenecer los 3 transgenes al mismo locus. Estos ratones muestran depósito Aß dependiente de la edad y región específicos, así como déficits cognitivos relacionados con Aß intraneuronal[60]. El triple trangénico que espresa 3R, la mutación Sueca y London de APP y la PS1 con la mutación M146L, no desarrolla ovillos neurofibrilares, sin embargo, el transgen humano tau y epítopos de tau hiperfosforilada se encontraron en el componente nerítico de la placa[61].

La relevancia fisiológica de un triple transgénico para explicar las forma esporádicas e incluso familiares de EA no radica en poder dar una explicación a cerca de la causa de la enfermedad, ya que no hay enfermedad humana causada por una triple mutación de los genes PS1, APP y tau. Sin embargo, se obtiene conclusiones sobre el depósito de Aß y como éste precede a la patología tau (esto ocurre en el modelo animal, sin garantías de que ocurra en el humano).

Modelos basados en apolipoproteína E (APOE)

Como se ha comentado, APOE es un factor de riesgo para la EA. Cruzando ratones transgénicos APP con *knock-out* APOE se ha mostrado que la APOE puede afectar al la localización anatómica y los depósitos Aß[62].

OTROS MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Cultivos celulares

De forma creciente, los estudios recientes sobre la fisiopatología de la EA se han centrado en el papel de los llamados oligómeros solubles de Aß, consideradas especies tóxicas que alteran la función sináptica y, por consiguiente, deterioran la memoria[86]. Se han generado anticuerpos anti-Aß para intentar reducir los niveles de Aß, de lo que se hablará más adelante. Sin embargo, la mayoría de las funciones cognitivas ocurren a pesar de la ausencia de cambios en los depósitos Aß, de nuevo apuntando al papel neurotóxico de los oligómeros[87]. Podemos destacar el estudio realizado por Lacor PN et al. sobre le impacto de los oligómeros Aß solubles en las espinas dendríticas empleando cultivos de neuronas hipocámpicas maduras[88]. En él se concluye que la anormalidad inducida por estas especies tóxicas en la composición de las espinas, su forma y abundancia, apoya firmemente la hipótesis de que podrían ser los responsables e iniciar los mecanismos que subyacen al daño del neuropilo. Este hecho ha permitido trazar nuevas estrategias terapéuticas que bloqueen la producción de los oligómeros Aß y así previniendo la pérdida patológica crítica de la conectividad sinática.

Otros modelos

Otros modelos que han servido como base para el estudio de la EA son la rata, mencionar los trabajos que llevaron al descubrimiento de la neprelisina[89], en embrión de pollo[16], en *Drosophila melanogaster*[90] y en *Caenorhabditis elegans*[91]. Se ha postulado la conveniencia de emplear otros modelos como el perro, los primates o cetáceos por su proximidad filogenética y su mayor longevidad (similar al hombre)[92], sin embargo, como ya se ha reflejado con anterioridad, la mayor parte de los trabajos se fundamentan en modelos animales en ratones por ser un homólogo humano a nivel del 99% del genoma[93].

CONCLUSIONES

La mayor parte de los trabajos sobre modelos experimentales de EA se fundamentan en modelos animales en ratones por ser un homólogo humano a nivel del 99% del genoma[93].

Su manipulación genética es una estrategia poderosa para investigar la función de los genes y generar modelos animales de enfermedades.

No existe un modelo ideal en el caso de la EA. Existen modelos basados en la APP (ratones transgénicos que sobreexpresan APP humana-*wild-type*-wt– o formas mutadas que presentan algunos humanos), y modelos basados en la Presenilina (PS), tau y APOE.

Entre las limitaciones que conlleva la utilización de ratones transgénicos hemos de destacar la falta de control sobre el número y los sitios de inserción de los transgenes. La expresión del gen debe alcanzar

unos valores elevados para desencadenar una respuesta celular como mecanismo de defensa que proporcione la suficiente información a cerca del papel de ese transgen. Los animales transgénicos deberían ser cruzados durante múltiples generaciones entre ellos para obtener líneas «consanguíneas». También debe ser considerado el sexo, femenino o masculino, dado que en varios estudios se ha podido constatar que el depósito amiloide es más extenso en hembras de ratón APP[94].

Suponen una estrategia imprescindible en el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas basadas en la etiopatogenia de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, et al. 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 1999;52:78-84.
2. Lemaire HG, Salbaum JM, Multhaup G, Kang J, Bayney RM, Unterbeck A, et al. The PreA4(695) precursor protein of Alzheimer's disease A4 amyloid is encoded by 16 exons. Nucleic Acids Res 1989;17:517-22.
3. Yoshikai S, Sasaki H, Doh-ura K, Furuya H, Sakaki Y. Genomic organization of the human amyloid beta-protein precursor gene. Gene 1990;87:257-63.
4. Schubert D, Jin LW, Saitoh T, Cole G. The regulation of amyloid beta protein precursor secretion and its modulatory role in cell adhesion. Neuron 1989;3:689-94.
5. Esch FS, Keim PS, Beattie EC, Blacher RW, Culwell AR, Oltersdorf T, et al. Cleavage of amyloid beta peptide during constitutive processing of its precursor. Science 1990;248:1122-4.
6. Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Esch F, Lee M, Dovey H, Davis D, et al. Isolation and quantification of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids. Nature 1992;359:325-7.
7. Anderson JP, Chen Y, Kim KS, Robakis NK. An alternative secretase cleavage produces soluble Alzheimer amyloid precursor protein containing a potentially amyloidogenic sequence. J Neurochem 1992;59:2328-31.
8. Brunkan AL, Goate AM. Presenilin function and gamma-secretase activity. J Neurochem 2005;93:769-92.
9. Mullan M, Houlden H, Windelspecht M, Fidani L, Lombardi C, Díaz 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;2:340-2.
10. The structure of the presenilin 1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. Alzheimer's Disease Collaborative Group. Nat Genet 1995;11:219-22.
11. Bird TD, Sumi SM, Nemens EJ, Nochlin D, Schellenberg G, Lampe TH, et al. Phenotypic heterogeneity in familial Alzheimer's disease: a study of 24 kindreds. Ann Neurol 1989;25:12-25.
12. Zekanowski C, Styczynska M, Peplonska B, Gabryelewicz T, Religa D, Ilkowski J, et al. Mutations in presenilin 1, presenilin 2 and amyloid precursor protein genes in patients with early-onset Alzheimer's disease in Poland. Exp Neurol 2003;184:991-6.
13. Hmad-Annuar A, Tabrizi SJ, Fisher EM. Mouse models as a tool for understanding neurodegenerative diseases. Curr Opin Neurol 2003; 16:451-8.
14. Sarasa M. Experimental models for Alzheimer's disease research. Rev Neurol 2006;42:297-301.
15. Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Watanabe K, Sekiguchi M, Hosoki E, et al. Identification of the major Abeta1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. Nat Med 2000;6:143-50.
16. Carrodeguas JA, Rodolosse A, Garza MV, Sanz-Clemente A, Pérez-Pe R, Lacosta AM, et al. The chick embryo appears as a natural model for research in beta-amyloid precursor protein processing. Neuroscience 2005; 134:1285-300.
17. Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Animal models of neurodegenerative diseases. Med Sci (París) 2007;23:180-6.
18. Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Animal models of neurodegenerative diseases. Med Sci (París) 2007;23:180-6.
19. Sarasa M. Experimental models for Alzheimer's disease research. Rev Neurol 2006;42:297-301.
20. Duyckaerts C, Potier MC, Delatour B. Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. Acta Neuropathol 2008; 115:5-38.
21. Huse JT, Pijak DS, Leslie GJ, Lee VM, Doms RW. Maturation and endosomal targeting of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme. The Alzheimer's disease beta-secretase. J Biol Chem 2000;275:33729-37.
22. Cook DG, Forman MS, Sung JC, Leight S, Kolson DL, Iwatsubo T, et al. Alzheimer's A beta(1-42) is generated in the endoplasmic reticulum/intermediate compartment of NT2N cells. Nat Med 1997;3:1021-3.
23. Greenfield JP, Tsai J, Gouras GK, Hai B, Thinakaran G, Checler F, et al. Endoplasmic reticulum and trans-Golgi network generate distinct populations of Alzheimer beta-amyloid peptides. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:742-7.
24. Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, Clemente AS, Velasco PT, Wood M, et al. Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. J Neurosci 2007;27:796-807.
25. Jiménez-Escrig A. Transgenic animals in Neurology. En: Jiménez-Escrig A, editor. Texbook of neurogenetics. Madrid: Díaz de Santos, 2007; p. 39-49.
26. McGowan E, Eriksen J, Hutton M. A decade of modeling Alzheimer's disease in transgenic mice. Trends Genet 2006;22:281-9.
27. Walsh DM, Selkoe DJ. Oligomers on the brain: the emerging role of soluble protein aggregates in neurodegeneration. Protein Pept Lett 2004; 11:213-28.
28. Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, et al. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. Nature 1995;373:523-7.
29. Calhoun ME, Wiederhold KH, Abramowski D, Phinney AL, Probst A, Sturchler-Pierrat C, et al. Neuron loss in APP transgenic mice. Nature 1998; 395:755-6.
30. Dodart JC, Meziane H, Mathis C, Bales KR, Paul SM, Ungerer A. Behavioral disturbances in transgenic mice overexpressing the V717F beta-amyloid precursor protein. Behav Neurosci 1999;113:982-90.
31. Prasher VP, Farrer MJ, Kessling AM, Fisher EM, West RJ, Barber PC, et al. Molecular mapping of Alzheimer-type dementia in Down's syndrome. Ann Neurol 1998;43:380-3.
32. Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, Le MN, Laquerriere A, Vital A, et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. Nat Genet 2006;38:24-6.
33. Reeves RH, Irving NG, Moran TH, Wohn A, Kitt C, Sisodia SS, et al. A mouse model for Down syndrome exhibits learning and behaviour deficits. Nat Genet 1995;11:177-84.
34. Sago H, Carlson EJ, Smith DJ, Kilbridge J, Rubin EM, Mobley WC, et al. Ts1Cje, a partial trisomy 16 mouse model for Down syndrome, exhibits learning and behavioral abnormalities. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:6256-61.
35. Hunter CL, Isacson O, Nelson M, Bimonte-Nelson H, Seo H, Lin L, et al. Regional alterations in amyloid precursor protein and nerve growth factor across age in a mouse model of Down's syndrome. Neurosci Res 2003; 45:437-45.
36. Cooper JD, Salehi A, Delcroix JD, Howe CL, Belichenko PV, Chua-Couzens J, et al. Failed retrograde transport of NGF in a mouse model of Down's syndrome: reversal of cholinergic neurodegenerative phenotypes following NGF infusion. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:10439-44.
37. Cooper JD, Salehi A, Delcroix JD, Howe CL, Belichenko PV, Chua-Couzens J, et al. Failed retrograde transport of NGF in a mouse model of Down's syndrome: reversal of cholinergic neurodegenerative phenotypes following NGF infusion. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:10439-44.
38. Hunter CL, Bimonte-Nelson HA, Nelson M, Eckman CB, Granholm AC. Behavioral and neurobiological markers of Alzheimer's disease in Ts65Dn mice: effects of estrogen. Neurobiol Aging 2004;25:873-84.
39. Shukkur EA, Shimohata A, Akagi T, Yu W, Yamaguchi M, Murayama M, et al. Mitochondrial dysfunction and tau hyperphosphorylation in Ts1Cje, a mouse model for Down syndrome. Hum Mol Genet 2006;15:2752-62.

40. O'Doherty A, Ruf S, Mulligan C, Hildreth V, Errington ML, Cooke S, et al. An aneuploid mouse strain carrying human chromosome 21 with Down syndrome phenotypes. Science 2005;309:2033-7.
41. Cataldo AM, Petanceska S, Peterhoff CM, Terio NB, Epstein CJ, Villar A, et al. App gene dosage modulates endosomal abnormalities of Alzheimer's disease in a segmental trisomy 16 mouse model of down syndrome. J Neurosci 2003;23:6788-92.
42. Borchelt DR, Ratovitski T, van LJ, Lee MK, Gonzales V, Jenkins NA, et al. Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. Neuron 1997;19:939-45.
43. Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. Nat Med 1998;4:97-100.
44. Hartmann J, Erb C, Ebert U, Baumann KH, Popp A, Konig G, eCentral cholinergic functions in human amyloid precursor protein knock-in/presenilin-1 transgenic mice. Neuroscience 2004;125:1009-17.
45. Willem M, Dewachter I, Smyth N, van DT, Borghgraef P, Haass C, et al. Beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 increases amyloid deposition in brain parenchyma but reduces cerebrovascular amyloid angiopathy in aging BACE x APP[V717I] double-transgenic mice. Am J Pathol 2004;165:1621-31.
46. McGowan E, Sanders S, Iwatsubo T, Takeuchi A, Saido T, Zehr C, et al. Amyloid phenotype characterization of transgenic mice overexpressing both mutant amyloid precursor protein and mutant presenilin 1 transgenes. Neurobiol Dis 1999;6:231-44.
47. Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. Nat Med 1998;4:97-100.
48. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Pérez-Tur J, et al. Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. Nature 1996;383:710-3.
49. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Pérez-Tur J, et al. Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. Nature 1996;383:710-3.
50. Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, et al. Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate Abeta1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. Neuron 1996;17:1005-13.
51. Borchelt DR, Ratovitski T, van LJ, Lee MK, Gonzales V, Jenkins NA, et al. Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. Neuron 1997;19:939-45.
52. Shen J, Bronson RT, Chen DF, Xia W, Selkoe DJ, Tonegawa S. Skeletal and CNS defects in Presenilin-1-deficient mice. Cell 1997;89:629-39.
53. Cleveland DW, Hwo SY, Kirschner MW. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. J Mol Biol 1977;116:207-25.
54. Goedert M, Spillantini MG, Potier MC, Ulrich J, Crowther RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. EMBO J 1989;8:393-9.
55. Goedert M, Spillantini MG, Potier MC, Ulrich J, Crowther RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. EMBO J 1989;8:393-9.
56. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. Science 2001;293:1487-91.
57. SantaCruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, et al. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. Science 2005;309:476-81.
58. Berger Z, Roder H, Hanna A, Carlson A, Rangachari V, Yue M, et al. Accumulation of pathological tau species and memory loss in a conditional model of tauopathy. J Neurosci 2007;27:3650-62.
59. Berger Z, Roder H, Hanna A, Carlson A, Rangachari V, Yue M, et al. Accumulation of pathological tau species and memory loss in a conditional model of tauopathy. J Neurosci 2007;27:3650-62.
60. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kayed R, et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. Neuron 2003;39:409-21.
61. Boutajangout A, Authelet M, Blanchard V, Touchet N, Tremp G, Pradier L, et al. Characterisation of cytoskeletal abnormalities in mice transgenic for wild-type human tau and familial Alzheimer's disease mutants of APP and presenilin-1. Neurobiol Dis 2004;15:47-60.
62. Irizarry MC, Rebeck GW, Cheung B, Bales K, Paul SM, Holzman D, et al. Modulation of A beta deposition in APP transgenic mice by an apolipoprotein E null background. Ann NY Acad Sci 2000;920:171-8.
63. McGowan E, Eriksen J, Hutton M. A decade of modeling Alzheimer's disease in transgenic mice. Trends Genet 2006;22:281-9.
64. Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, et al. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. Nature 1995;373:523-7.
65. Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, et al. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. Nature 1995;373:523-7.
66. Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, et al. Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. Science 1996;274:99-102.
67. Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold KH, Mistl C, Rothacher S, et al. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:13287-92.
68. Janus C, Pearson J, McLaurin J, Mathews PM, Jiang Y, Schmidt SD, et al. A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. Nature 2000;408:979-82.
69. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Pérez-Tur J, et al. Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. Nature 1996;383:710-3.
70. Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. Nat Med 1998;4:97-100.
71. Borchelt DR, Ratovitski T, van LJ, Lee MK, Gonzales V, Jenkins NA, et al. Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. Neuron 1997;19:939-45.
72. Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, et al. High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. J Neurosci 2000;20:4050-8.
73. Chin J, Palop JJ, Puolivali J, Massaro C, Bien-Ly N, Gerstein H, et al. Fyn kinase induces synaptic and cognitive impairments in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. J Neurosci 2005;25:9694-703.
74. Wyss-Coray T, Yan F, Lin AH, Lambris JD, Alexander JJ, Quigg RJ, et al. Prominent neurodegeneration and increased plaque formation in complement-inhibited Alzheimer's mice. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:10837-42.
75. Herzig MC, Winkler DT, Burgermeister P, Pfeifer M, Kohler E, Schmidt SD, et al. Abeta is targeted to the vasculature in a mouse model of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis. Nat Neurosci 2004;7:954-60.
76. Cheng IH, Palop JJ, Espósito LA, Bien-Ly N, Yan F, Mucke L. Aggressive amyloidosis in mice expressing human amyloid peptides with the Arctic mutation. Nat Med 2004;10:1190-2.
77. McGowan E, Pickford F, Kim J, Onstead L, Eriksen J, Yu C, et al. Abeta42 is essential for parenchymal and vascular amyloid deposition in mice. Neuron 2005;47:191-9.
78. Zhang B, Higuchi M, Yoshiyama Y, Ishihara T, Forman MS, Martinez D, et al. Retarded axonal transport of R406W mutant tau in transgenic mice with a neurodegenerative tauopathy. J Neurosci 2004;24:4657-67.
79. Allen B, Ingram E, Takao M, Smith MJ, Jakes R, Virdee K, et al. Abundant tau filaments and nonapoptotic neurodegeneration in transgenic mice expressing human P301S tau protein. J Neurosci 2002;22:9340-51.
80. Tanemura K, Akagi T, Murayama M, Kikuchi N, Murayama O, Hashikawa T, et al. Formation of filamentous tau aggregations in transgenic mice expressing V337M human tau. Neurobiol Dis 2001;8:1036-45.
81. Tatebayashi Y, Miyasaka T, Chui DH, Akagi T, Mishima K, Iwasaki K, et al. Tau filament formation and associative memory deficit in aged mice ex-

pressing mutant (R406W) human tau. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:13896-901.
82. Ramsden M, Kotilinek L, Forster C, Paulson J, McGowan E, SantaCruz K, et al. Age-dependent neurofibrillary tangle formation, neuron loss, and memory impairment in a mouse model of human tauopathy (P301L). J Neurosci 2005;25:10637-47.
83. Andorfer C, Kress Y, Espinoza M, de SR, Tucker KL, Barde YA, et al. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. J Neurochem 2003;86:582-90.
84. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. Science 2001;293:1487-91.
85. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kayed R, et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. Neuron 2003;39:409-21.
86. Walsh DM, Selkoe DJ. Oligomers on the brain: the emerging role of soluble protein aggregates in neurodegeneration. Protein Pept Lett 2004;11:213-28.
87. Dodart JC, Bales KR, Gannon KS, Greene SJ, Demattos RB, Mathis C, et al. Immunization reverses memory deficits without reducing brain Abeta burden in Alzheimer's disease model. Nat Neurosci 2002;5:452-7.
88. Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, Clemente AS, Velasco PT, Wood M, et al. Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. J Neurosci 2007;27:796-807.
89. Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Watanabe K, Sekiguchi M, Hosoki E, et al. Identification of the major Abeta1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. Nat Med 2000;6:143-50.
90. Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Animal models of neurodegenerative diseases. Med Sci (París) 2007;23:180-6.
91. Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Animal models of neurodegenerative diseases. Med Sci (París) 2007;23:180-6.
92. Sarasa M. Experimental models for Alzheimer's disease research. Rev Neurol 2006;42:297-301.
93. Hmad-Annuar A, Tabrizi SJ, Fisher EM. Mouse models as a tool for understanding neurodegenerative diseases. Curr Opin Neurol 2003;16:451-8.
94. Wang J, Tanila H, Puolivali J, Kadish I, van GT. Gender differences in the amount and deposition of amyloidbeta in APPswe and PS1 double transgenic mice. Neurobiol Dis 2003;14:318-27.