



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
BIOMARCADORES EN LA ENFERMEDAD
DE ALZHEIMER

Autor: Cristina Alejandra López Rodríguez

D.N.I.: 47294702D

Tutor: Dra. M^a Jesus Oset Gasque

Convocatoria: Junio 2016

INDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCION	3
2.1 FISIOPATOLOGIA	5
2.1.1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER PRECOZ O FAMILIAR	5
2.1.1.1 Hipótesis de la cascada β -amiloide (β -APP)	5
2.1.1.2 Hipótesis de Tau y nudos neurofibrilares (NNF)	6
2.1.1.3 Hipótesis de la cascada mitocondrial (MCH).....	7
2.1.2 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER DE APARICION TARDIA	7
2.1.2.1 Hipótesis del estrés oxidativo.....	7
2.1.2.2 Genes.....	8
3. OBJETIVOS	8
4. MATERIAL Y METODOS	9
5. RESULTADOS Y DISCUSION.....	9
5.1.Introducción de los biomarcadores.....	9
5.2 Tipos de Biomarcadores.....	10
5.2.1.Biomarcadores en el Líquido cefalorraquídeo	10
5.2.2 Biomarcadores en plasma	13
5.2.3 Nuevos avances: ANALISIS DE SANGRE.....	17
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFIA.....	18

1. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer se está convirtiendo en la enfermedad de larga duración de mayor incidencia a nivel mundial en la población. La patogénesis se conoce bien pero pocos son los estudios realizados acerca del posible diagnóstico precoz de la misma. Algunos de estos estudios están relacionados con diversos tipos de moléculas implicadas en el desarrollo de la enfermedad, utilizándose como biomarcadores de ésta.

En este trabajo se describen los principales biomarcadores bioquímicos de la enfermedad de Alzheimer, localizados en plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR), y su utilidad diagnóstica en la enfermedad.

Palabras clave: *Alzheimer, biomarcadores, líquido cefalorraquídeo, plasma.*

2. INTRODUCCION

La OMS define la demencia como un síndrome –generalmente de naturaleza crónica o progresiva– caracterizado por el deterioro de la función cognitiva más allá de una consecuencia del envejecimiento normal. Afecta a la memoria, al pensamiento, a la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio, y es una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre las personas mayores en todo el mundo.¹

Actualmente, es considerado un problema de salud pública a nivel mundial, ya que 47,5 millones de personas padecen demencia, y cada año se registran 7,7 millones de nuevos casos. Se prevé que el número total de personas con demencia pase de 75,6 millones en 2030 a 135,5 millones en 2050 aumentando en los países de ingresos bajos y medios.¹

En Marzo de 2015 tuvo lugar la Primera Conferencia Ministerial sobre la Acción Mundial contra la Demencia (organizada por la OMS y con el apoyo de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) y el Departamento de Salud del Reino Unido), con el fin de concienciar acerca de la demencia y promover responsabilidades de los gobiernos ante este problema¹

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia (entre el 60% - 70% de los casos). Se trata de una enfermedad de difícil diagnóstico ya que la mayoría

de las veces es detectada cuando el paciente se encuentra en fases avanzadas, pudiéndose actuar solamente de manera paliativa. Esto puede deberse a que el inicio de la EA es multifactorial y su progresión depende de varios factores modificables o no modificables.^{2,3}

Gracias a diversos estudios se ha podido observar que los factores más influyentes son obesidad, tabaco, actividad física, “reserva cognitiva” entre otros. También sustancias como el colesterol o patologías crónicas pueden aumentar el riesgo de EA.^{2,3}

Se han realizado diversos estudios sobre el colesterol y su impacto en la EA aunque muchos son contradictorios. El estudio de Framingham asocia una dieta rica en colesterol, LDL y lípidos en animales con progresión a EA o incluso con la deposición de β -APP a pesar de que otros encontraron una relación inversa.^{4,5} Por tanto, no hay conclusiones fiables sobre la relación de colesterol con aumento de riesgo de padecer Alzheimer ya que muchos estudios tienen limitaciones y sus resultados no son concluyentes.

En relación a patologías crónicas, se ha denominado la EA como la “**Diabetes tipo 3**”. Ésto es debido a la resistencia a la insulina producida en ambas patologías por la señalización defectuosa de la misma, deterioro de la absorción de glucosa, incremento del estrés oxidativo, peroxidación de lípidos, entre otros.⁶

Por otro lado, existen factores de protección como la educación relacionado con el término “reserva cognitiva” (capacidad del individuo de mantener actividades cognitivas en presencia de lesiones del cerebro). Confirmando esta teoría, se ha visto, gracias a técnicas de imagen, un hipometabolismo más pronunciado, atrofia y degeneración en sujetos con mayor educación. Esto significa que personas más instruidas pueden aguantar un daño mayor en el cerebro que las menos instruidas.³

Otro factor de protección es la actividad física, que se relaciona con un mayor volumen cerebral y un menor riesgo para el desarrollo de EA en sujetos en edad avanzada.³

Atendiendo a la importancia de la dieta mediterránea, ciertos estudios de cohortes han demostrado el beneficio de esta sobre la EA, reduciendo el riesgo. Tres dietas, Mediterránea, MIND (Mediterranean-Dash-Intervention for Neurodegenerative Delay),

y DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) reducen las probabilidades de padecer Alzheimer.⁷

2.1 FISIOPATOLOGIA

La EA es una enfermedad multifactorial en la que intervienen diferentes mecanismos patológicos, que interactúan entre sí, provocando el deterioro de diversas partes del cerebro. Existen dos tipos de EA: de **aparición precoz/familiar** (personas entre 30-50 años) y de **aparición tardía** (personas entre 65-80 años que es la mayoritaria).

La causa principal de aparición de la enfermedad son las alteraciones en diversos genes: los alterados en la EA temprana (se transmiten por herencia autosómica dominante) y EA tardía (polimorfismos que conllevan a la aparición de la enfermedad en la vejez).⁸

2.1.1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER PRECOZ O FAMILIAR

2.1.1.1 Hipótesis de la cascada β -amiloide (β -APP)

Esta teoría plantea la existencia de ciertas mutaciones, ya sean en la proteína precursora de β -amiloide (APP) o en las Presenilinas (PS), que predispondrán el procesamiento erróneo de esta molécula, dando lugar al polímero β -amiloide (βA) largo βA_{1-42} , cuya acumulación da lugar a placas pre-seniles, que evolucionarán a placas seniles debido a la precipitación de los polímeros de la proteína de βA .⁸ Se sabe que en la enfermedad se forma el péptido βA_{1-42} , tras el procesamiento de APP por la vía amiloidogénica (vía β -secretasa), mientras que en individuos sanos predomina la vía no amiloidogénica (vía α -secretasa), no llegándose a formar βA_{1-42} .⁹ (Figura 1).

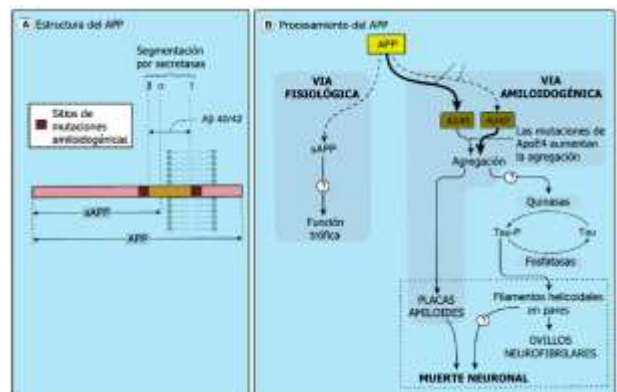


Figura 1: Estructura y procesamiento de APP

Debido a estas placas seniles, las células de la microglía disparan un proceso inflamatorio crónico que tiene como consecuencia la destrucción funcional y estructural de las neuronas y sus axones, generándose radicales de oxígeno reactivos (ROS) y

perdiéndose energía. Se liberan ciertas sustancias como ACT o α -macroglobulina que activaran factores de la vía del complemento, citoquinas o factor de necrosis tumoral (TNF- α).¹⁰ Los niveles de TNF- α elevados están relacionados con la resistencia a la insulina a nivel periférico. Este factor está en exceso en el tejido adiposo y junto a niveles altos de adipocinas, se relaciona con la inflamación que se produce en el SNC.

Sin embargo, esta teoría no ha encontrado correlación entre la cantidad de placas de β A y la demencia.

Donde sí se observó correlación fue entre la muerte neuronal y la cantidad de oligómeros de β A (productores de neurotoxicidad). Debido a esto, el control de la formación de estos oligómeros sería de gran utilidad en la prevención de la enfermedad⁸. Recientemente se han relacionado los mecanismos neuropatogénicos de éstos oligómeros con los mecanismos de resistencia a la insulina, pudiendo interrumpir la señalización de la insulina del cerebro mediante mecanismos proinflamatorios similares a los que ocurren en la Diabetes Mellitus (DM) a nivel periférico. (Figura 2)⁶

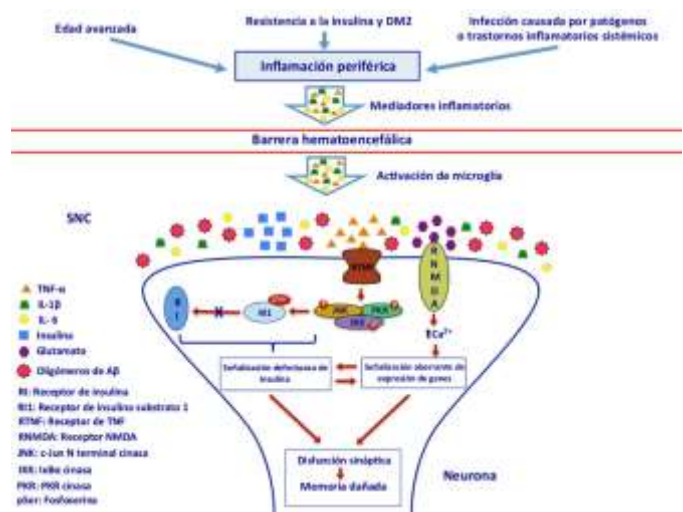


Figura 2: Relación entre la inflamación periférica, resistencia a la insulina, DM2, infecciones por patógenos en el desarrollo de EA

2.1.1.2 Hipótesis de Tau y nudos neurofibrilares (NNF)

Se parte de la hipótesis anterior, proponiendo que modificaciones en Tau, una proteína soluble que forma parte del citoesqueleto, y la formación de ovillos neurofibrilares, se relacionan con concentraciones tóxicas de β A.

La función principal de Tau es incorporar monómeros de α y β tubulina a los microtúbulos neuronales (MT), contribuyendo a su mantenimiento, estabilidad dinámica, mantenimiento y control de actividades sinápticas implicadas en la memoria y funciones cognitivas.

Tau es una proteína susceptible de ser fosforilada por la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3) y la CDK-5 (tau-quinasa II). Dicha fosforilación por GSK3 disminuye la afinidad por los microtúbulos, facilitando la agregación y formación de ovillos neurofibrilares (NNF), lo que conlleva la muerte neuronal.⁸

2.1.1.3 Hipótesis de la cascada mitocondrial (MCH)

Esta hipótesis afirma que la función mitocondrial de cada individuo está determinada genéticamente y su durabilidad influye en los cambios que se podrán producir en respuesta al estrés metabólico y edad avanzada. Esta disminución de la función mitocondrial está relacionada con la EA, pudiendo iniciar los procesos fisiopatológicos de esta enfermedad. Por otro lado, esta hipótesis sugiere que la reducción en la energía celular promueve la fosforilación de tau en ambos tipos de EA.

2.1.2 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER DE APARICION TARDIA

En este tipo de Alzheimer, las mutaciones se encuentran en la citocromo oxidasa I y II. Pueden ser heredadas o adquiridas y dan lugar a la generación de ROS por las neuronas.

2.1.2.1 Hipótesis del estrés oxidativo

Debido al envejecimiento celular, las mitocondrias pueden incorporar mutaciones que posibilitan la generación de ROS a este nivel. Los ROS pueden peroxidar lípidos y proteínas dando lugar a una pérdida energética y actividad celular. Se observó que la disminución de la actividad ATPasa dependiente de Na⁺ junto con la disminución del transporte de glucosa, da lugar a un aumento de la entrada de calcio, desencadenando la apoptosis.⁸

En la EA se generan muchos compuestos tóxicos debido a la descomposición de lípidos: alteración fosfolípidos de membrana, incremento de aldehídos poliinsaturados α y β , disminución de la actividad de enzimas que eliminan productos de lipoperoxidación, incremento de isoprostanos y neuroprostanos que se encontraran en sangre en distintas concentraciones.⁸ Se ha demostrado que el continuo estrés metabólico y la activación de vías proinflamatorias se refleja en una disminución en la señalización de la insulina y la disminución de la respuesta celular a ésta.

2.1.2.2 Genes

Las afectaciones en los genes son la principal causa de EA, algunas de ellas se relacionan con mutaciones en el precursor amiloide APP y presenilinas 1 y 2; y otras, con la acción de los inhibidores de las γ -secretasas, capaces de incrementar la producción de βA_{1-42} (bloqueando la actividad γ -secretasa).

La principal hipótesis relaciona la pérdida de la función de estas Presenilinas (PS) con un deterioro de la memoria y procesos de neurodegeneración, actuando las formas largas de βA como inhibidores competitivos de las γ -secretasas. Por tanto, mutaciones en las PS o APP podrían alterar la acción de las secretasas debido a los elevados niveles de βA_{1-42} , propiciando la enfermedad.⁸

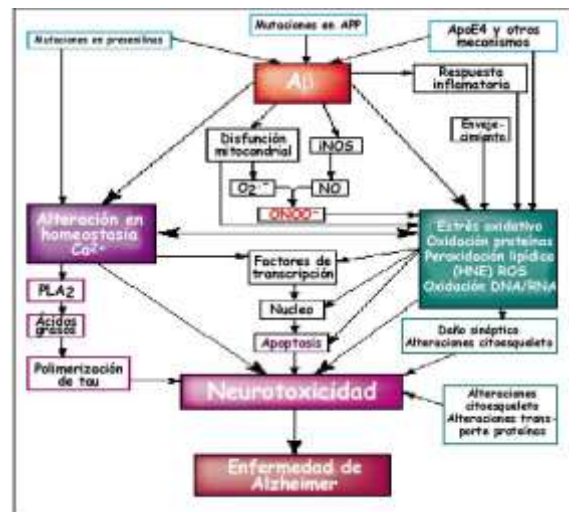


Figura 3 :Resumen de las principales hipótesis etiológicas de la EA. ⁸

La pérdida de actividad PS resulta en una disfunción sináptica, incluyendo alteraciones en mecanismos de señalización molecular y cambios en funciones mediados por el receptor NMDA entre otros.

Otro de los factores más estudiados en el riesgo de padecer Alzheimer es el genotipo ApoE (apolipoproteína E), siendo el genotipo 4 el más susceptible de riesgo de EA. ApoE es la principal apolipoproteína en el cerebro, secretada por células gliales, que facilita la unión de Lp (lipoproteínas) a sus receptores en las membranas, facilitando su absorción. También se ha relacionado con proteína Tau, modulando su fosforilación y con el procesamiento de βAPP .¹¹

3. OBJETIVOS

El principal objetivo será analizar en profundidad los posibles biomarcadores bioquímicos localizados en plasma y líquido cefalorraquídeo y su utilidad diagnóstica en la enfermedad de Alzheimer, así como el futuro de estos en la enfermedad.

4. MATERIAL Y METODOS

Revisión bibliográfica de distintos artículos y revistas científicas de consulta on-line encontradas en google académico, JAMA Network, Pubmed, OMS, así como consultas en Paginas Oficiales sobre el Alzheimer como National Institute of Aging.

Se seleccionaron los artículos que eran revisiones bibliográficas y aquellos artículos experimentales que aportaban información relevante sobre el material buscado.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Introducción de los biomarcadores

Un “**biomarcador**” se define como “Una característica que es medida y evaluada de forma objetiva como un indicador de procesos biológicos normales o patológicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica”.¹² Por tanto, un biomarcador puede ser utilizado para diagnosticar la enfermedad, para establecer su gravedad, analizar su progresión y monitorizar la respuesta a las medidas terapéuticas.

Según el National Institute of Health (NIH), un adecuado biomarcador debe cumplir los siguientes requisitos^{12,13}:

1. Tener relación con una característica fundamental de la fisiopatología
2. Estar validado en casos confirmados por el estudio neuropatológico
3. Será sensible (>85%) y específico (>75%) con el fin de diferenciar la EA de otras demencias.
4. Ser preciso, fiable, barato
5. Utilización cómoda y no lesiva para el paciente
6. Con capacidad para apreciar la progresión de la enfermedad y la eficacia de las intervenciones terapéuticas.

Por ésto, se consideran dos niveles de biomarcadores⁹:

- **Biomarcadores de exposición:** Sirven para determinar los factores de riesgo de la enfermedad.

- **Biomarcadores de la enfermedad:** Se utilizan en cribados, test diagnósticos para la detección temprana de la enfermedad y la monitorización de la progresión de la enfermedad.

El Alzheimer es una enfermedad que se puede dividir en tres etapas, según NIA (The National Institution Aging/Alzheimer's Association Diagnostic Guidelines for Alzheimer's Disease)¹⁴

- Preclínica: Fase en la cual ya se presentan alteraciones en el cerebro, como acumulación de amiloide y atrofia de células nerviosas. En esta etapa, no existen síntomas clínicos evidentes pero se puede realizar la tomografía por emisión de positrones (PET) y el análisis del LCR para la investigación. Se encuentran biomarcadores en desarrollo, pero no son útiles.
- Deterioro cognitivo leve (MCI): Comienzan a observarse problemas de memoria que pueden conllevar o no al desarrollo de Alzheimer. En esta fase, la investigación se basa en la posible estandarización de biomarcadores como la proteína β -amiloide para observar las lesiones del cerebro. Se analizarán los niveles de Tau y de la proteína β A en LCR, además de la captación de glucosa. Todo esto se puede detectar mediante PET o a través de la detección de zonas del cerebro atrofiadas captadas gracias a resonancia magnética estructural (MRI).
- La demencia de Alzheimer: Etapa final de la enfermedad en donde se observa el deterioro cognitivo del paciente. En este caso, los biomarcadores son útiles para el diagnóstico de la demencia de Alzheimer y su diferenciación de otras demencias.

5.2 Tipos de Biomarcadores

Se han estudiado diversos biomarcadores en distintos fluidos biológicos, como el líquido cefalorraquídeo (LCR) y plasma.

5.2.1. Biomarcadores en el Líquido cefalorraquídeo: El LCR es un buen medio para la obtención de ciertas moléculas relacionadas con la EA. Éste se extrae mediante punción lumbar y entre las sustancias encontradas podemos distinguir:

Niveles de proteínas β -amiloide: Pueden ser estimados mediante la técnica de imagen PET, tras la administración de compuestos marcados con isótopos, que se unirán a la proteína amiloide.^{15,16}

La más abundante es βA_{40} , sin embargo, en los enfermos de EA, sólo se ha observado variación en los niveles de βA_{42} , disminuyendo respecto a los individuos control. Tiene una sensibilidad entre 55%-100% y especificidad entre 67%-100% para diferenciar a los pacientes enfermos. Además, los niveles bajos βA_{42} , también son indicativo de deposición de proteína βA , explicando su baja concentración en LCR. Está en duda su utilidad como biomarcador ya que, tras varios estudios, sí se ha observado correlación con el agravamiento de la enfermedad pero no resulta muy útil como diagnóstico diferencial en relación a otro tipo de demencias.¹²

Niveles de Tau total y tau fosforilada: En enfermos de EA, se han observado niveles de tau que duplican o triplican los niveles control. Además, los niveles aumentan con la edad, por tanto, se han establecido unos criterios diagnósticos teniendo en cuenta este factor (<51-70años;>450pg/mL;>70años:>600pg/mL). A pesar de ello, se ha comprobado que los niveles de tau en pacientes con otro tipo de demencias también son elevados.⁹

Por otro lado, también se han estudiado los niveles de tau fosforilada en EA (80% de especificidad) y se ha observado que son más específicos. Durante el año se produce un aumento en p-tau de aproximadamente el 250% con respecto a los niveles control. Los biomarcadores de p-tau más utilizados son p-tau 181 (útil para diferenciar EA de Demencia de Cuerpos de Lewy (LBD), p-tau 199 (>85% de sensibilidad y especificidad) y p-tau 231 relacionada con el deterioro cognitivo y diferencial de la demencia vascular, LBD y FTD (demencia frontotemporal). Si las concentraciones de estos tres biomarcadores p-tau son elevadas, aseguran un 90% de posibilidades de EA.⁹

Combinaciones de βA_{42} y P-tau: Varios estudios han confirmado que la combinación de ambos biomarcadores aumenta el poder predictivo de EA, haciendo el diagnóstico más fiable, pero esto no se ha podido confirmar a la hora de diferenciar EA de otras demencias.¹²

Como avance científico, se desarrolló la tecnología xMAP de Luminex, mediante la cual se midieron los niveles de βA_{1-42} , t-tau y p-tau 181, pudiendo calcular la probabilidad de padecer EA.⁹

ADN mitocondrial: El ADN mitocondrial (mtDNA) se ha relacionado con la posible generación y probabilidad de padecer EA. Se han encontrado niveles significativamente alterados de mtDNA en LCR en EA familiar en comparación con otras demencias donde no están alterados. mtDNA es más susceptible de daño oxidativo por oxidación de lípidos, oxidación de las bases de DNA y oxidación de proteínas¹⁷. Esto se debe a que no está protegido por histonas, su proximidad a la membrana interna mitocondrial (donde se generan ROS) y a su baja capacidad de reparación¹⁷. Ciertos estudios realizados muestran diferencias significativas entre bases de DNA de enfermos vs control entre las que destacaban: 8-hidroxiguanina, fapy-guanina, 5-hidroxiglicina y fapy-adenina, siendo los productos mayoritarios de la oxidación del DNA por ROS (Tabla 2)

Tabla 2: Niveles de marcadores de la oxidación de DNA nuclear y mitocondrial de EA y sujetos control	Level of modified bases (lesions/10 ⁶ DNA bases, mean \pm SEM)			
	Nuclear DNA		Mitochondrial DNA	
	Control	AD	Control	AD
Cerebellum				
8-OH-adenine	13.0 \pm 2.2	18.0 \pm 2.1*	96.1 \pm 13.4	136.9 \pm 17.8
Fapyadenine	7.2 \pm 1.4	13.2 \pm 1.9	81.5 \pm 13.1	114.4 \pm 14.4
5-OH-cytosine	9.9 \pm 1.1	14.9 \pm 1.9	90.0 \pm 18.5	226.6 \pm 58.0
5-OH-uracil	6.9 \pm 0.8	9.6 \pm 2.1	52.8 \pm 12.3	95.1 \pm 21.9
8-OH-guanine	36.3 \pm 4.9	49.4 \pm 8.7*	205.0 \pm 35.1	439.6 \pm 115.7
Fapyguanine	14.8 \pm 2.1	21.5 \pm 3.2	144.9 \pm 23.2	344.8 \pm 70.5

Se ha visto una posible relación entre βA y toxicidad mitocondrial por la unión de βA a la alcohol deshidrogenasa, aumentando ROS, provocando una disfunción mitocondrial y muerte neuronal¹⁷.

Ramon Trullas, responsable de la Unidad de Neurología del IDIBAPS y miembro de CIBERNED, observó que el mtDNA estaba disminuido en neuronas y con ello había un menor contacto sináptico. Se están estudiando las diversas vías por las cuales se podría aumentar el mtDNA, estudiando el posible defecto en la capacidad de multiplicación de éste o de su degradación. Para ser utilizado como biomarcador, es imprescindible que sus resultados sean confirmados en diversos pacientes de distintos países.¹⁸

Nuevos descubrimientos: Como nuevo avance en la progresión de la enfermedad, se han estudiado los marcadores en LCR de la actividad colinérgica. En la enfermedad, se han visto cambios en el cerebro debido a alteraciones moleculares y de glicosilación en la Acetil Colinesterasa (AChE). Se ha planteado la hipótesis de que, el acúmulo de β A y p-Tau desencadena un aumento de AChE alrededor de las placas y NFTs amiloides que influenciara en la presenilina 1 (PSEN1) y por tanto en la producción de β A. Otros autores afirman que bajos niveles de Butiril Colinesterasa (BuChE) están inversamente relacionados con su nivel en las placas, aumento de neurotoxicidad y mayor degeneración central. Por otro lado, altos niveles de ApoE y bajo niveles de BuChE en el LCR se correlacionan con la disminución cerebral de la tasa metabólica de consumo de glucosa, alta carga de β A, y p-tau en LCR de los pacientes con posible EA.⁹

5.2.2 Biomarcadores en plasma

Las determinaciones en plasma sirven como alternativa a la técnica invasiva de punción lumbar.

Niveles de proteína β -amiloide: Se han hecho investigaciones de β A, pero sin resultados concluyentes (niveles altos de β A₄₀ y no β A₄₂ y viceversa o aumento de ambas). Se ha analizado el ratio β A₄₂/ β A₄₀ para predecir los sujetos con demencia con posible avance a EA. Pero en este caso, al contrario que en LCR, los pacientes con EA presentan los niveles elevados de la forma 40 y 42 en fases muy precoces de la enfermedad.¹²

Un descubrimiento importante ha sido la proteína Neurosina (serin-proteasa) cuya actividad está relacionada con la capacidad amiloidogénica y que se encuentra aumentada en individuos conforme avanza la edad. En enfermos de Alzheimer, la concentración en sangre de esta proteína se encuentra disminuida, distinguiéndose significativamente de la demencia vascular y otro tipo de demencias en las que se encuentra elevada. Por último, se ha observado que la determinación de esta proteína en plasma puede predecir la evolución del paciente hacia EA o hacia demencia vascular¹⁹.

Fosfolípidos

Se han encontrado niveles más bajos de lo normal de ciertos fosfolípidos en personas con EA y en personas que pueden padecer deterioro cognitivo leve con progresión a EA

en 2-3 años con una relación del 90% en comparación con personas sin ningún tipo de deterioro. Por otro lado, no está del todo claro si existe relación entre fosfatidilcolina (PC) en plasma y el nivel de daño cerebral. Los niveles en pacientes con EA de PC se encuentran disminuidas mientras que el metabolito principal, glicerolfosfolina, se encuentra aumentado, lo que podría indicar una metabolización rápida de PC. Estos componentes son fundamentales en las membranas celulares sinápticas y constituyentes del plasma sanguíneo por tanto puede tratarse de biomarcadores eficaces y baratos para la EA y posiblemente podrán ayudar en el tratamiento de ésta. ²⁰

Cuerpos cetónicos

En el cerebro, existen dos fuentes principales de energía: el glucógeno, con un recambio elevado y acoplado a la actividad sináptica, y la glucosa, cuyo recambio se encuentra disminuido en pacientes con EA²². El cerebro utiliza cuerpos cetónicos en situaciones extremas y de estrés como puede ser la epilepsia, isquemias o enfermedades neurodegenerativas como la EA. En la EA se ha visto una disminución de la función mitocondrial asociada a una disminución de la actividad metabólica y de los niveles de glucosa metabolizada.

Los cuerpos cetónicos (CC) están involucrados en la restauración y estabilización de la función mitocondrial. En modelos animales con EA se ha observado que los ésteres de cetona (KE) inducirán la elevación de los niveles de CC en plasma mejorando el metabolismo mitocondrial y previniendo o retrasando la progresión de los cambios patológicos, además de disminuir la proteína amiloide y tau.

Por otro lado se ha visto que el acetoacetato protege del daño neurológico del glutamato. La concentración de glutamato en EA se encuentra disminuida por sobreexcitación o isquemia cerebral en enfermedades neurodegenerativas dando lugar a una inversión en el transporte de éste, provocando una salida de glutamato al medio extracelular, activando la bomba Na^+/K^+ , dando lugar a una acumulación de glutamato fuera de la célula y de calcio dentro, provocando toxicidad y generación de ROS, afectando a la estructura del citoesqueleto asemejándose a cambios observados en la patología de EA.²³ Ciertos estudios, como el realizado por Massieu et al, encontraron que el acetoacetato protege del daño neuronal mediado por glutamato en ratas tratadas con yodoacetato (inhibidor de la glucólisis). El acetoacetato sirve como un sustrato

energético que no se verá afectado por el bloqueo que ejerce el yodoacetato en la utilización de la glucosa por las neuronas.²¹

Insulina: resistencia a la insulina en EA, relación con DM

La insulina tiene un papel importante en las sinapsis neuronales ya que controla los procesos de liberación de neurotransmisores (NT) en ellas y las vías de señalización en relación al aprendizaje y la memoria, actuando como mediadores de deterioro cognitivo y neurodegeneración⁶.

Existen ciertos mecanismos que vinculan la resistencia a la insulina con EA, como la alteración en el procesamiento de APP, defectos en la transducción de señales en relación a la función neuronal, toxicidad celular como estrés o inflamación⁶.

La resistencia a la insulina provoca un déficit en el cerebro, dejando a las neuronas indefensas contra el estrés oxidativo, la toxicidad de βA y la apoptosis. βA es muy dañino para las neuronas ya que reduce la señalización de la insulina y altera las enzimas protectoras que participan en su degradación.

Esta resistencia a la insulina podría normalizarse por la adiponectina, que, en pacientes con EA, se encuentra aumentada. Tiene efecto neuroprotector en el cerebro, modulando la sensibilidad a la insulina y mejorando la disfunción cognitiva y la desregulación del metabolismo de glucosa, disminuyendo la expresión de proteínas proinflamatorias y aumentando las anti-inflamatorias y protegiendo frente a βA .

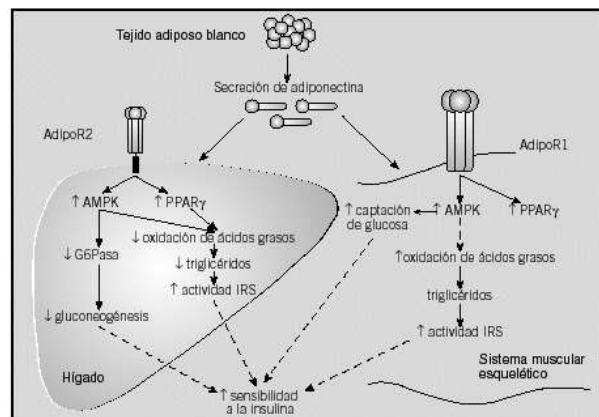


Figura 4: Acciones de la adiponectina

(Figura 4)

También se han encontrado efectos negativos a niveles elevados, aumentando el riesgo de EA, y niveles elevados del Receptor de adiponectina 1 y adiponectina globular que provocan muerte neuronal en respuesta a falta de oxígeno y glucosa.²⁴

Por otro lado, las personas con resistencia a la insulina, también presentan altas concentraciones de amilina en sangre (hormona co-expresada y co-secretada con insulina por células pancreáticas). La hiperamilinemia está asociada con una alta

probabilidad de formar placas amiloides. Las especies tóxicas de amilina (oligómeros solubles) alteran la homeostasis del calcio y la viabilidad de varias células, incluidos astrocitos y neuronas, promoviendo la precipitación independiente o en conjunto con la proteína amiloide. Jakson et al. hipotetizaron que la acumulación de oligómeros de amilina en el cerebro es efecto directo de resistencia insulina y puede ser un 2^a amiloide que continúa la patología.²⁵

Apolipoproteína J/Clusterina: Involucrada en diferentes procesos fisiológicos (apoptosis, transporte de lípidos y regulación del complemento) además de actuar como chaperona. Ésta es una chaperona inducida por estrés, la cual se libera en situaciones de estrés celular, se puede transportar al citoplasma donde se podrá unir a otras moléculas señalizadoras relacionadas con apoptosis, inhibiéndola. Por otro lado, un procesamiento alternativo de esta puede conllevar a una variante que puede traslocarse al núcleo donde inducirá la apoptosis²⁶. Está involucrada en la promoción y prevención de la agregación de β A. Ciertos estudios han observado el incremento en algunas enfermedades como EA como respuesta a la degeneración neuronal y observándose la aparición de esta proteína junto a Apoe4 en las placas amiloides²⁷

Tras diversos estudios, no se sabe exactamente si el incremento de esta proteína está ligado con la enfermedad o simplemente es una respuesta a cambios patológicos que ocurren durante esta.

microRNAs: Hasta ahora los microRNAs se habían estudiado a nivel genético pero actualmente su estudio se ha ampliado a otros tejidos como plasma, pudiendo servir como un potencial diagnóstico y diferenciación de EA. Diversos ensayos han encontrado que en pacientes con EA, algunos microRNAs, como miR-137, miR-181c y miR-9 entre otros, se encuentran “down-regulation” por diversos mecanismos bioquímicos²⁸. Otros, en cambio, han probado la posible combinación de pares de microRNAs para el posible diagnóstico de EA y deterioro cognitivo leve, destacando la familia miR-132 y 134 emparejados con miR-491-5p, miR-181a o miR-370 y miR127, respectivamente, obteniéndose una especificidad y sensibilidad del 80-100%, pero mostrando solamente utilidad en el diagnóstico de deterioro cognitivo leve²⁹. Aún se encuentra en estudio los microRNAs en otro tipo de tejidos y se está investigando su posible relación con la enfermedad.

Por otro lado, se ha investigado *la clasificación y predicción del diagnóstico del Alzheimer basado en proteínas señalizadoras en plasma*. Este estudio fue realizado por Sandio et al., con el fin de encontrar sustancias en plasma para el fácil diagnóstico de EA, incluso en estado pre-sintomático. Se identificaron 120 proteínas señalizadoras, de las cuales 18 fueron significativas de EA, pudiendo diferenciar pacientes con la enfermedad de los que no la padecían en un 95%.³⁰

Predictors	d-score	q-value (%)
ANG-2	2.1	≤0.05
CCL5	-2.9	≤0.05
CCL7	-1.7	≤0.05
CCL15	-1.6	≤0.05
CCL18	1.9	3.1
CXCL8	1.7	3.1
EGF	-2.7	≤0.05
G-CSF	-1.9	≤0.05
GDNF	-1.8	≤0.05
ICAM-1	2.2	≤0.05
IGFBP-6	1.5	3.1
IL-1 α	-2.9	≤0.05
IL-3	-2.0	≤0.05
IL-11	2.1	≤0.05
M-CSF	-2.4	≤0.05
PDGF-BB	-3.4	≤0.05
TNF- α	-2.6	≤0.05
TRAIL-R4	1.8	3.1

Tabla 1: 18 proteínas plasmáticas señalizadoras que predicen el diagnóstico clínico de EA

En la **Tabla 1**, se observa que las proteínas significativas se corresponden con moléculas implicadas en procesos tales como inflamación, respuesta inmunitaria, factores de crecimiento, que también están presentes en la enfermedad.³⁰

5.2.3 Nuevos avances: ANALISIS DE SANGRE.

En el año 2014, The Journal of the Federation of American Societies for experimental Biology propuso la utilización de muestras de sangre para identificar con precisión la EA hasta 10 años antes de que los primeros síntomas aparezcan. La prueba se basa en la búsqueda de IRS-1 (sustrato Receptor de Insulina 1), el cual presenta disminuida su forma activa y aumentada su forma inactiva en pacientes con Alzheimer, señal de resistencia a la insulina.

La prueba aún está en desarrollo y necesita estudios más exhaustivos para su validación. Si se confirmara, podría ser posible reducir el riesgo de EA por la administración de tratamientos que respondan a la resistencia a la insulina como la aplicación directa de esta sustancia o ADO.³¹

Otro fue el *Test Alz-IDTM*, desarrollado por un grupo de investigadores canadienses (LifeLabs), los cuales, mediante un análisis de sangre, observaron la probabilidad de padecer EA. Este análisis se basa en las medidas de unos fosfolípidos específicos, plasmalógenos, que se encuentran disminuidos en sangre en pacientes con EA.³² Gracias a estudios experimentales, se ha observado que estos fosfolípidos estructurales, tienen

relación con procesos neuronales, ya que una baja concentración de éstos se relaciona con altos niveles de colesterol en la membrana e hipomielinización, mientras que, si se aumentan los niveles, se produce una disminución del deterioro cerebral, aumentando la transmisión colinérgica y normalizando la mielina³³. Aún está en estudio ya que no se conoce el mecanismo con exactitud de estas moléculas.

El último hallazgo se realizó en el laboratorio del Professor Gozes, donde se encontró en sangre la proteína neuroprotectora dependiente de actividad (ADNP) y su gen parólogo ADNP2, posiblemente relacionadas con el desarrollo de EA e inteligencia premórbida. ADNP tiene importancia en la formación del cerebro y funciones cognitivas, ya que ésta disminuye con la edad. Con este análisis, se observó un aumento de los niveles de mRNA de ADNP en pacientes desde deterioro cognitivo leve a demencia tipo Alzheimer, pudiéndose distinguir a las personas sanas de las que padecían algún tipo de demencia³⁴. Se necesitan más estudios para su validación como biomarcador que supondría un paso más allá en la investigación y estudio de la enfermedad.

6. CONCLUSIONES

La EA se investiga debido a su difícil diagnóstico precoz y prevención. Por eso, el descubrimiento de biomarcadores en fluidos corporales, tales como LCR o plasma, sirven como vías de estudios para el hallazgo de estos. Muchos ya se encuentran validados, como proteína β -amiloide o tau, pero otros es necesario su validación con otros estudios. Actualmente, se investigan vías alternativas más simples, como análisis de sangre, para la obtención de biomarcadores de manera menos invasiva pero con la misma sensibilidad y eficacia para la detección de la enfermedad de Alzheimer.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Demencia [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2016. Acceso 31 Marzo 2016
Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>
2. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2011;377(9770):1019-1031.
3. Teipel S. Risk and resilience: A new perspective on Alzheimer's disease. *Geriatric Mental Health Care*. 2013;1(3):47-55.
4. Tan Z, Seshadri S, Beiser A, Wilson P, Kiel D, Tocco M et al. Plasma Total Cholesterol Level as a Risk Factor for Alzheimer Disease. *Arch Intern Med*. 2003;163(9):1053.

5. Reed B, Villeneuve S, Mack W, DeCarli C, Chui H, Jagust W. Associations Between Serum Cholesterol Levels and Cerebral Amyloidosis. *JAMA Neurology*. 2014;71(2):195.
6. Enfermedad de Alzheimer y la Diabetes Mellitus - Universidad Veracruzana [Internet]. Uv.mx. 2016. Acceso 20 Abril 2016. Disponible en: <http://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2014/10/Mestizo/HTML.html>
7. Reddy S. Una dieta podría reducir el riesgo de desarrollar Alzheimer [Internet]. WSJ América Latina. 2015 Acceso 17 Abril 2016. Disponible en: <http://lat.wsj.com/articles/SB12608484119488814059804580606803822696286>
8. M.J. Oset-Gasque y C. Roncero. Capítulo 4: "Enfermedad de Alzheimer". En "Bases Moleculares de las Enfermedades Neurodegenerativas: Estrategias Neuroprotectoras y Neurorreparadoras" Ed. M.J. Oset-Gasque (UCM), pp. 49-62 (2011). **ISBN 978-84-96704-49-7. DL M-14637-2011**
9. Babić M, Švob Štrac D, Mück-Šeler D, Pivac N, Stanić G, Hof P et al. Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease. *Croatian Medical Journal*. 2014;55(4):347-365.
10. Perrin R, Fagan A, Holtzman D. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2009;461(7266):916-922.
11. Simona Vuletic J. Apolipoprotein E Highly Correlates with A β PP- and Tau-Related Markers in Human Cerebrospinal Fluid. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* [Internet]. 2008;15(3):409. Acceso 8 Mayo 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2667787/>
12. Martín Carrasco M. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. *PSICOGERIATRIA*. 2009; 1(2):101-114.
13. National Institutes of Health (NIH) [Internet]. National Institutes of Health (NIH). Acceso 31 Marzo 2016. Disponible en: <https://www.nih.gov/>
14. Alzheimer's Disease Education and Referral Center [Internet]. National Institute on Aging. 2016. Acceso 31 Marzo 2016. Disponible en: <https://www.nia.nih.gov/alzheimers>
15. Tomografía de emisión de positrones (PET). Prueba diagnóstica. Clínica Universidad de Navarra [Internet]. Cun.es. 2013 Acceso 31 Marzo 2016. Disponible en: <http://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/pruebas-diagnosticas/pet>
16. Claves para detectar precozmente el Alzheimer con biomarcadores PET [Internet]. infosalus.com. 2015. Acceso 31 Marzo 2016. Disponible en: <http://www.infosalus.com/asistencia/noticia-claves-detectar-precozmente-alzheimer-biomarcadores-pet-20150918135340.html>
17. Wang J, Xiong S, Xie C, Markesbery W, Lovell M. Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2005;93(4):953-962.
18. El ADN mitocondrial como biomarcador de alzhéimer [Internet]. Ciberned.es. 2016. Acceso 29 Abril 2016. Disponible en: <http://ciberned.es/noticias/614-el-adn-mitocondrial-como-biomarcador-de-alzheimer.html>
19. Martínez-Rivera M, Menéndez-González M, Calatayud M, Pérez-Piñera P. Biomarcadores para la Enfermedad de Alzheimer y otras demencias degenerativas. *Archivos de medicina* [Internet]. 2008; 4(3):3. Acceso 27 Abril 2016. Disponible en : <http://www.archivosdemedicina.com>

20. Wurtman R. Biomarkers in the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Metabolism*. 2015;64(3):S47-S50.
21. VanItallie T. Biomarkers, ketone bodies, and the prevention of Alzheimer's disease. *Metabolism*. 2015;64(3):S51-S57.
22. desarglucolisis [Internet]. Javeriana.edu.co. 2016. Acceso 17 Abril 2016. Disponible en : <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/desar-glucolisis.htm>
23. Gazulla JCavero-Nagore M. Glutamato y enfermedad de Alzheimer. *REVISTA DE NEUROLOGIA*. 2006;42(7):427-32.
24. Song JLee J. Adiponectin as a new paradigm for approaching Alzheimer's disease. *Anat Cell Biol*. 2013;46(4):229.
25. Jackson K, Barisone G, Diaz E, Jin L, DeCarli C, Despa F. Amylin deposition in the brain: A second amyloid in Alzheimer disease?. *Annals of Neurology*. 2013;74(4):517-526.
26. Nuutinen T e. Clusterin: a forgotten player in Alzheimer's disease. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016. Acceso 26 Abril 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19651157>
27. T C. Advances in blood-based protein biomarkers for Alzheimer's disease. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016. Acceso 23 Abril 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23659521>
28. Geekiyange H e. Blood serum miRNA: non-invasive biomarkers for Alzheimer's disease. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016 .Acceso 4 Mayo 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22155483>
29. Sheinerman K, Tsivinsky V, Crawford F, Mullan M, Abdullah L, Umansky S. Plasma microRNA biomarkers for detection of mild cognitive impairment. *Aging*. 2012;4(9):590-605.
30. Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K et al. Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nature Medicine*. 2007;13(11):1359-1362.
31. Jiménez Jiménez J. Podríamos diagnosticar el Alzheimer con una prueba de sangre | Zona Geek [Internet]. Zona Geek. 2014. Acceso 7 Mayo 2016. Disponible en: <https://www.zonageek.net/2014/11/24/podriamos-diagnosticar-el-alzheimer-con-una-prueba-de-sangre/>
32. ALZ ID Lab Test [Internet]. Alzidlabtest.com. 2016. Acceso 7 Mayo 2016. Disponible en: <http://alzidlabtest.com/>
33. Wood P. Circulating plasmalogen levels and Alzheimer Disease Assessment Scale–Cognitive scores in Alzheimer patients. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 2010;35(1):59-62.
34. Malishkevich A, Marshall G, Schultz A, Sperling R, Aharon-Peretz J, Gozes I. Blood-Borne Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) is Correlated with Premorbid Intelligence, Clinical Stage, and Alzheimer's Disease Biomarkers. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;50(1):249-260.