



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

**INCLIVA | VLC**  
Instituto de Investigación Sanitaria

2020

José Enrique Muñoz Cebriá

TESIS DOCTORAL

TESIS DOCTORAL



VNIVERSITAT (ò ˆ ˆ)  
DE VALÈNCIA  
Facultat de Medicina i Odontologia

DEPARTAMENTO DE FISIOLÒGIA  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLÒGIA

Efecto de la activación del receptor  
PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento  
de la Enfermedad de Alzheimer.  
Papel de la genisteína.

TESIS DOCTORAL

Presentada por:  
José Enrique Muñoz Cebriá

Dirigida por:  
Dr. José Viña Ribes  
Dra. Consuelo Borrás Blasco  
Dr. Juan Gambini Buchón

Valencia, julio 2020





VNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLÓGÍA

***Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como  
posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer.  
Papel de la genisteína.***

Tesis doctoral presentada por:

**José Enrique Muñoz Cebriá**

Dirigida por:

**Dr. José Viña Ribes**

**Dra. Consuelo Borrás Blasco**

**Dr. Juan Gambini Buchón**

Valencia, Julio de 2020



**Dr. José Viña Ribes**, catedrático del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València

**Dra. Consuelo Borrás Blasco**, catedrática del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València

**Dr. Juan Gambini Buchón**, profesor titular del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València

CERTIFICAN:

Que el Sr. José Enrique Muñoz Cebriá, Licenciado en Farmacia por la Universitat de València y Máster en Fisiología por la misma universidad, ha realizado bajo su dirección la presente Tesis Doctoral titulada:

***Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína.***

Y para que conste a los efectos oportunos, firman la presente en Valencia, a 23 de Junio de 2020.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'José Viña'.

Dr. José Viña Blasco

A complex, stylized handwritten signature in blue ink.

Dra. Consuelo Borrás Blasco

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Juan Gambini'.

Dr. Juan Gambini Buchón



# **AGRADECIMIENTOS**

Decía el filósofo Ortega y Gasset: “Yo soy yo y mis circunstancias”. Muchas son las circunstancias que me han traído hasta aquí y muchas las personas que me han ayudado en el camino.

A mis directores de tesis, al Dr. José Viña, por aceptarme en su grupo de trabajo, por hacerme partícipe de este enorme proyecto. A la Dra. Consuelo Borrás, por la confianza que depositó en mí. Al Dr. Juan Gambini, por recibirme siempre tan bien y por ayudarme tanto. Ojalá nuestra colaboración no acabe en esta tesis y siga por mucho tiempo. Es un privilegio para mi que hayáis dirigido este trabajo.

Al resto del Grupo de Investigación en Envejecimiento y Ejercicio Físico del Departamento de Fisiología de la Universitat de València, en especial a Mar, Marta, Cris, Lucía, Gloria, Cristina, Vicent y Mónica.

Al Dr. Francisco Tarazona, geriatra del Hospital La Ribera, por su dedicación en este proyecto.

Cuando en 2006 empecé una nueva etapa de mi vida laboral en INCLIVA, Fundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia solo pensaba en aprender y formarme. Ni siquiera podía pensar que casi tres lustros después seguiría formando parte de esta gran familia de investigación de la que me siento tan orgulloso. Llegué de la mano del Dr. José Magraner. Solo caben palabras de agradecimiento, por su serenidad, bondad y buen juicio.

Al Dr. Juan Ezquer, a quién tanto echo de menos, de quién aprendí la meticulosidad para trabajar en un laboratorio y la exigencia máxima.

Al Dr. Manuel Alós por haber puesto en nuestras manos todos los recursos disponibles a su alcance para permitir a nuestra Unidad de Ensayos Clínicos crecer de forma exponencial y convertirnos en referencia. Al resto de compañeros del servicio de farmacia del Hospital Clínico Universitario de Valencia, que facilitan día a día la integración de la parte científica con la parte asistencial de la farmacia.

A los compañeros de INCLIVA, especialmente a Carlos Ezquer le agradezco que nunca rehuya el debate, su manera de aplicar el método científico a la discusión más banal y su mirada crítica. Muchas gracias por tu amistad y tantas disquisiciones filosóficas en las que rara vez coincidimos, pero al menos nos enriquecen en la forma de observar el mundo.

Agradezco a Verónica Guillot la pasión y dedicación que pone en su trabajo. No podría imaginar nadie mejor con quien trabajar. A Luna, Santi y Santiago, porque desde hace mucho tiempo son parte de mi familia.

A mi familia, sobre todo a los abuelos, que ya no están, a todos mis tíos, primos y sobrinos. A mis amigos. A mi familia política (Maribel, Jesús, Marta, Isa, Santi y Sofía).

A mis padres, Pura y Enrique, a ellos les debo todo lo que soy, para mí son un referente de amor, entrega, dedicación, integridad y esfuerzo.

A mi mujer, María, porque este trabajo es tan mío como suyo, por todas las horas que le ha dedicado, por sus correcciones, por sus consejos, por aguantar los malos momentos y por disfrutar conmigo de los éxitos. En definitiva, por todo el camino recorrido y por todo lo que vendrá.

Para mi hija Julia.

# ÍNDICE



# ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	29
PREFACIO .....	35
ABSTRACT.....	37
1. INTRODUCCIÓN .....	39
1.1 Enfermedad de Alzheimer como principal tipo de demencia .....	41
1.1.1 Tipos de demencia .....	41
1.2 Enfermedad de Alzheimer.....	41
1.2.1 Un residente en el Hospital para Enfermos Mentales y Epilépticos de Frankfurt.....	44
1.2.2 Auguste D., la paciente cero.....	45
1.2.3 Luces y sombras de un siglo de investigación en EA .....	48
1.3. Tipos de enfermedad de Alzheimer.....	50
1.3.1. EA temprana o familiar .....	50
1.3.2. EA esporádica o tardía .....	51
1.4 Clínica de la enfermedad de Alzheimer .....	51
1.5 Causas de la enfermedad de Alzheimer.....	55
1.5.1 Hipótesis del aluminio .....	55
1.5.2. Hipótesis de acetilcolina .....	56
1.5.3. Hipótesis del péptido $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A):.....	56
1.5.4. Teoría de la hiperfosforilación de TAU .....	58
1.5.5. Teoría del estrés oxidativo.....	58
1.6. Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer .....	59
1.6.1 Péptido Beta Amiloide y placas amiloides .....	59
1.6.1.1 Producción de $\beta$ A .....	60
1.6.1.1.1 Proteína precursora amiloidea (APP):.....	60

# ÍNDICE

1.6.1.1.2. Entrada en el cerebro de $\beta$ A a través de la BHE por receptores RAGE.....	68
1.6.1.1.3 $\beta$ A intraneuronal .....	69
1.6.1.2 Aclaramiento de $\beta$ A .....	71
1.6.1.2.1 Eliminación a través de la BHE por transportador LRP1....	71
1.6.1.2.2 Degradación enzimática en el cerebro.....	72
1.6.1.2.3 Difusión al LCR donde es retenido por el plexo coroideo .	73
1.6.1.3 ApoE, producción o aclaramiento de $\beta$ A según genotipo.....	73
1.6.1.3.1 Mecanismos neuropatológicos de ApoE4 dependiente de $\beta$ A.....	79
1.6.1.3.2 Mecanismos neuropatológicos de ApoE4 independiente de $\beta$ A.....	80
1.6.1.4 Papel de PPAR y RXR .....	82
1.6.2 Proteína TAU y patología neurofibrilar .....	90
1.6.2.1 Hiperfosforilación de TAU .....	93
1.6.3 Inflamación y enfermedad de Alzheimer .....	98
1.6.3.1 Microglía .....	99
1.6.3.2 Astrocitos .....	102
1.6.3.3 Relación enfermedad de Alzheimer e inflamación.....	108
1.6.4 Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer.....	111
1.6.4.1 Peroxidación lipídica .....	112
1.6.4.2 Oxidación de proteínas .....	113
1.6.4.3 Oxidación de DNA.....	113
1.6.4.4 Acumulación de hierro y otros metales .....	114
1.6.5 Betaamiloidosis microvascular (angiopatía amiloidea) .....	115
1.7. Envejecimiento y enfermedad de Alzheimer .....	115

1.7.1. La pirámide poblacional se invierte: el envejecimiento de la población mundial Factores de riesgo de la Enfermedad de Alzheimer .....	117
1.8. Fases de la enfermedad de Alzheimer .....	119
1.9. Factores de riesgo de la Enfermedad de Alzheimer .....	123
1.9.1 Factores no modificables .....	123
1.9.1.1 Edad .....	123
1.9.1.2 Antecedentes familiares .....	123
1.9.1.3 Factores genéticos .....	123
1.9.1.3.1 Síndrome de Down .....	123
1.9.1.3.2 Mutaciones genéticas .....	124
1.9.1.3.3 Alelo ApoE ε4 .....	125
1.9.2 Factores de riesgo modificables .....	126
1.9.2.1 Factores de riesgo cardiovascular .....	126
1.9.2.1.1 Obesidad .....	126
1.9.2.1.2 Sedentarismo .....	128
1.9.2.1.3 Tabaco.....	128
1.9.2.1.4 Diabetes .....	129
1.9.2.1.5 Hiperlipemia .....	130
1.9.2.1.6 Hipertensión.....	131
1.9.2.1.7 Síndrome metabólico .....	132
1.9.3 Factores sociales.....	133
1.9.3.1 Educación .....	134
1.9.3.2 Reserva cognitiva.....	134
1.9.3.3 Compromiso social .....	135
1.9.3.4 Estatus socio-económico .....	135
1.9.3.5 Estrés .....	135
1.9.3.6 Depresión .....	135

# ÍNDICE

1.9.4 Otros factores .....	137
1.9.4.1 Alcohol .....	137
1.9.4.2 Contaminación .....	137
1.9.4.3 Daño cerebral por traumatismo .....	139
1.9.5 Combinación de los factores de riesgo .....	140
1.10 Prevención de la enfermedad de Alzheimer .....	141
1.11 Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer .....	143
1.11.1 La enfermedad de Alzheimer en el mundo .....	144
1.11.2 Enfermedad de Alzheimer en Europa .....	148
1.11.3 Epidemiología en Japón .....	148
1.11.4 La enfermedad en nuestro país .....	149
1.11.5 La enfermedad en nuestro ámbito de estudio .....	150
1.11.7. Diferencia entre mujeres y hombres .....	151
1.11.8 Mortalidad y enfermedad de Alzheimer .....	154
1.12 Diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer .....	154
1.12.1 (Re)definiendo la enfermedad de Alzheimer .....	154
1.12.2 Anamnesis clásica .....	159
1.12.2.1 Síntomas típicos .....	159
1.12.2.2 Diagnóstico por exclusión .....	159
1.12.2.3 Test de valoración neurológica .....	160
1.12.2.3.1 Pruebas cognitivas .....	161
1.12.2.3.1.1 MMSE .....	161
1.12.2.3.1.2 T@M .....	164
1.12.2.3.1.3 ADAS-cog .....	165
1.12.2.3.2 Pruebas conductuales .....	167
1.12.2.3.2.1 NPI .....	167
1.12.2.3.3 Pruebas funcionales .....	167

1.12.2.3.3.1 Índice de Barthel.....	167
1.12.2.3.4 Pruebas cognitivo-funcionales .....	169
1.12.2.3.4.1 Test del informador .....	169
1.12.3 Biomarcadores.....	169
1.12.3.1 Biomarcadores en LCR .....	170
1.12.3.2 Biomarcadores por neuroimagen.....	170
1.12.3.3 Marcadores genéticos.....	172
1.12.3.4 Biomarcadores en fluidos biológicos .....	173
1.12.4 <i>Continuum</i> de la enfermedad de Alzheimer .....	175
1.13 Tratamiento de enfermedad de Alzheimer.....	125
1.13.1 Tratamientos autorizados por Agencia Europea de Medicamentos.....	178
1.13.1.1. Tacrina.....	180
1.13.1.2 Donepezilo .....	180
1.13.1.3 Rivastigmina .....	181
1.13.1.4. Galantamina .....	181
1.13.1.5 Memantina.....	183
1.13.1.6 <i>Ginkgo biloba</i> .....	184
1.13.2 Tratamientos en estudio: Nuevas oportunidades en el tratamiento de EA .....	186
1.13.3 Terapia propuesta por Grupo de Investigación en Envejecimiento y Ejercicio Físico del Departamento de Fisiología de UV.....	195
1.13.3.1 Tratamiento con genisteína .....	195
1.13.3.2 ¿De dónde venimos, a dónde vamos? (de los cultivos celulares al <i>first in humans</i> ) .....	198
1.14 Investigación traslacional en enfermedad de Alzheimer (del laboratorio a la consulta) .....	202
1.14.1 Investigación básica .....	202

# ÍNDICE

1.14.2 Investigación clínica .....	203
1.14.3 Investigación traslacional.....	204
1.14.4 Medicina basada en la evidencia.....	204
1.14.5 El ensayo clínico.....	206
1.14.5.1 Definiendo ensayo clínico y estudio clínico .....	207
1.14.5.2 Ensayos clínicos según la fase de investigación .....	207
1.14.5.3 Ensayos clínicos según el ámbito de estudio .....	209
1.14.5.4 Ensayo clínico unicéntrico vs. multicéntrico .....	209
1.14.5.5 Ensayo clínico comercial vs. académico .....	209
1.14.5.6 Estudio clínico intervencional vs. observacional.....	210
1.14.5.7 Ensayo clínico randomizado vs. no randomizado .....	211
1.14.5.8 Ensayo clínico no controlados vs. controlados .....	211
1.14.5.9 Ensayo clínico ciego, doble ciego y triple ciego.....	212
1.14.5.10 Ensayo clínico paralelo vs. cruzado .....	212
1.14.6 Registro de ensayos clínicos.....	213
1.14.7 <i>Gold standard</i> en ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer..	214
1.14.8 Crónica de una muerte anunciada, problemas de la investigación traslacional .....	215
1.14.8.1 Modelos animales erróneos.....	216
1.14.8.2 Sesgos en los ensayos clínicos en humanos.....	217
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	219
2.1 Subestudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio GENISTEÍNA_2” .....	223
2.1.1 Hipótesis.....	223
2.1.2 Objetivos .....	223
2.2 Subestudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	223

2.2.1 Hipótesis.....	223
2.2.2 Objetivos .....	224
2.3 Estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA_2” .....	224
2.3.1 Hipótesis.....	224
2.3.2 Objetivos .....	225
2.3.2.1 Objetivo principal .....	225
2.3.2.2 Objetivos específicos .....	225
3. METODOLOGÍA.....	227
3.1 Metodología del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina_2” .....	231
3.2 Metodología del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	233
3.3 Metodología “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA_2” .....	235
3.3.1 Tipo de estudio.....	235
3.3.2 Consideraciones éticas.....	235
3.3.3 Reclutamiento de pacientes.....	235
3.3.4 Población del estudio.....	236
3.3.5 Criterios de inclusión .....	237
3.3.6 Criterios de exclusión.....	237
3.3.7 Aleatorización.....	237
3.3.8 Enmascaramiento.....	238
3.3.9 Procedimientos del estudio .....	239
3.3.10 Tratamiento.....	240

# ÍNDICE

3.3.11 Presentación.....	240
3.3.12 Valoración neurológica .....	241
3.3.13 Otras variables.....	241
3.3.14 Análisis estadístico.....	242
4. RESULTADOS.....	243
4.1 Resultados del estudio “Tendencia de prescripción para la demencia en el entorno clínico del estudio Genisteina_2” .....	247
4.1.1 Pacientes tratados de demencia .....	247
4.1.2 Prescripción por sexo y grupo de edad.....	248
4.1.3 Tendencia de prescripción por hospital y fármaco .....	251
4.1.4 Prescripción por fármaco y grupos de edades .....	255
4.1.5 Comparativa entre prescripción por fármaco y grupo de edad .....	260
4.2 Resultados del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	263
4.2.1 Fase de ensayos clínicos.....	263
4.2.2 Ámbito nacional/internacional.....	265
4.2.3 Ensayos clínicos multicéntricos/unicéntricos.....	266
4.2.4 Situación actual de los ensayos clínicos (abiertos/cerrados).....	268
4.2.5 Ensayos clínicos según la etapa de la enfermedad de Alzheimer ....	269
4.2.6 Promotor de ensayo clínico: académico vs. industria .....	270
4.2.7 Ensayos clínicos según duración del estudio.....	271
4.2.8 Ensayos clínicos iniciados por año.....	272
4.2.9 Ensayos clínicos según previsión de reclutamiento .....	272
4.2.10 Ensayos clínicos según intervención.....	273
4.2.11 Ensayos clínicos randomizados/no randomizados .....	274
4.2.12 Ensayos clínicos según tipo de tratamiento.....	275
4.2.13 Ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios .....	278

4.2.14 Difusión de los resultados (publicados/no publicados) .....	280
4.3 Resultados del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA_2” .....	281
4.3.1 Pruebas <i>ad hoc</i> .....	284
4.3.1.1 Peroxidación lipídica en plasma .....	284
4.3.1.2 Proteínas oxidadas en plasma .....	285
4.3.1.3 Mediadores solubles de inflamación en plasma .....	286
4.3.2 Resultados de pruebas cognitivas .....	289
4.3.2.1 Resultados de MMSE .....	289
4.3.2.2 Resultados de T@M .....	291
4.3.2.3 Resultados de ADAS-cog .....	293
4.3.3 Resultados de pruebas conductuales .....	295
4.3.3.1 Resultados de NPI .....	295
4.3.4 Resultados de pruebas funcionales .....	297
4.3.4.1 Resultados de Índice de Barthel .....	297
4.3.5 Resultados de pruebas cognitivo-funcionales .....	299
4.3.5.1 Test del informador .....	299
4.3.6 Seguridad .....	301
5. DISCUSIÓN .....	303
5.1 Discusión del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina_2” .....	307
5.1.1 Justificación del estudio .....	307
5.1.2 Pacientes tratados de demencia .....	308
5.1.3 Prescripción por sexo y grupos de edad. ....	308
5.1.4. Tendencia de prescripción por hospital y fármaco. ....	310
5.1.5 Prescripción por fármaco y grupos de edad .....	314

# ÍNDICE

5.1.6 Comparativa entre prescripción por fármaco y grupos de edad. ....	315
5.1.7 Limitaciones del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina_2” .....	316
5.2 Discusión del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	319
5.2.1 Justificación del estudio .....	319
5.2.2 Fase de ensayos clínicos.....	320
5.2.3 Ámbito nacional/internacional.....	321
5.2.4 Ensayos clínicos multicéntricos/unicéntricos.....	322
5.2.5 Situación actual de los ensayos clínicos (abiertos/cerrados).....	323
5.2.6 Ensayos clínicos según la etapa de la enfermedad de Alzheimer ....	324
5.2.7 Promotor de ensayo clínico: académico vs. industria .....	325
5.2.8 Ensayos clínicos según duración del estudio.....	327
5.2.9 Ensayos clínicos iniciados por año.....	329
5.2.10 Ensayos clínicos según previsión de reclutamiento.....	329
5.2.11 Ensayos clínicos según intervención.....	330
5.2.12 Ensayo clínicos randomizados/no randomizados.....	330
5.2.13 Ensayos clínicos según tipo de tratamiento.....	331
5.2.14 Ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios .....	333
5.2.15 Difusión de los resultados (publicados/no publicados) .....	335
5.2.16 Valoración global del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	336
5.2.17 Limitaciones del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	339
5.3 Discusión “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína .....	301
5.3.1 Justificación del estudio .....	341

5.3.2	Discusión de pruebas <i>ad hoc</i> .....	344
5.3.2.1	Peroxidación lipídica en plasma .....	344
5.3.2.2	Proteínas oxidadas en plasma .....	345
5.3.2.3	Mediadores solubles de inflamación en plasma .....	346
5.3.3	Discusión de pruebas neurológicas .....	347
5.3.3.1	Discusión de pruebas cognitivas.....	348
5.3.3.2	Discusión de prueba conductual .....	349
5.3.3.3	Discusión de prueba funcional. ....	349
5.3.3.4	Discusión de prueba cognitivo-funcional.....	349
5.3.4	Valoración global del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína .....	352
5.3.5	Limitaciones del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína .....	356
6.	CONCLUSIONES.....	357
6.1	Conclusiones del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina_2” .....	361
6.2	Conclusiones del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	362
6.3	Conclusiones “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA_2” .....	363
6.3.1	Conclusión principal.....	363
6.3.2	Conclusiones específicas .....	363
	BIBLIOGRAFÍA.....	365

# ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Documentos, notas y muestras de tejido en relación al caso de la paciente Auguste D., del Hospital para Enfermos Mentales y Epilépticos de Franckfurt .....	46
Figura 1.2	Hechos más destacados en la investigación en EA desde 1980 hasta la actualidad .....	49
Figura 1.3	Posibles mecanismos asociados a los síntomas neuropsicológicos de la enfermedad de Alzheimer .....	55
Figura 1.4	Hipótesis de la cascada amiloidea.....	57
Figura 1.5	Diferencia entre cerebro sano y cerebro con enfermedad de Alzheimer .....	59
Figura 1.6	Posición del gen de la APP en el brazo largo del cromosoma 21.....	60
Figura 1.7	Vía fisiológica de la degradación de la proteína APP .....	61
Figura 1.8	Vía <i>amiloidogénica dela escisión de la proteína APP</i> .....	63
Figura 1.9	Escisiones en APP que conducen a la formación de $\beta$ A .....	64
Figura 1.10	Complejo presenilina con sus cuatro componentes: presenilina, nicastrina, Aph1 y PEN-2.....	64
Figura 1.11	Diferentes estados de $\beta$ A: monómeros, oligómeros, protofibrillas y fibrillas.....	66
Figura 1.12	Transporte de $\beta$ A a través de BHE por transportador RAGE .....	69
Figura 1.13	Efectos neuropatológicos de $\beta$ A intraneuronal .....	70
Figura 1.14	Transporte del $\beta$ A a través de la BHE mediado por LRP1.....	71
Figura 1.15	Posición del gen ApoE en el brazo largo del cromosoma 19 .....	74
Figura 1.16	Estructura de un quilomicrón .....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1.17	Estructura de apolipoproteína E (ApoE) y polimorfismos de nucleótido único (SNP).....	76
Figura 1.18	Agreación de ApoE.....	77
Figura 1.19	Patología de ApoE a nivel neuronal .....	80
Figura 1.20	Estructura de PPAR.....	83
Figura 1.21	Formación del heterodímero PPAR-RXR .....	84
Figura 1.22	Posición del gen que codifica PPAR $\gamma$ .....	87
Figura 1.23	Posición del gen de TAU en el brazo largo del cromosoma 17 .....	90
Figura 1.24	Representación esquemática de la proteína TAU y función de sus diferentes regiones .....	91
Figura 1.25	Formación de filamentos helicoidales e hiperfosforilación de TAU	93
Figura 1.26	Estadios de la patología neurofibrilar .....	97
Figura 1.27	Relación entre enfermedad de Alzheimer, inflamación y células gliales .....	109
Figura 1.28	Población entre 60-79 años y mayor de 80 años en el mundo, según el grado de desarrollo del país al que pertenecen .....	117
Figura 1.29	Datos del Instituto Nacional de Estadística sobre población anciana en España en 2018 y previsión para 2033 .....	119
Figura 1.30	Hipótesis de la cascada amiloidea y patogénesis en EA en relación con factores genéticos .....	125
Figura 1.31	Incidencia de la demencia en el mundo según grupos de edad y región .....	145
Figura 1.32	Prevalencia e incidencia mundial de demencia (%) .....	146
Figura 1.33	Prevalencia e incidencia de demencia según sexo.....	152
Figura 1.34	Distribución de la población anciana mundial por sexo en 2015 y 2050 .....	153
Figura 1.35	Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer .....	158

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1.36	Modelo de la trayectoria clínica de EA de Sperling.....	177
Figura 1.37	Modelo de biomarcadores dinámicos en las distintas etapas de la enfermedad de Alzheimer según la definición de las guías NIA-AA.....	178
Figura 1.38	Fármacos anticolinérgicos aprobados por la AEMPS .....	182
Figura 1.39	Molécula de memantina.....	184
Figura 1.40	Molécula de <i>Ginkgo biloba</i> .....	185
Figura 1.41	Moléculas de 17- $\beta$ -estradiol y genisteína.....	196
Figura 1.42	Distribución de receptores estrogénicos en hombres y mujeres .	197
Figura 1.43	Tipos de investigación biomédica y transición entre investigación básica e investigación clínica (investigación traslacional).....	203
Figura 3.1	Etiqueta de medicación de estudio Genisteína_2 .....	241
Figura 4.1	Pacientes tratados de demencia en Hospital Clínico de Valencia y Hospital de La Ribera entre 2013 y 2018. ....	248
Figura 4.2	Distribución de prescripciones de medicamentos para el tratamiento de la demencia por sexo y grupos de edad en el Hospital Clínico y el Hospital La Ribera durante el período 2013-18.....	249
Figura 4.3	Porcentaje de pacientes con farmacoterapia para demencia según sexo entre ambos centros de estudio.....	250
Figura 4.4	Número de prescripciones del grupo terapéutico ATC N06D (Medicamentos contra demencia), pautadas en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el periodo 2013-2018. ....	252
Figura 4.5	Número de prescripciones del grupo terapéutico ATC N06D (Medicamentos contra demencia), pautadas en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el periodo 2013-2018 según sexo. ....	253

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 4.6	Proporción de fármacos dispensados por sexo en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el período 2013-2018.....	254
Figura 4.7	Prescripción de donepezilo por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018.....	255
Figura 4.8	Prescripción de galantamina por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018.....	256
Figura 4.9	Prescripción de rivastigmina por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018.....	257
Figura 4.10	Prescripción de <i>ginkgo biloba</i> por Departamento de Salud y por grupos de edad durante el período 2013-2018.....	258
Figura 4.11	Prescripción de memantina por hospital y por grupos de edad en el período 2013-2018 .....	259
Figura 4.12	Comparativa entre prescripción por fármaco y grupo de edad en año 2018.....	261
Figura 4.13	Número de EECC en EA en España según fase de estudio .....	263
Figura 4.14	Distribución de EECC según fase de estudio en España y en el mundo .....	264
Figura 4.15	Ámbito de los EECC en EA que han tenido lugar en España.....	265
Figura 4.16	EECC de EA realizados en Europa y EECC en restantes países de Europa que también se realizan en España. ....	266
Figura 4.17	Número de EECC en España en EA según el número de centros donde se realiza.....	267
Figura 4.18	Ensayos clínicos unicéntricos/multicéntricos en el mundo (solo estudios en los que ha participado España) .....	267
Figura 4.19	Situación de los estudios clínicos de enfermedad de Alzheimer en España .....	268

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 4.20	Fases clínicas de ensayos clínicos abiertos en España en EA.....	268
Figura 4.21	Número de ensayos clínicos en EA en España según la etapa de la enfermedad .....	269
Figura 4.22	Distribución de los ensayos clínicos en EA en España según el promotor .....	270
Figura 4.23	Distribución de los ensayos clínicos en EA en España según promotor de la industria .....	270
Figura 4.24	Nº de ensayos clínicos en EA en España según la duración del estudio .....	271
Figura 4.25	Número de ensayos clínicos en EA en España iniciados por año..	272
Figura 4.26	Ensayos clínicos en EA en España según previsión de pacientes reclutados en todo en el mundo .....	273
Figura 4.27	Número de ensayos clínicos en EA en España según sean intervencionales u observacionales.....	273
Figura 4.28	Número de ensayos clínicos en EA en España según aleatorización	274
Figura 4.29	Número de ensayos clínicos randomizados en EA en España según el comparador .....	274
Figura 4.30	Número de ensayos clínicos en EA en España según el tipo de tratamiento .....	275
Figura 4.31	Fármacos en investigación en EA en España según clasificación de las moléculas y número de ensayos realizados con cada uno de ellos.....	276
Figura 4.32	Fármacos en investigación según grupo terapéutico en EA en España y número de ensayos clínicos realizados con esas moléculas.....	276
Figura 4.33	Moléculas más usadas en investigación en EA en España.....	277
Figura 4.34	Número de ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios en enfermedad de Alzheimer en España .....	278

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 4.35	Número de ensayos clínicos según objetivos neurológicos en enfermedad de Alzheimer en España .....	279
Figura 4.36	Ensayos clínicos cerrados en EA en España según publicación o no de sus resultados .....	280
Figura 4.37	Medida de MDA en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	285
Figura 4.38	Medida de proteínas carboniladas en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo. ....	286
Figura 4.39	Medida de leptina en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	287
Figura 4.40	Medida de MCP-1 en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	287
Figura 4.41	Medida de TNF en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	288
Figura 4.42	Cambio en escala cognitiva de EA (MMSE) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo. ....	290
Figura 4.43	Cambio en escala cognitiva de EA (T@M) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	292
Figura 4.44	Cambio en escala cognitiva de EA (ADAS-cog) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	294
Figura 4.45	Cambio en escala conductual de EA (NPI) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo. ....	296
Figura 4.46	Cambio en escala funcional de EA (Índice de Barthel) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.....	298
Figura 4.47	Cambio en escala cognitivo-funcional de EA (Test del informador) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo .....	300
Figura 5.1	Nuevo paradigma de la investigación bioclínica .....	327

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 5.2	Análisis DAFO del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” .....	337
Figura 5.3	Análisis DAFO de estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA_2” .....	339
Figura 5.4	Molécula de bexaroteno, agente retinoide agonista del receptor retinoide X (RXR).....	342

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Genética de las formas de enfermedad de Alzheimer familiar.....	50
Tabla 1.2	Localización, función y ligandos de los diferentes tipos de PPAR .....	86
Tabla 1.3	Diferencias esenciales entre envejecimiento y Enfermedad de Alzheimer. ....	116
Tabla 1.4	Escala CDR de evaluación de demencia.....	120
Tabla 1.5	Escalas de evaluación de la demencia GDS y FAST .....	122
Tabla 1.6	Factores de riesgo para síndrome metabólico y criterios diagnósticos .....	133
Tabla 1.7	Factores de riesgo principales de la EA .....	140
Tabla 1.8	Frecuencia de ApoE en población española en general y en población española con EA.....	150
Tabla 1.9	Diferencia entre guías de diagnóstico del Alzheimer NINCDS-ADRDA (1984) y NIA-AA (2011). ....	157
Tabla 1.10	Valores de MMSE .....	162
Tabla 1.11	Tabla de Crum para el ajuste de MMSE por edad y estudios .....	163

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1.12	Valoración de test T@M. ....	165
Tabla 1.13	Grado de dependencia según resultados de test de Barthel.....	168
Tabla 1.14	Perfiles y categoría de biomarcadores en EA propuesto por IWG..	176
Tabla 1.15	Niveles de evidencia SIGN .....	205
Tabla 1.16	Grados de recomendación SIGN .....	206
Tabla 3.1	Tabla de indicadores entre departamentos de Salud 5, Clínico- Malvarrosa y Departamento de Salud 11 La Ribera .....	232
Tabla 4.1	Prescripciones de fármacos para el tratamiento de la demencia por sexo y grupos de edad en Hospital Clínico y el Hospital La Ribera durante el período 2013-18 .....	250
Tabla 4.2	EECC según fase clínica en España y en el mundo .....	264
Tabla 4.3	<i>Timelines</i> de reclutamiento y tratamiento en estudio clínico Genisteína_2.....	281
Tabla 4.4	Participación según sexo en estudio clínico GENISTEINA_2.....	282
Tabla 4.5	Distribución de pacientes por aleatorización y sexo.....	282
Tabla 4.6	Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y edad .....	283
Tabla 4.7	Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y meses desde el diagnóstico de la EA .....	284
Tabla 4.8	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala cognitiva de EA (MMSE) en la semana 26 de tratamiento.....	289
Tabla 4.9	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala cognitiva de EA (T@M) en la semana 26 de tratamiento. ....	291
Tabla 4.10	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala cognitiva de EA (ADAS-cog) en la semana 26 de tratamiento. ....	293
Tabla 4.11	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala conductual de EA (NPI) en la semana 26 de tratamiento.....	295

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 4.12	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala funcional de EA (Índice de Barthel) en la semana 26 de tratamiento. ....	297
Tabla 4.13	Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala cognitivo-funcional de EA (Test del informador) en la semana 26 de tratamiento .	299
Tabla 4.14	Acontecimientos adversos registrados durante el estudio Genisteina_2.....	301

**ABREVIATURAS**

<b>ABCA</b>	<i>ATP-binding cassette sub-family</i>
<b>ACE-R</b>	<i>Addenbrooke's Cognitive Examination Revised</i>
<b>ADAS-COG</b>	<i>Alzheimer's disease assessment scale-cognitive</i>
<b>ADCS-ADL</b>	<i>Alzheimer's disease cooperative study- activities of daily living</i>
<b>ADI</b>	<i>Alzheimer's Disease International</i>
<b>ADME</b>	Absorción, distribución, metabolismo y excreción
<b>ADRDA</b>	<i>Alzheimer's disease and related disorders association</i>
<b>AEMPS</b>	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
<b>AGE</b>	Producto de glicosilación avanzada
<b>APH</b>	<i>Anterior pharynx defective</i>
<b>AINE</b>	Antiinflamatorio no esteroideo
<b>APP</b>	Proteína precursora del amiloide
<b>ApoE</b>	Apolipoproteína E
<b>APP</b>	Proteína precursora de amiloide ( <i>amyloid precursor protein</i> )
<b>ARIA-E</b>	<i>Amyloid-related imaging abnormalities-Edema</i>
<b>ARIA-H</b>	<i>Amyloid-related imaging abnormalities-microHaemorrhages</i>
<b>AVS</b>	Agencia Valenciana de la Salud
<b>βA</b>	beta amiloide
<b>BACE</b>	<i>Beta-Amyloid precursor protein Cleavage Enzyme</i>

## ABREVIATURAS

<b>BHE</b>	Barrera hematoencefálica
<b>BPF</b>	Buenas prácticas de fabricación
<b>CBD</b>	Degeneración corticobasal
<b>CDK</b>	Quinasa dependiente de ciclina
<b>CDT</b>	<i>Clock-drawing test</i>
<b>CEBM</b>	<i>Centre for Evidence-Based Medicine</i>
<b>CEIC</b>	Comité ético de investigación clínica
<b>CERAD</b>	<i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i>
<b>CGA-NPI</b>	<i>Caregiver-administered neuropsychiatric inventory</i>
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>CRD</b>	Cuaderno de recogida de datos
<b>DAFO</b>	Debilidades, amenazas, fortalezas y oportunidades
<b>DBD</b>	<i>DNA binding domain</i>
<b>DM</b>	<i>Diabetes Mellitus</i>
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DSM</b>	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>EAIT</b>	Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
<b>EBM</b>	Medicina basada en evidencia ( <i>evidence-based medicine</i> )
<b>EECC</b>	Ensayos clínicos
<b>EMEA</b>	Agencia Europea de Medicamentos

## ABREVIATURAS

<b>ER</b>	Receptor estrogénico
<b>FAST</b>	<i>Functional Assessment Staging</i>
<b>FDA</b>	<i>Food and Drugs Administration</i>
<b>GDS</b>	<i>Global Deterioration Scale</i>
<b>GFAP</b>	Proteína ácida fibrilar glial
<b>GSK3</b>	Glucógeno sintasa kinasa 3
<b>GETH</b>	Grupo español de trasplante hematopoyético
<b>GWAS</b>	Estudio de asociación de genoma completo ( <i>Genome-wide association study</i> )
<b>HCUV</b>	Hospital Clínico Universitario de Valencia
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad ( <i>High density lipoprotein</i> )
<b>HLR</b>	Hospital La Ribera
<b>HRE</b>	Elementos de respuesta hormonal
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>ICE</b>	Inhibidores de la colinesterasa
<b>IDE</b>	Enzima degradadora de insulina
<b>Ig</b>	Inmunoglobulina
<b>IGIV</b>	Inmunoglobulina intravenosa
<b>INCLIVA</b>	Instituto de Investigación del Hospital Clínico de Valencia
<b>IQCODE</b>	<i>Test del informador (Informant Questionnaire for Cognitive Decline in the Elderly)</i>
<b>ISRS</b>	Inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina

## ABREVIATURAS

<b>IWG</b>	<i>International Working Group for New Research Criteria for the Diagnosis of Alzheimer's Disease (IWG)</i>
<b>LBD</b>	<i>Ligand binding domain</i>
<b>LCCT</b>	Linfoma cutáneo de células T
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquídeo
<b>LDL</b>	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad ( <i>low density lipoprotein</i> )
<b>LRP1</b>	Proteína receptora de lipoproteínas de baja densidad ( <i>low density lipoproteína receptor-related protein 1</i> )
<b>LXR</b>	Receptor del hígado X ( <i>liver X receptor</i> )
<b>MAB</b>	Anticuerpo monoclonal ( <i>monoclonal antibody</i> )
<b>MAPK</b>	Proteína quinasas activadas por mitógenos
<b>MMSE</b>	<i>Mini-Mental State Examination</i>
<b>MTL</b>	Lóbulo temporal medio
<b>NFT</b>	Ovillos neuronales intrafibrilares ( <i>Neurofibrillar tangles</i> )
<b>NHI</b>	<i>National Institute of Health</i>
<b>NIA</b>	<i>National Institute of Aging</i>
<b>NINCDS</b>	<i>National institute of neurological and communicative disorders and Stroke Alzheimer's</i>
<b>NMDA</b>	Ácido N-metil-D-aspártico
<b>NPI</b>	<i>Neuropsychiatric Inventory</i>
<b>NPS</b>	Síntomas neuropsiquiátricos ( <i>Neuropsychiatric symptoms</i> )
<b>NRS</b>	Receptores hormonales nucleares

## ABREVIATURAS

<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PCT</b>	Ensayo clínico aleatorizado controlado con placebo ( <i>Randomized placebo-controlled trial</i> )
<b>PEN</b>	<i>Presenilin enhancer</i>
<b>PET</b>	Tomografía por emisión de positrones
<b>PIB</b>	Producto interior bruto
<b>PP</b>	Proteína fosfatasa
<b>PPAR</b>	Receptor activado de proliferación de los peroxisomas
<b>PPRES</b>	<i>Peroxisome proliferator hormone response elements</i>
<b>PreP</b>	<i>Presequence peptidase</i>
<b>PSEN</b>	Presenelina
<b>PSP</b>	Parálisis supranuclear progresiva
<b>PUFA</b>	Ácidos grasos poliinsaturados ( <i>poly unsaturated fatty acids</i> )
<b>QoL-AD</b>	<i>Quality of Life-Alzheimer Disease</i>
<b>RAGE</b>	Receptor para productos finales de glicosilación avanzados ( <i>receptor for advanced glycation end products</i> )
<b>RAM</b>	Reacción adversa al medicamento
<b>RAR</b>	Receptor de ácido retinoico
<b>REeC</b>	Registro español de estudios clínicos
<b>RM</b>	Resonancia magnética
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno

## ABREVIATURAS

<b>RXR</b>	Receptor retinoide X
<b>RUD-Life</b>	<i>Resources utilization in dementia-life</i>
<b>SEGG</b>	Sociedad Española de Geriatria y Gerontología
<b>SEMNUM</b>	Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular
<b>SEPG</b>	Sociedad Española de Psicogeriatría
<b>SIGN</b>	<i>Scottish Intercollegiate Guidelines Network</i>
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SORL</b>	<i>Sortilin related receptor</i>
<b>SPECT</b>	Tomografía computarizada de emisión monofotónica ( <i>single photon emission computed tomography</i> )
<b>T@M</b>	Test de alteración de memoria
<b>TBARS</b>	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
<b>TGF</b>	Factor de crecimiento transformante
<b>THS</b>	Terapia hormonal sustitutiva
<b>TKI</b>	Inhibidor tirosina quinasa
<b>TOMM</b>	<i>Translocase of mitochondrial membrane</i>
<b>UN</b>	Organización de las Naciones Unidas ( <i>United Nations</i> )
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento endotelial vascular ( <i>vascular endothelial growth factor</i> )
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de muy baja densidad ( <i>very low density lipoprotein</i> )
<b>WHIMS</b>	<i>Women's Health Initiative Memory Study</i>
<b>WHO</b>	Organización Mundial de la Salud ( <i>World Health Organization</i> )

## PREFACIO

### El brebaje de Melquiades

“Con un hisopo entintado marcó cada cosa con su nombre: *mesa, silla, reloj, puerta, pared, cama, cacerola*. Fue al corral y marcó los animales y las plantas: *vaca, chivo, puerco, gallina, yuca, malanga, guineo*. Poco a poco, estudiando las infinitas posibilidades del olvido, se dio cuenta de que podía llegar un día en que se reconocieran las cosas por sus inscripciones, pero no se recordara su utilidad. Entonces fue más explícito. El letrero que colgó de la cerviz de la vaca era una muestra ejemplar de la forma en que los habitantes de Macondo estaban dispuestos a luchar contra el olvido: *Esta es la vaca, hay que ordeñarla todas las mañanas para que produzca leche y a la leche hay que hervirla para mezclarla con el café y hacer café con leche...*”

Cien años de soledad, Gabriel García-Márquez

Cuando la peste del insomnio y el olvido amenaza el pueblo de Macondo, Aureliano Buendía idea como hacer frente a este enorme mal, marca cada uno de los objetos y los animales de su casa con su nombre. Cuando el olvido hace aún más mella en los habitantes de Macondo, Aureliano decide rotular la utilidad del objeto sin obtener resultados para la pérdida de memoria.

Conforme avanza su olvido y su desesperación, construye la máquina de la memoria, una manivela con miles de fichas con los conocimientos básicos de la vida, que gira todas las mañanas para aprender lo desaprendido a lo largo del día anterior, sin imaginar que con el tiempo también olvidará descifrar la *letra escrita*.

## PREFACIO

Finalmente, el gitano Melquiades (inventor, alquimista, chamán, boticario, sanador y viajero) le da a beber a Aureliano una sustancia *de color apacible*, despertándole de su olvido en medio de una casa con ridículos carteles colgantes en todos y cada uno de los muebles, objetos y seres vivos.

Impregnado del realismo mágico del que su autor se convierte en adalid desde sus primeros trabajos, este pasaje de la novela más leída del siglo XX, muestra la pérdida de memoria de la forma más bella, poética y épica que nunca se ha descrito. Lamentablemente, García Márquez, enfermo de Alzheimer, fallece el 7 de abril de 2014 con dos cuentas pendientes, acabar sus memorias (las mejores que nunca antes nadie habría escrito) y haber bebido el brebaje de Melquiades.

## **ABSTRACT**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una forma de demencia que empeora gradualmente con el tiempo y afecta de forma negativa a las funciones cognitivas. El tratamiento actual consiste en inhibidores de la acetilcolinesterasa y un antagonista NMDA. A pesar de que nunca hasta ahora se había dispuesto de un arsenal terapéutico en investigación tan amplio y variado frente a la EA, no se puede decir que sea efectivo. La enfermedad de Alzheimer conlleva un enorme gasto sanitario y social que se agrava con el envejecimiento de la población y el aumento de la prevalencia que este conlleva.

En la presente tesis nos planteamos la administración de genisteína en fases iniciales de la enfermedad, buscando una mejora de las capacidades cognitivas del paciente. Tal y como se ha demostrado en estudios preclínicos, la genisteína aumenta la expresión de PPAR $\gamma$ , lo que conlleva un aumento de la producción de ApoE por parte de los astrocitos. ApoE logra un aumento del aclaramiento del péptido  $\beta$ A, produciéndose una mejora cognitiva. Además, genisteína previene la formación de radicales libres y protege de la toxicidad frente el péptido  $\beta$ A.

Genisteina\_2 es un estudio clínico piloto, multicéntrico, doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo en pacientes con enfermedad de Alzheimer incipiente, donde el grupo experimental recibe 60 mg de genisteína vía oral cada 12 horas durante seis meses, mientras el grupo control recibe placebo. Se realiza una batería de test neurológicos al principio y al final del estudio para valorar cambios en la cognición y el comportamiento.

En las pruebas cognitivas no hemos obtenido una diferencia significativa entre el grupo de pacientes tratado con genisteína y el grupo control, no obstante, sí

## ABSTRACT

vemos una tendencia de los pacientes tratados con genisteína a mejorar los resultados en los test cognitivos respecto del grupo placebo a los seis meses de haber iniciado el tratamiento. Los test conductuales, funcionales y cognitivo-funcionales no muestran diferencias significativas entre los pacientes del grupo experimental y el grupo control, aunque los pacientes tratados con genisteína mejoran o no empeoran los resultados obtenidos en los test conductuales y funcionales respecto a los pacientes tratados con placebo.

Como conclusión podemos decir que el tratamiento con genisteína durante seis meses en pacientes con enfermedad de Alzheimer mejora los test neurológicos de los pacientes en la rama experimental frente a aquellos tratados con placebo. Genisteína no produce ninguna reacción adversa, por lo que podemos afirmar que en la dosis estudiada presenta un perfil de seguridad adecuado.

Los resultados favorables en investigación preclínica del grupo del profesor Viña sobre efecto de la genisteína en enfermedad de Alzheimer y los resultados en humanos del estudio GENISTEÍNA\_2 abren la puerta a un estudio de extensión y pivotal más amplio que pueda corroborar el efecto positivo de la genisteína en enfermos de Alzheimer.

# **Capítulo 1**

# **INTRODUCCIÓN**



### **1.1 Enfermedad de Alzheimer como principal tipo de demencia**

La demencia es la pérdida del funcionamiento cognitivo, recordar, razonar y habilidades de comportamiento, hasta el punto que interfiere con la vida cotidiana y las actividades de una persona (National Institute on Aging, 2015). Como define la doctora Raj Long: “la demencia es una enfermedad que priva a millones de personas en todo el mundo de su derecho a envejecer con dignidad”. (Long, R. 2016). Se estima que la demencia afecta en todo el mundo a un 6% de las personas mayores de 65 años (Van der Flier, W. 2005). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó el coste total de la demencia a nivel mundial en 2015 en 818.000 millones de dólares, lo que supone un 1,1% del producto interior bruto (PIB) mundial (Who.int. 2015).

Es importante distinguir entre los tipos de demencia y establecer un correcto diagnóstico de la misma, debido a las diferencias en el curso de la enfermedad, el patrón cognitivo de cada una de ellas, hallazgos fisiopatológicos y los diferentes tratamientos que se pueden establecer (Chui, H. 2015).

**1.1.1 Tipos de demencia:** aunque hay muchos tipos de demencia vamos a prestar particular atención en aquellas con mayor prevalencia, la EA, la demencia vascular y la demencia mixta.

**1.1.1.1 Enfermedad de Alzheimer (EA):** El tipo de demencia más común. Se estima que incluye un 60-80% de los casos totales de demencia (Van der Flier, W. 2005). Es una enfermedad cerebral que empieza mucho antes de que aparezca la clínica en los pacientes. Empieza a manifestarse como una pérdida de memoria, siguiendo con apatía y depresión. En etapas más avanzadas afecta a habilidades

## INTRODUCCIÓN

cognitivas, como la dificultad al hablar, al razonar o al moverse. En sus fases finales el paciente es completamente dependiente. Los hallazgos patológicos de la EA son la acumulación progresiva de la proteína  $\beta$ -amiloide extraneuronal (Glenner, G. 1984) y las hebras de la proteína TAU dentro de las neuronas (Goedert, M. 1991), lo que provoca daño y muerte neuronal.

**1.1.1.2 Demencia vascular:** anteriormente conocida como demencia arteriosclerótica o demencia multiinfarto (Hachinski, V. 1974), representa aproximadamente un 10% de los casos de demencia (Jellinger, K. 2008b). Tiene su origen en los diferentes accidentes cerebrovasculares, estos incluyen tanto eventos hemorrágicos como isquémicos (Medlineplus.gov, 2019). El número de eventos cerebrovasculares, su localización y el área cerebral afectada determinará el grado de afectación del paciente (Vinters, H. 2000). Mientras en las primeras fases de la enfermedad de Alzheimer se ve afectada la memoria, en la demencia vascular se ve afectada la habilidad de tomar decisiones y la capacidad de organización. En etapas más avanzadas de la enfermedad se ven afectadas la coordinación, la marcha y el equilibrio (Erkinjuntti, T. 1999).

**1.1.1.3. Demencia mixta:** se caracteriza por la coexistencia de patología de EA y de otros tipos de demencia, especialmente la demencia vascular. Otras demencias mixtas con menos prevalencia es la EA con la demencia con cuerpos de Lewi o la triple combinación de EA, demencia vascular y demencia con cuerpos de Lewi. Las lesiones vasculares pueden potenciar la patología de la enfermedad de Alzheimer (Thal, D. 2003). Alrededor de un 50% de los casos de demencia en población muy anciana está provocada por más de un tipo de demencia (Schneider, J.2009a). El riesgo de sufrir demencia mixta se incrementa con la edad, y es mayor en enfermos con demencia mayores de 85 años (Schneider, J. 2007). Alrededor de un

30% de los enfermos diagnosticados de EA no sufren una forma pura de EA, sino demencias mixtas (Perl, D. 2000).

**1.1.1.4 Demencia con cuerpos de Lewy:** suponen un 10% del total de casos de demencia. Comparte algunos de los síntomas de la enfermedad de Alzheimer, sus síntomas más frecuentes son el parkinsonismo, alteraciones del sueño, alucinaciones, no siempre conlleva pérdida de memoria. Entre los hallazgos patológicos tenemos los cuerpos de Lewi y las placas de  $\beta$ A, pero escasos ovillos neurofibrilares (McKeith, I. 2008).

**1.1.1.5 Demencia frontotemporal:** suponen el 10% de las demencias totales. Es un síndrome caracterizado por una degeneración o atrofia cortical selectiva de los lóbulos frontales y de la parte anterior de los lóbulos temporales, causados por procesos neurodegenerativos (Hodges, J. 1995). Se caracteriza por un trastorno de conducta y por afectación en el habla, pero no afecta a la memoria. Se manifiesta a edades más tempranas que otras demencias (Seelaar, H. 2010).

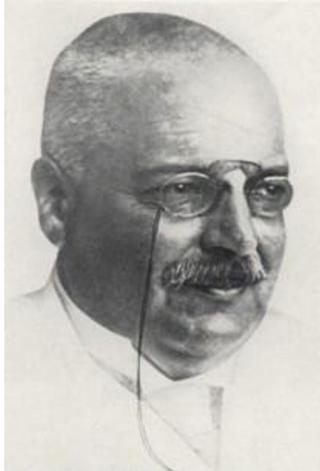
**1.1.1.6 Demencia de la enfermedad de Parkinson:** problemas neuromusculares como lentitud, rigidez o temblor son comunes en este tipo de demencia. Esta enfermedad cursa con acumulación de  $\beta$ A, ovillos de TAU y cuerpos de Lewi.

**1.1.1.7 Otros tipos de demencia:** encontramos otras demencias como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la demencia de la enfermedad de Huntington, el síndrome de Wernicke-Korsakoff o las demencias por leucodistrofia.

# INTRODUCCIÓN

## 1.2 Enfermedad de Alzheimer

### 1.2.1 Un residente en el Hospital para Enfermos Mentales y Epilépticos de Frankfurt



Alois Alzheimer nace el 14 de junio de 1864 en la población alemana de Marktbreit-am-Main. Hijo de un notario y la segunda de sus tres esposas, crece en un ambiente católico siendo el séptimo de ocho hermanos (Pérez-Trullén, J. 2003).

Inicia sus estudios en 1870 en la Escuela Elemental Católica de Marktbeit, para continuarlos después en el Instituto Real Humanístico de Aschaffenburg, donde se gradúa en 1883. En 1883 comienza la carrera de medicina en la Universidad de Eberhard-Karl de Tubinga hasta marzo de 1884 cuando se traslada a la Universidad Julius-Maximilian de Würzburg, en la que se licencia y defiende su tesis sobre las glándulas ceruminosas del oído, obteniendo *summa cum laude* en el examen estatal para la Habilitación Médica (Maurer, K. 2013).

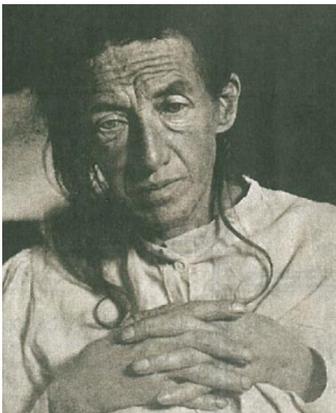
Existen aspectos negativos en su biografía como la apología que realiza de *la Gran Guerra* “la guerra puede resultarles de provecho pues estimula la voluntad, la valentía y el espíritu emprendedor del género humano [...]”, de ahí que se convierta en miembro de la Sociedad Alemana de Higiene Racial, entidad de la que saldrán importantes asesores de Política Racial del Ministerio del Interior del Reich (Maurer, K. 2013).

El Dr. Alzheimer es clínico, docente e investigador. En las tres áreas realiza aportaciones significativas. Como clínico, a pie de cama, sus entrevistas y valoraciones a cientos de enfermos, dan lugar a gran cantidad de publicaciones.

Como docente, forma a neurólogos tan reputados como Gaetano Perusini, Frederic Henry Lewy, descubridor de los cuerpos de Lewy, Hans-Gerhard Creutzfeldt y Alfons Maria Jakob, codescubridores de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Gonzalo Rodríguez Lafora o Nicolás Achúcarro. Como investigador Alois Alzheimer contribuye al estudio de otras demencias degenerativas primarias, como son la enfermedad de Pick y la enfermedad de cuerpos de Lewy. El epónimo Alzheimer no solo describe una enfermedad; la esclerosis de Alzheimer, los métodos de tinción de Alzheimer, las células en bastón de Alzheimer o los astrocitos tipo I y II de Alzheimer también reciben el nombre del neurólogo alemán (Pérez-Trullén, J. 2003).

En el año 1901, solo un mes después del nacimiento de su tercer hijo, fallece la esposa del Dr. Alois Alzheimer. Para superar el dolor, el Dr. Alzheimer se vuelca en su trabajo. Visita a todos los pacientes recién ingresados, elaborando una historia clínica extensa y detallada de cada uno de ellos (Hanns Hippus, G. 2003). En ese momento nada hace pensar, que uno de estos informes hará inmortal el legado del Dr. Alzheimer.

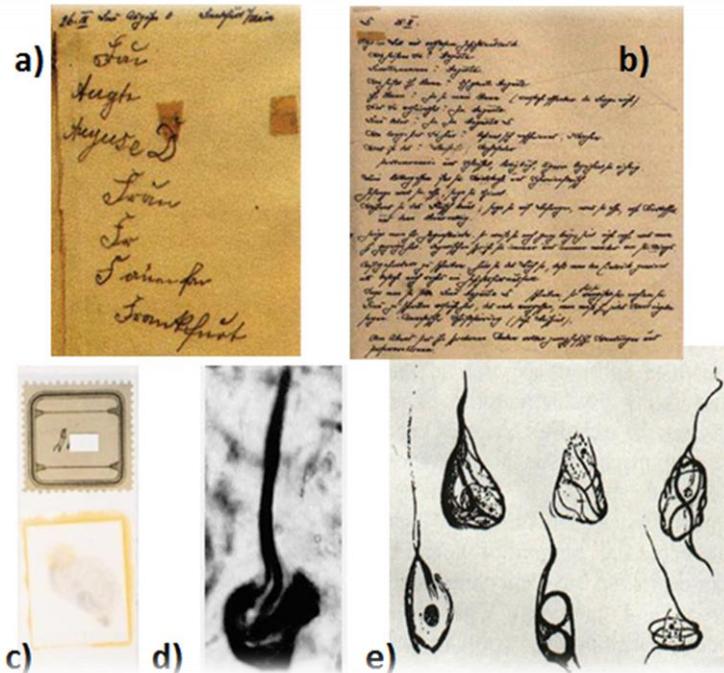
### **1.2.2 Auguste D., la paciente cero**



Auguste Deter, un ama de casa de 51 años, ingresa el 25 de noviembre de 1901 en el Hospital para Enfermos Mentales y Epilépticos de Frankfurt, convirtiéndose en paciente del Dr. Alzheimer. Esta mujer presenta desorientación, afasia, alucinaciones, pérdida de memoria y cambio de personalidad. A pesar de ser diagnosticada de demencia, este caso llama poderosamente la atención del doctor, por la particularidad del cuadro clínico. La paciente con el

## INTRODUCCIÓN

tiempo empeora hasta su muerte en 1905. En esa época, A. Alzheimer trabaja en la Royal Psychiatric Clinic de Munich bajo la dirección del Dr. Emil Kraepelin. La dirección del Hospital de Frankfurt hace llegar al Dr. Alzheimer toda la documentación relacionada con la paciente, además de muestras de tejido cerebral de la paciente (fig. 1.1).



**Figura 1.1. Documentos, notas y muestras de tejido con relación al caso de la paciente Auguste Deter, del Hospital para Enfermos Mentales y Epilépticos de Frankfurt.** 1a) El Dr. Alzheimer pide a Auguste Deter que escriba su nombre. La paciente no solo olvida las instrucciones del Dr. Alzheimer de escribir su nombre, cuando recuerda lo que el doctor le ha pedido, olvida su nombre, su apellido e incluso en qué ciudad vive. El Dr. Alzheimer lo describe como “trastorno de escritura amnésica”. 1b) Notas tomadas por el Dr. Alzheimer sobre la paciente August Deter. 1c) Sección de tejido cerebral teñido con Nissel de Auguste Deter. 1d) Tejido cerebral teñido de Bielschowsky de Auguste Deter. 1e) Diagrama de los ovillos neurofibrilares dibujados por A. Alzheimer.

## INTRODUCCIÓN

Meses después del análisis de la paciente Auguste D., en un congreso en la ciudad universitaria de Tubinga, el Dr. Alzheimer presenta el caso en el *37<sup>o</sup> meeting de Psiquiatras del Sudeste de Alemania* (Möller, H. 1998). En 1910, Kraepelin, el jefe del Dr. Alzheimer en Munich, acuña el nuevo nombre de la enfermedad (enfermedad de Alzheimer) en la octava edición de su libro *Psychiatrie*. Irónicamente, Alzheimer no es el primer galeno en describir estos síntomas, Oskar Fischer, Francesco Bonfiglio y Graetano Perusini describieron esta enfermedad anteriormente. El Dr. Alzheimer es el primer sorprendido de la decisión de su mentor, es más, nunca defiende que lo que él descubre sea una enfermedad con derecho propio (Mora Teruel, F. 2002), ya que en la convención de Tubinga él pretende presentar un caso de "*senium praecox*". Se especula que el Dr. Kraepelin atribuye la novedad del descubrimiento a su pupilo para aumentar el prestigio de su institución y asegurar la continuidad de las becas de investigación de su clínica (Costandi, M. 2019).

En 1995, las notas del Dr. Alzheimer son descubiertas en la Universidad de Frankfurt mientras que las preparaciones histopatológicas de Auguste Deter y otros pacientes posteriores aparecen en el Instituto de Neuropatología de Munich (Graeber, M. 1999). La revisión de este material hace justicia al Dr. Alzheimer y restituye el buen nombre del investigador como merecedor de dar nombre a la enfermedad. A. Alzheimer describe que en el paciente Josef F. de Munich solo encuentra placas seniles, mientras el resto de pacientes tienen placas seniles y ovillos neurofibrilares. El conflicto de si se trata o no de la misma enfermedad ronda la cabeza del investigador. El descubrimiento en los años 90 del pasado siglo de este material por parte de Maurer y Graeber, aprovechando las modernas técnicas histoquímicas de su tiempo, lleva a la conclusión de que la contradicción hallada por A. Alzheimer sobre la presencia o no de ovillos neurofibrilares se debe

## INTRODUCCIÓN

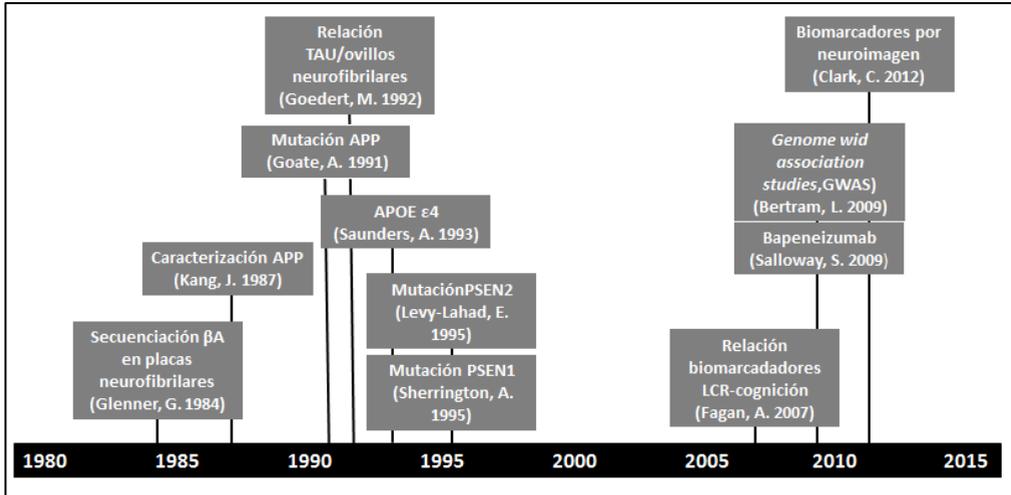
a diferentes fases de la misma enfermedad (Möller, H. 1998). Alzheimer se convierte en el primer investigador en describir una etapa importante del desarrollo de la enfermedad asociada a su nombre (Hanns Hippus, G. 2003).

En 1912, siendo catedrático de Neurología Y Psiquiatría de la Universidad Friedrich-Wilhelm en Breslau y director de Hospital Clínico de dicha ciudad sufre una bacteriemia que le provoca endocarditis e insuficiencia cardiaca, ocasionándole un progresivo deterioro de salud que le lleva a la reducción de su actividad profesional. Fallece en Breslau el 19 de diciembre de 1915, a consecuencia de un fracaso cardiaco y renal (Devi, G. 1999).

### **1.2.3 Luces y sombras de un siglo de investigación en EA**

El siglo XX viene marcado por dos grandes guerras, un periodo de entreguerras caracterizado por la reconstrucción física, económica y social de la vieja Europa y el nuevo mundo, la división en dos bloques antagonistas que condiciona no solo el mapa geopolítico del mundo, sino también otros muchos ámbitos de la vida, incluido el científico. Los avances tecnológicos aparecidos en el último tramo de siglo y el abanico de posibilidades que abren, el desarrollo de la microscopía electrónica, los avances en genética o la aparición de las terapias dirigidas marcan un periodo prolijo en investigación, abriendo una puerta a la esperanza en los avances científicos en EA. En los años 70 y 80 del siglo XX, la EA pasa de ámbitos científicos a la opinión pública, el aumento de la esperanza de vida y la aparición del “estado del bienestar” consiguen que la EA acapare la atención de los medios de comunicación y la ciudadanía en general (Zimmermann, M. 2017). En Estados Unidos se funda en 1974 el *National Institute on Aging* (NIA) y en 1979 la *Alzheimer Diseased and Related Disorders Association*, germen de la actual *Alzheimer’s Association* (AA). En 1984 se crea la *Alzheimer’s Disease International*

(ADI), formada por asociaciones de Australia, Canada, Reino Unido y Estados Unidos. Durante 1986 se unen Francia, Alemania e Italia. España se une a la asociación en 1993 (Boller, F. 1998).



**Figura 1.2. Hechos más destacados en la investigación en EA desde 1980 hasta la actualidad**

Los hechos más destacados que marcan la investigación en enfermedad de Alzheimer desde la descripción de la enfermedad por el Dr. Alzheimer (**fig. 1.2**) son la purificación de  $\beta$ A en placas (Glenner, G. 1984), la caracterización de la proteína precursora de amiloide (APP) (Kang, J. 1987), el descubrimiento de los tres genes cuya mutación provoca EA familiar: APP (Goate, A. 1991), PSEN1 (Sherrington, R. 1995) y PSEN2 (Levy-Lahad, E. 1995) o el descubrimiento de la apolipoproteína (ApoE)  $\epsilon$ 4 (Saunders, A. 1993). Ya en este siglo, cobra especial importancia el desarrollo de los biomarcadores en LCR (Fagan, A. 2007) y la neuroimagen (Clark, C. 2012), así como el desarrollo de nuevos fármacos, como el primer anticuerpo

## INTRODUCCIÓN

monoclonal, bapineuzumab (Salloway, S. 2009) o los estudios genómicos GWAS (Bertram, L. 2009).

### **1.3. Tipos de enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer puede dividirse en dos tipos según su etiología, temprana (también denominada familiar) y tardía (también llamada esporádica).

**1.3.1. EA temprana o familiar:** es una enfermedad autosómica dominante, es decir, un solo alelo puede causar la enfermedad. Suele aparecer alrededor de los 50 años y se debe a mutaciones genéticas en la proteína precursora del amiloide (APP) (Goate, A. 1991), la presenelina-1 (PSEN1) (Sherrington, R. 1995) y la presenelina-2 (PSEN2) (Levy-Lahad, E. 1995) (**tabla 1.1**). Veremos más adelante este tipo de mutaciones en el capítulo 1.9 (*Factores de riesgo de EA*).

Gen	Cromosoma	Proporción	Edad de inicio (media +/- DE)	Referencia
APP	21q21	10-15%	49 ± 7 años	(Goate, A. 1991)
PSEN1	14q24.3	20-70%	44 ± 8 años	(Sherrington, R. 1995)
PSEN2	1q31-q42	<1%	59 ± 7 años	(Levy-Lahad, E. 1995)

**Tabla 1.1. Genética de las formas de enfermedad de Alzheimer familiar** (Adaptado de Setó-Salvia, N. 2010). Las mutaciones en el gen PSEN1, presente en el cromosoma 14 representan la mayoría de los casos de EA familiar. La mutación APP se presenta en una baja proporción (10-15% de los casos de EA familiar, mientras la mutación PSEN2 es muy rara (<1%).

La EA temprana representa el 5% de los casos totales de EA (Campion, D. 1999) afectando más a hombres que a mujeres (Lautenschlager, N. 1996). El estudio *Mirage* estima que la probabilidad de un individuo con un familiar de primer grado enfermo de Alzheimer es dos veces superior al de la población que no tiene familiares de primer grado enfermos (Lautenschlager, N. 1996).

**1.3.2. EA esporádica o tardía:** es la más frecuente, tiene un origen multifactorial y suele aparecer entre los 60 y 65 años. El 95% de los casos totales de EA son de tipo esporádico (Campion, D. 1999). El principal riesgo genético para la aparición de la EA esporádica es ser portador de uno o dos alelos ApoE  $\epsilon$ 4 (Corder, E. 1993).

### **1.4 Clínica de la enfermedad de Alzheimer**

Se suele asociar la EA con la pérdida de memoria, pero existen otros muchos síntomas que definen la enfermedad. Uno de los primeros síntomas que encontramos es la pérdida de memoria, muchas veces achacada a la edad. Al principio, la memoria a corto plazo es la primera afectada, pero con el curso de la enfermedad también se ve afectada la memoria a largo plazo (Bennett, D. 1997).

Los problemas con el lenguaje aparecen en fases posteriores (Orange, J. 1994). Estos incluyen el síndrome de afasia progresiva logopénica (Alladi, S. 2007), se caracteriza por la dificultad del paciente de nombrar los objetos. Además el paciente hace repetidas pausas al hablar ya que no encuentra las palabras con las que desea expresarse (anomia). Esta dificultad en el lenguaje agrava la incomunicación del paciente con su entorno.

## INTRODUCCIÓN

Otras habilidades cognitivas también se ven afectadas, se pierde la capacidad de concentración y también se ve afectada la orientación, tanto la espacial como la temporal. Las actividades más complejas, aquellas que precisen de planificación o que requieran de una toma de decisiones se ven afectadas, hasta llegar a un punto de deterioro de demencia incapacitante, donde el paciente ya es completamente dependiente de su cuidador.

En las primeras fases de la enfermedad aparecen los síntomas neuropsiquiátricos (en inglés, *neuropsychiatric symptoms*, NPS). Los pacientes enfermos de Alzheimer presentan una gran variedad de síntomas neuropsiquiátricos unidos al deterioro cognitivo. Un 98% de pacientes con EA han sufrido al menos uno de estos trastornos neuropsiquiátricos, los más comunes son depresión, apatía y ansiedad (Steinberg, M. 2008). Estos síntomas tienden a empeorar con el curso de la enfermedad. Los NPS tienen un alto impacto tanto en el paciente como en el cuidador, y van a ser una herramienta para la predicción de la demencia en las fases más tempranas de la enfermedad (Peters, M. 2013), además de ser un factor de riesgo de una neurodegeneración más rápida, pérdida de independencia, institucionalización y mortalidad más temprana (Zahodne, L. 2015). Los NPS más comunes son la depresión, apatía, agresión, agitación, psicosis y las alteraciones del sueño.

En la EA es común la presencia de cuadros depresivos. Como comprobaremos más extensamente en el capítulo **1.9.3.6**, no sabemos si la depresión es un síntoma de la EA o es un factor de riesgo para la aparición de la EA. La dificultad del paciente de Alzheimer por seguir con rutinas de su vida diaria o por relacionarse con las personas de su ambiente tal y como hacía antes de la aparición de la enfermedad, además de ser conscientes de sufrir una enfermedad tan limitante para él mismo y su familia, provoca una angustia y un cuadro depresivo que agrava los síntomas de

la EA. Por otra parte, también se ha demostrado que la depresión es un cuadro clínico que aparece por la neurodegeneración. Se asocia a varios mecanismos patológicos, por una parte la disfunción de la transmisión serotoninérgica (Holmes, C. 2003), la acumulación de  $\beta A$  y el daño producido por este (Namekawa, Y. 2013), una hipoperfusión en el lóbulo frontal derecho (Kataoka, K. 2010) y la presencia del alelo ApoE4 (Peskind, E. 2001).

La apatía es un factor predictivo de un deterioro cognitivo más rápido y suele presentar comorbilidad con la depresión. En un estudio donde se relacionaban ambos factores, los resultados daban un 48% de pacientes con depresión, un 42% de pacientes con apatía y un 32% presentaban ambos síntomas. Esto sugería que ambos presentaban una etiología común (Benoit, M. 2012). En las fases intermedias de la enfermedad la depresión tiende a estabilizarse mientras la apatía tiende a incrementar (Gonfrier, S. 2011).

Otra comorbilidad neuropsiquiátrica que aparece (más comúnmente en hombres) es la agitación, esta implica angustia emocional, actividad psicomotriz excesiva, conductas agresivas, irritabilidad y desinhibición social. Es un síntoma muy común en enfermos de Alzheimer y se ha asociado con deterioro cognitivo y pérdida de independencia del paciente, así como a una alta morbilidad y mortalidad (Antonsdottir, I. 2015). La etiología de la enfermedad está en la transmisión serotoninérgica (Sukonick, D. 2001), en la acumulación de  $\beta A$ , en la hiperfosforilación de TAU (Porsteinsson, A. 2017) y en la presencia del alelo ApoE 4 (Chen, C. 2012).

La psicosis es el síntoma neuropsiquiátrico más grave de la EA y el que aparece más tarde (Devanand, D. 1999). La psicosis predice un curso de la enfermedad más

## INTRODUCCIÓN

rápido, una mayor neurodegeneración (DeMichele-Sweet. 2011), además de una tasa de mortalidad más elevada (Gilley, D. 2004).

En las fases más tardías de la enfermedad se dan alteraciones del apetito y el sueño. La hiposmia (reducción del sentido del olfato) y la anosmia (pérdida total del sentido del olfato) son disfunciones olfativas presentes en el 90% de los casos de enfermedad de Alzheimer (Arnold, S. 2009).

El tratamiento farmacológico como otro tipo de intervenciones tiene un impacto positivo tanto en el paciente como en el cuidador. En cuanto a las terapias farmacológicas, la depresión suele tratarse con fármacos antidepresivos, sobretodo inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, mejorando también la ansiedad, irritabilidad y otros síntomas que pueden acompañar a la depresión (Song, F. 1993; Sepehry, A. 2012). La agitación suele ser tratada con neurolépticos como quetiapina, olanzapina o risperidona, pero también con brexpripazol, antagonista serotoninérgico aprobado por la FDA en esquizofrenia y en ensayos clínicos para disminuir los síntomas de agitación en EA (Alzforum.org. 2019). Es importante conocer que los antipsicóticos pueden producir en pacientes muy ancianos reacciones adversas no deseadas como riesgo cardiovascular y muerte (Schneeweiss, S. 2007). Recientes investigaciones han relacionado los fármacos antipsicóticos con el síndrome metabólico, que no solo aumentará el riesgo cardiovascular y el riesgo de muerte, sino que además, tal y como veremos en el apartado 1.9 es un factor de riesgo para la EA (Maust, D. 2015).

Podemos ver en la **figura 1.3** un resumen de los síntomas neuropsicológicos asociados a la enfermedad de Alzheimer y los posibles mecanismos que los provocan.

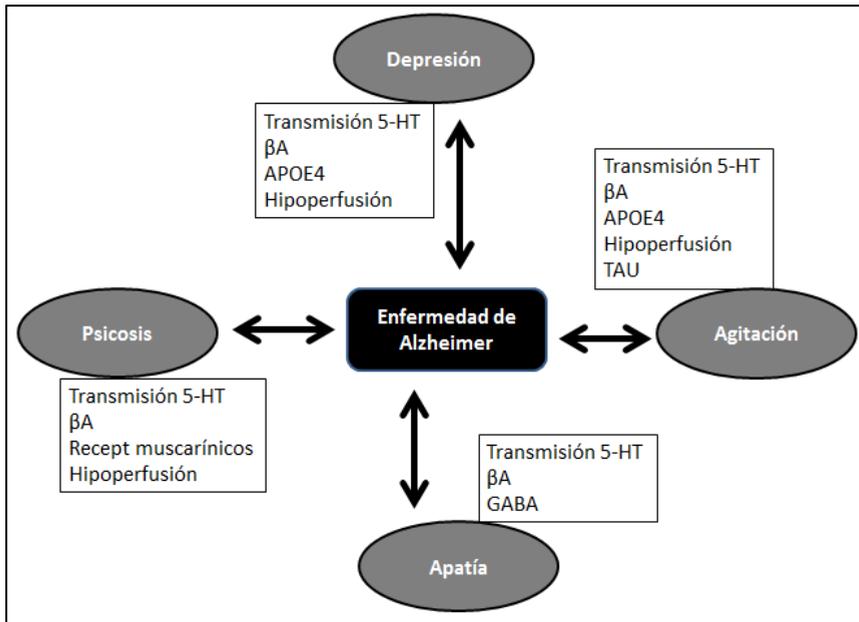


Figura 1.3. Posibles mecanismos asociados a los síntomas neuropsicológicos de la enfermedad de Alzheimer (Adaptado de Li, X. 2014).

## 1.5 Causas de la enfermedad de Alzheimer

No se conocen las causas que originan la EA, a continuación exponemos algunas teorías:

**1.5.1 Hipótesis del aluminio:** este metal ha sido repetidamente implicado en la patogénesis de la enfermedad. En las placas seniles y ovillos se ha demostrado su presencia (Crapper, D.R. 1973). A pesar de que esta teoría goza de una dudosa reputación y ha sido prácticamente desterrada de la mayoría de círculos científicos (Lidsky, T. 2014), se han realizado recientes estudios con deferasirox, agente quelante del aluminio y otros metales como el hierro (Kamalinia, G. 2013).

## INTRODUCCIÓN

**1.5.2. Hipótesis de acetilcolina:** Una de las teorías descritas para el origen de la EA es la “*hipótesis del déficit colinérgico*”. Según esta teoría, la pérdida de neuronas colinérgicas conllevaría déficits de la memoria y dificultad en el aprendizaje (Bartus, R. 1982). En el área terapéutica, tal y como veremos en el apartado 1.13 *Tratamiento de la enfermedad de Alzheimer*, esta teoría ha sido la más desarrollada, y casi todos los fármacos comercializados a día de hoy con la indicación de enfermedad de Alzheimer son fármacos inhibidores de acetilcolinesterasa.

**1.5.3. Hipótesis del péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A):** Encontramos lesiones extraneuronales que son agregados de  $\beta$ A, aunque también contienen aluminio y otros metales pesados (Crapper, D. 1973), tal y como apuntábamos en la *Teoría del Aluminio*. El  $\beta$ A es un péptido que puede tener de 39 a 42 aminoácidos. El  $\beta$ A de 42 residuos es el que se acumula en cerebro formando placas seniles. La forma de 40 aminoácidos es más soluble, por tanto, pasará más fácilmente a los vasos sanguíneos. El  $\beta$ A se forma a partir de la escisión del APP (proteína precursora de amiloide) (**fig. 1.4**). El APP puede escindirse de dos maneras; la forma fisiológica, la enzima  $\alpha$ -secretasa rompe la APP en dos fragmentos no tóxicos, y también puede escindirse por la acción de la  *$\beta$ -Amyloid precursor protein Cleavage Enzyme* (BACE), dando lugar a los péptidos  $\beta$ A40 y  $\beta$ A42, desencadenando una serie de procesos patológicos que conocemos como *cascada amiloidea* (**fig. 1.4**).

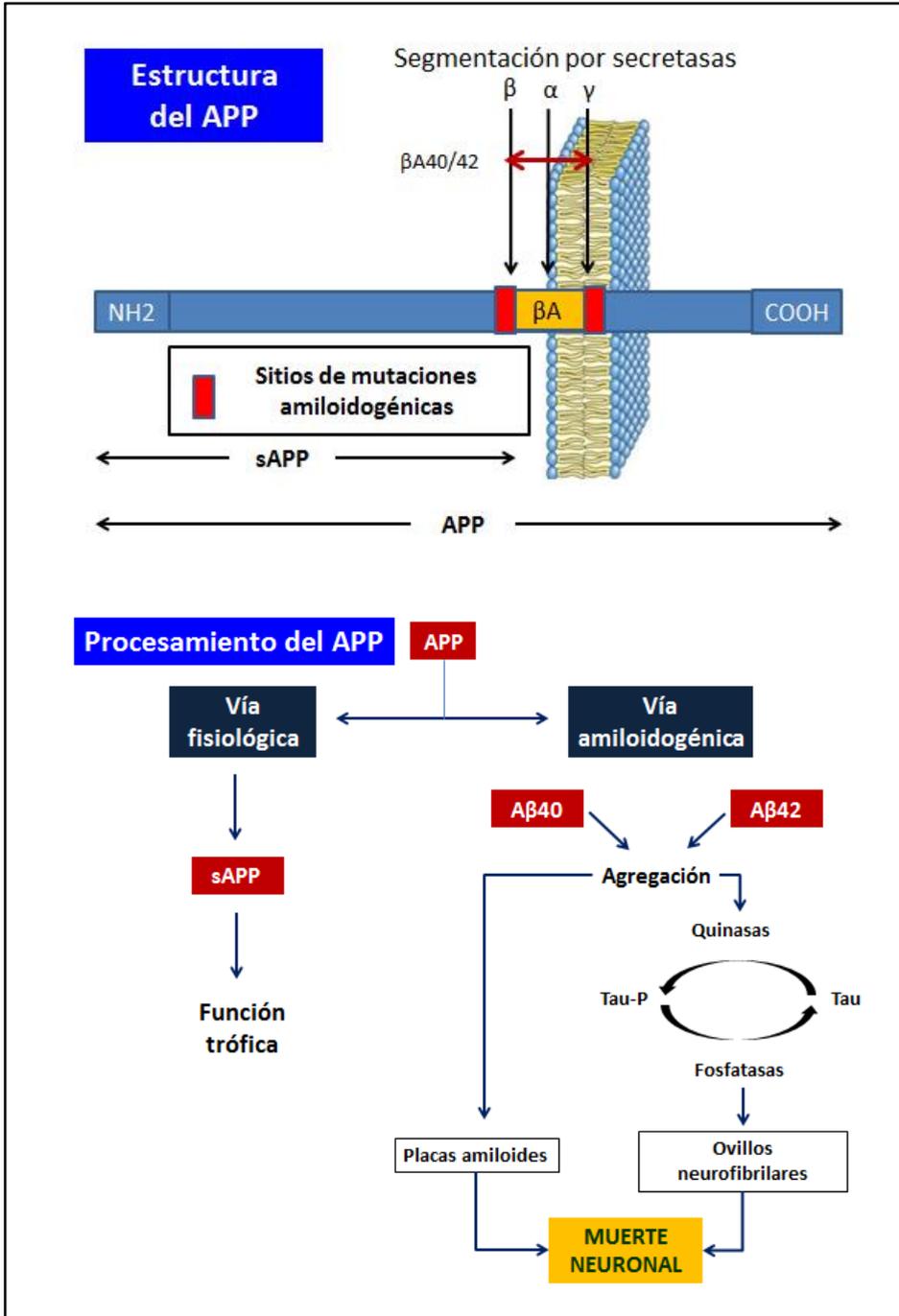


Figura 1.4. Hipótesis de la cascada amiloidea. (Adaptado de Walsh, D. 1999)

## INTRODUCCIÓN

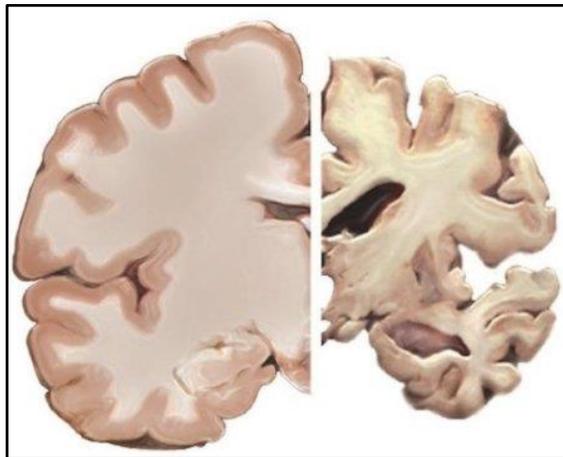
**1.5.4. Teoría de la hiperfosforilación de TAU:** el segundo tipo de lesiones que encontramos en EA son los ovillos neurofibrilares intraneuronales (NFT). TAU es una proteína que participa en el mantenimiento de la estructura de los microtúbulos. Para su buen funcionamiento, TAU debe estar fosforilada. Si se hiperfosforila, forma los ovillos neurofibrilares y pierde su funcionalidad (Goedert, M. 1992). La estructura de los microtúbulos se pierde y se produce la muerte celular. Los mecanismos moleculares que podrían estar implicados en la hiperfosforilación de TAU son la acción de la Glucógeno sintasa kinasa 3 (GSK3) (Asuni, A.A. 2006), el déficit de acetilcolina (Hoshi, M. 1996) o la acción de la calcineurina (RCAN1) (Kingsbury, T.J. 2000).

No se conoce con certeza la fisiopatología de la EA, si la hiperfosforilación es la causa que conduce a los depósitos de  $\beta$ A, o si por el contrario estos agregados de  $\beta$ A provocan la hiperfosforilación de TAU. Lo bien cierto, es que todos estos mecanismos que aún no somos capaces de encajar, provocan muerte neuronal, y con ello, demencia. Además, todos ellos tienen en común la producción de radicales libres, que provocarán estrés oxidativo. Esto nos lleva a la última hipótesis que veremos en este apartado:

**1.5.5. Teoría del estrés oxidativo:** Definimos estrés oxidativo como alteración del equilibrio entre las especies prooxidantes y las antioxidantes a favor de las primeras (Sies, H. 1986).  $\beta$ A y TAU serían, según esta teoría, las moléculas que generarían estrés oxidativo, el cual agravaría la enfermedad de Alzheimer (Perry, G. 1998).

### **1.6. Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer**

A pesar de que el envejecimiento puede provocar una disminución no muy significativa del tamaño del cerebro, sí se observa una disminución significativa del tamaño craneal en pacientes afectados por enfermedad de Alzheimer (Newberg, A. 1996). El cerebro de pacientes con EA suele presentar una atrofia generalmente asimétrica con una disminución de las circunvoluciones cerebrales (**fig. 1.5**) Aunque el lóbulo temporal normalmente es el más afectado también se ven implicados los lóbulos frontales, parietales y occipitales (Janke, A. 2001; Thompson, P. 2003).



**Figura 1.5** Diferencia entre cerebro sano (izquierda) y cerebro con enfermedad de Alzheimer (derecha). Además de la diferencia de tamaño se puede apreciar la atrofia y la disminución de las circunvoluciones cerebrales. (Fuente: ScienceDaily. 2018).

#### **1.6.1 Péptido Beta Amiloide y placas amiloides**

Beta Amiloide ( $\beta$ A) es un péptido que tiene entre 39 y 42 aminoácidos. Tiene un peso aproximado de 4 kDa. Su función no es totalmente conocida, pero se piensa que puede intervenir en el control de la actividad sináptica (Kamenetz, F. 2003),

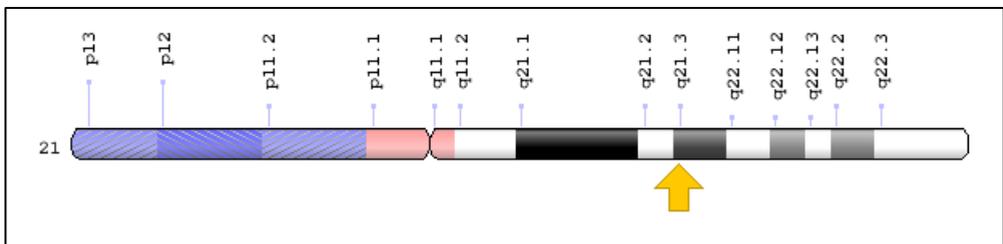
# INTRODUCCIÓN

regulación de membranas basales a través de los canales de potasio y calcio (Plant, L. 2003), la maduración del sistema nervioso central y la plasticidad sináptica (Pearson, H. 2006), tiene función neuroprotectora (Soucek, T. 2003) y además participa en la regulación de los diferentes productos de degradación de APP que a su vez tienen otras funciones que veremos más adelante.

El péptido  $\beta$ A fue secuenciado y reconocido como marcador de la EA por primera vez en 1984 (Glennner, G. 1984) abriendo un nuevo camino en la investigación contra la enfermedad de Alzheimer, si se podía frenar la producción de BA también se podría frenar la enfermedad.

## 1.6.1.1 Producción de $\beta$ A

1.6.1.1.1 Proteína precursora amiloidea (APP): El péptido  $\beta$ A proviene del metabolismo de la proteína precursora amiloidea. El gen de la APP (proteína precursora amiloidea) tiene su localización citogenética en 21q21.3, en el brazo largo del cromosoma 21 en la posición 21.3 (**fig. 1.6**) (Kang, J. 1987).



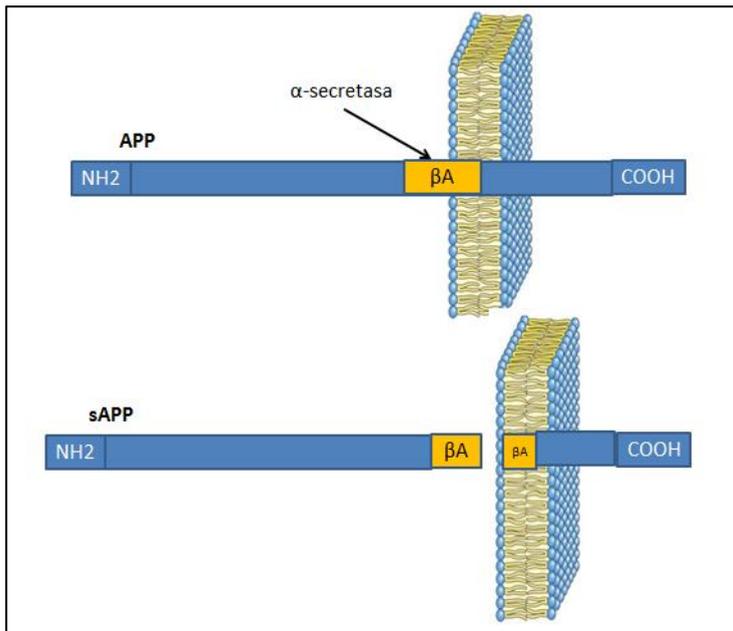
**Figura 1.6. Posición del gen de la APP en el brazo largo del cromosoma 21.** Fuente: [Genome Decoration Page/NCBI](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/decoration/) (Reference, G. 2019)

Este gen proporciona información para elaborar la proteína APP, la cual es una glicoproteína integral transmembrana tipo 1 de entre 110 y 130 kDa y es una de las proteínas más abundantes en el sistema nervioso central (Roberts, G. 1994). La

secuencia del péptido  $\beta A$  se encuentra mayoritariamente en el dominio extracelular y ocupando parcialmente el dominio transmembrana. APP se escinde para formar múltiples formas de  $\beta A$ , pero los más numerosos en cerebro son los que poseen 40 y 42 aminoácidos ( $\beta A_{40}$  y  $\beta A_{42}$ ). La escisión de APP se realiza a través de las secretasas, de forma fisiológica o amiloidogénica.

## Escisión de APP

a) Vía fisiológica: Por la vía fisiológica la  $\alpha$ -secretasa corta un fragmento del dominio extracelular de la APP (**fig. 1.7**), en los residuos 613-614 del extremo amino-terminal extracelular, liberando un fragmento N-terminal soluble (sAPP $\alpha$ ) y un fragmento C-terminal (C83), que se escinde aún más por la  $\gamma$ -secretasa para originar un fragmento C-terminal más pequeño de 3 kDa (C3) (Buxbaum, J. 1998).



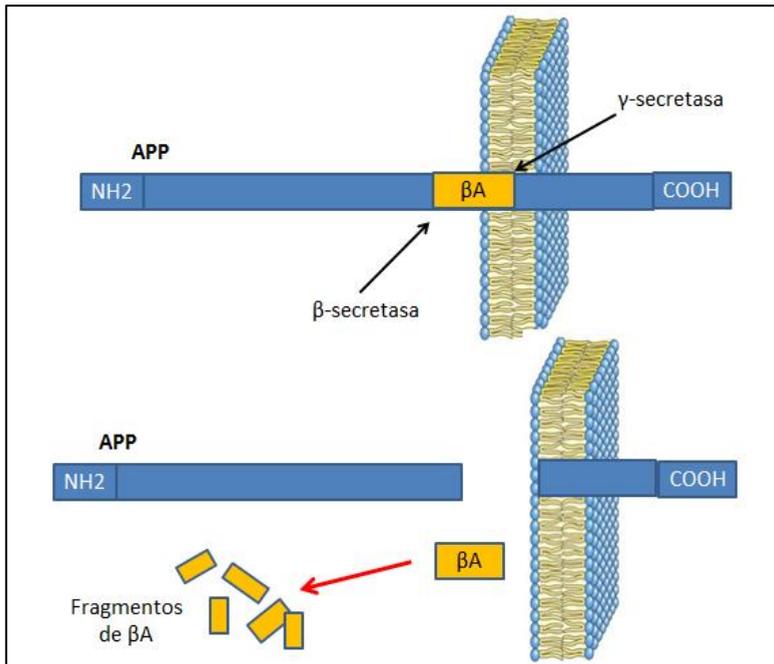
**Figura 1.7.** Vía fisiológica de la degradación de la proteína APP. (Adaptado de Harris, J. 2012).

## INTRODUCCIÓN

El sAPP tiene propiedades que promueven el crecimiento y puede jugar un papel en la formación de células nerviosas (neuronas) en el cerebro antes y después del nacimiento (Caille, I. 2004). El APP y sus productos de escisión pueden ser cumplir otras funciones como la neuroprotección, intervenir en la coagulación sanguínea, regulación de factores de transcripción de neprilisina o regulación de la homeostasis del potasio y el calcio (ver revisión en Pearson, H. 2006).

b) Vía amiloidogénica: La consecuencia de la vía amiloidogénica es la sobreproducción de  $\beta$ A por la interrupción de los procesos homeostáticos que regulan la escisión proteolítica de la proteína precursora de amiloide (APP). La edad, factores genéticos y ambientales contribuyen a un cambio metabólico favoreciendo la vía amiloidogénica en detrimento de la vía fisiológica. Los péptidos  $\beta$ A son generados por la división sucesiva de APP por beta-secretasas (BACE-1) y gamma-secretasas, que se ha caracterizado recientemente como parte del complejo de presenilina.

En el primer paso de la vía amiloidogénica (**fig. 1.8**), la secretasa *Beta-site APP Cleaving Enzyme* (BACE1) escinde la APP para generar un fragmento N-terminal soluble ( $\beta$ -sAPP) y un fragmento C-terminal unido a la membrana, C99. El fragmento C-terminal se escinde luego a través de su dominio transmembrana por el complejo de presenilina, generando así una serie de fragmentos proteolíticos que incluyen péptidos  $\beta$ A liberados en el lumen mientras el extremo dominio precursor (en inglés *amyloid precursor protein intracellular domain*, AICD) es liberado en el citosol (Wolfe, M. 2012).



**Figura 1.8. Vía amiloidogénica de la escisión de la proteína APP.** (Adaptado de Harris, J. 2012).

En la **figura 1.9** vemos las escisiones sufridas por APP paso a paso. La escisión  $\epsilon$  se produce en el residuo 49. Un segundo conjunto de escisiones ocurre en el residuo 46, denominado sitio de escisión  $\zeta$ , que produce  $\beta A_{46}$  más un pequeño fragmento C-terminal lábil. La escisión por las secretasas  $\gamma$  ocurre en los residuos 40 y 42. Dependiendo del lugar de corte y de la secretasa implicada se producen las diferentes formas de  $\beta A$ . Cada uno de los diferentes tipos de BA según su longitud tiene una propensión u otra a formar agregados y provocar neurotoxicidad. El  $\beta A$  de 42 residuos es el que se acumula en cerebro formando placas seniles. La forma de 40 aminoácidos es más soluble, por tanto, pasará más fácilmente a los vasos sanguíneos (Mucke, L. 2012).

# INTRODUCCIÓN

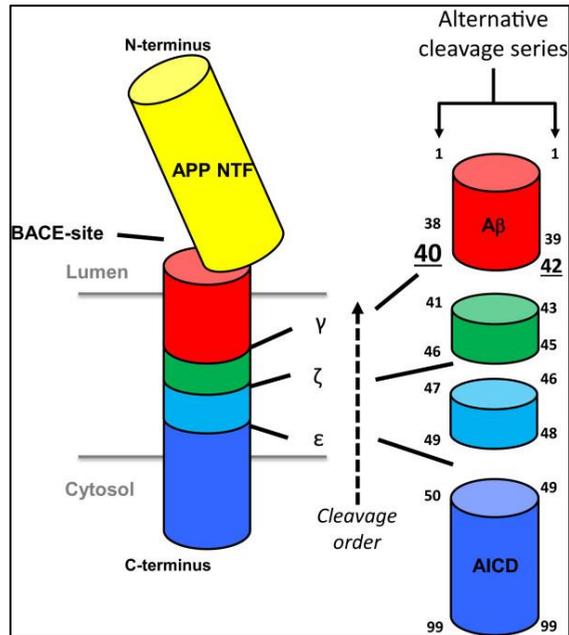


Figura 1.9. Escisiones en la molécula de APP que conducen a la formación de  $\beta$ A.  
(Fuente: Mucke, L. 2012)

La  $\gamma$ -secretasa, también llamada complejo de presenilina, está formada por las presenilinas, nicastrina, *anterior pharynx defective-1* (Aph1) y *presenilin enhancer-2* (PEN2) y tiene un papel fundamental en la EA familiar (fig. 1.10).

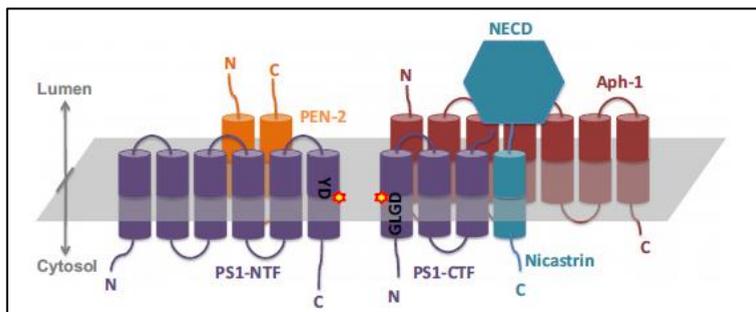


Figura 1.10 Complejo presenilina con sus cuatro componentes: presenilina, nicastrina, Aph1 y PEN-2. (Fuente: Li, Y. 2014)

PSEN1 en el cromosoma 14 (14q23.3) y PSEN2 en cromosoma 1 (1q31-42) son proteínas transmembrana susceptibles de sufrir mutaciones genéticas que predisponen para el tipo de enfermedad de Alzheimer que conocemos como familiar (Levy-Lahad, E. 1998). Mutaciones genéticas en PSEN1 y PSEN2 provocarán un aumento de la actividad de las  $\gamma$ -secretasas, provocando un aumento en la formación de  $\beta$ A. Las alteraciones en PSEN1 dan como resultado una alteración del balance  $\beta A_{42}/\beta A_{40}$ . Este coeficiente se ve alterado bien por el aumento de la producción de  $\beta A_{42}$  o bien por la disminución de la producción  $\beta A_{40}$  (Price, D. 1998). Esto provoca un inicio de la enfermedad más temprano y una progresión mayor del curso de la enfermedad que la EA esporádica. Aunque PSEN2 tiene unos efectos patológicos similares a PSEN1, tiene una incidencia mucho menor (Campion, D. 1999).

### **Formación de placas seniles**

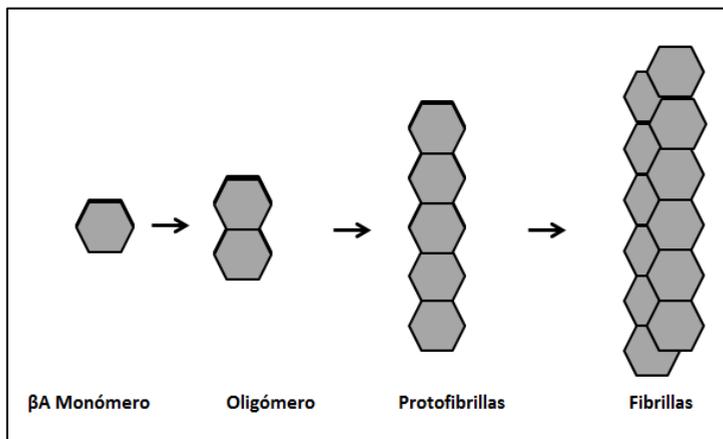
Una vez formado el  $\beta$ A en el cerebro, la siguiente condición para alcanzar la enfermedad sería la agregación de este en placas seniles o placas amiloides. Estas placas son agregados formados en los espacios interneuronales de la sustancia gris del cerebro. No sería enteramente correcto el nombre de placas amiloides porque además de agregados de  $\beta$ A, contienen otros muchos componentes como mucopolisacáridos, inmunoglobulinas, fibrinógeno, aluminio, metales pesados, etc. (Crapper, D. 1973).

Las placas seniles constan de un núcleo amorfo central de origen proteico (sobretudo origen amiloide) rodeado de neuritas y células gliales (Andreasen, N. 2002).

Pero, ¿cómo se forman estos agregados? El amiloide  $\beta$  puede existir en múltiples estados, monómeros, oligómeros, protofibrillas y fibrillas. (**fig. 1.11**). Como

## INTRODUCCIÓN

monómero,  $\beta A$  no es tóxico pero sus propiedades bioquímicas favorecen la agregación del mismo para formar oligómeros y protofibrillas no solubles. El plegamiento proteico parece ser el responsable de la insolubilización de las formas agregadas y por ende, de su toxicidad. La potenciación a largo plazo es una transmisión de señales sostenida entre dos neuronas que explica el aprendizaje y la formación de la memoria (Lynch, M. 2004). Los oligómeros y protofibrillas están considerados potentes bloqueantes de la potenciación a largo plazo (Walsh, D. 2002).



**Figura 1.11 Diferentes estados de  $\beta A$ :** monómeros, oligómeros, protofibrillas y fibrillas. (Adaptado de Walsh, D. 2002)

El aumento relativo de  $\beta A_{42}$  favorece la formación de oligómeros. Los depósitos en el parénquima cerebral van creciendo dando lugar a la formación de distintos tipos de placas:

- **Placas difusas** (no fibrilares o preamiloides). Estas placas difusas no contienen núcleo, solo algunas fibrillas. No tienen conformación en

lámina  $\beta$ . Son las más numerosas. Tienen forma no fibrilar y no poseen microglía, astrogliosis o neuritis difusas (Yamaguchi, H. 1991).

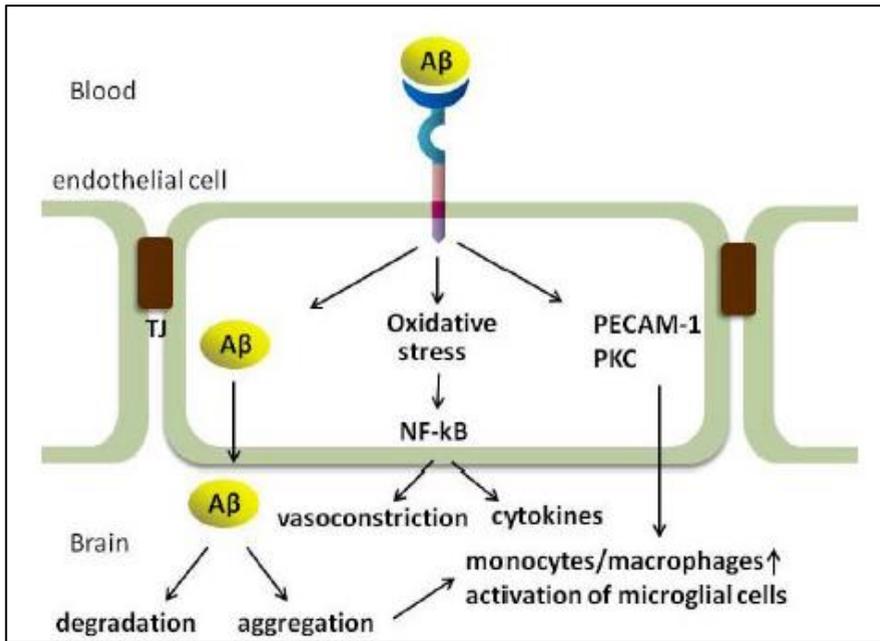
- **Placas neuríticas** (o maduras), las placas difusas siguen creciendo, adquiriendo el estado de fibrillas con conformación en lámina  $\beta$ . Estas láminas presentan axones y dendritas degeneradas situadas tanto dentro como alrededor del núcleo amiloide. En este momento se puede observar respuestas inflamatorias locales como microgliosis y astrocitosis. La microglía activa se sitúa dentro o alrededor del núcleo amiloide mientras que los astrocitos se sitúan solamente alrededor de este núcleo (Rossi, D. 2009).
- **Placas intermedias:** las placas pueden presentarse en infinitud de formas morfológicas, hemos descrito las dos formas más extremas pero existe una gran variabilidad de formas intermedias.

Pueden pasar años, incluso décadas desde la formación de estas placas hasta la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad de Alzheimer (Villemagne, V. 2013).

Como consecuencia de la acumulación de  $\beta$ A se produce daño neuronal, principalmente por la pérdida de sinapsis neuronal (Selkoe, D. 2002). Este es uno de los cambios más tempranos que se producen en la fisiopatología de la EA (Jack, C. 2010). La acumulación de  $\beta$ A también produce la disfunción del proteosoma, el complejo multiproteico encargado de la destrucción de proteínas defectuosas. La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la acumulación de agregados de proteínas. Existe evidencia de que el sistema ubiquitina-proteosoma (UPS) está alterado en EA (Keller, J. 2001). Otros procesos fisiopatológicos relacionados con la producción de  $\beta$ A, como la inflamación o el estrés oxidativo (Cardoso, S. 2004) serán estudiados más adelante en este capítulo.

## INTRODUCCIÓN

1.6.1.1.2 Entrada en el cerebro de  $\beta$ A a través de la barrera hematoencefálica (BHE) por los receptores RAGE: No todo el  $\beta$ A es generado dentro del cerebro. Una proporción significativa proviene de fuera del cerebro, principalmente de plaquetas y de vasos cerebrales, que pueden reabsorber  $\beta$ A a través del transportador RAGE (receptor para productos finales de glicosilación avanzado) y pasar al cerebro (Deane, R. 2003; Silverberg, G. 2003). Además, también va a existir una reabsorción del  $\beta$ A que LRP1 ha sido capaz de transportar desde el cerebro al torrente sanguíneo a través de la BHE (ver apartado 1.6.1.2.1 Eliminación a través de la BHE por el transportador LRP1). RAGE es un receptor transmembrana de la superfamilia de las inmunoglobulinas, que se localiza en el endotelio de los vasos cerebrales en la BHE. Este transportador pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Los AGEs, productos de glicosilación avanzada, son moléculas modificadas por glicosilación que han perdido sus propiedades originales y pueden formar depósitos tóxicos. RAGE es capaz de introducir  $\beta$ A desde la sangre al cerebro (**fig. 1.12**) aumentando de esta manera la toxicidad por  $\beta$ A, no solo en el acúmulo de este, sino también por aumento de estrés oxidativo y de la inflamación. Este transportador está aumentado en los modelos animales con EA y en pacientes enfermos de Alzheimer (Bierhaus, A. 2005).



**Figura 1.12.** Transporte de  $\beta A$  a través de BHE por transportador RAGE. (Fuente: Han, S. 2011)

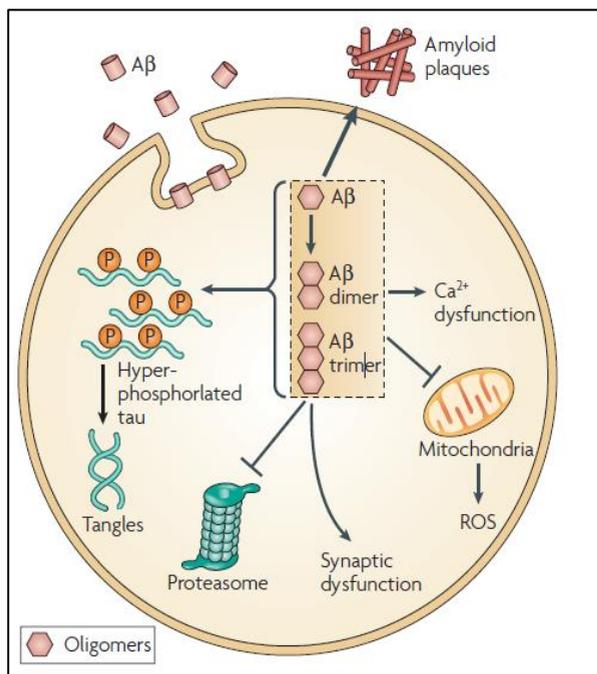
1.6.1.1.3  $\beta A$  intraneuronal: en 1993 aparecen las primeras evidencias de que hay  $\beta A$  intraneuronal (Wertkin, A. 1993). La presencia de este péptido puede darse de dos maneras, bien por la producción intraneuronal (Skovronsky, D. 1998) o por el transporte de  $\beta A$  desde el espacio extracelular (Ida, N. 1996). Tanto  $\beta A_{42}$  como  $\beta A_{40}$  son capaces de entrar desde el espacio extracelular, pero solo  $\beta A_{42}$  es capaz de acumularse dentro de la neurona, ya que  $\beta A_{40}$  por su solubilidad es eliminada en muy poco tiempo (Burdick, D. 1997).

Estudios *in vitro* demuestran que ya existe un acúmulo de  $\beta A$  intraneuronal previo a la formación de los agregados de BA extraneuronales en forma de prefibrillas. (Wirhth, O. 2004).

## INTRODUCCIÓN

Existen evidencias de que  $\beta$ A intracelular y extracelular están relacionados, la cantidad de  $\beta$ A intraneuronal disminuye cuando los depósitos de  $\beta$ A extraneuronal aumentan (Wirhth, O. 2001). Al aclaramiento de los depósitos extraneuronales de  $\beta$ A le sigue un aclaramiento de  $\beta$ A intraneuronal, lo que indica que existe un balance dinámico entre ambos (Oddo, S. 2006). Por tanto, existe secreción de  $\beta$ A intracelular que se acumulará en el espacio extracelular.

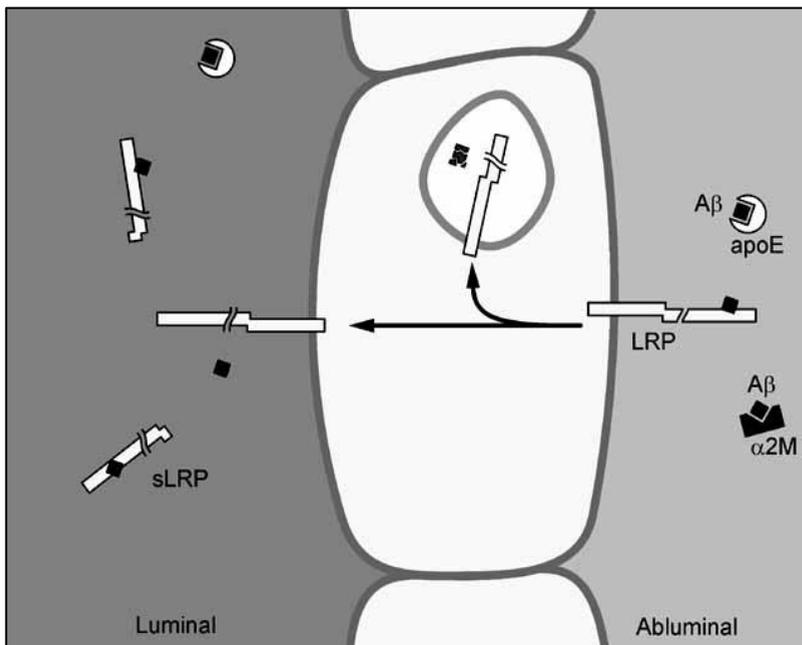
Son muchos los mecanismos de daño intraneuronal que provoca  $\beta$ A (fig. 1.13), por una parte produce una disfunción de la sinapsis (Billings, L. 2005), provoca un mal funcionamiento de la mitocondria, lo que se traduce en aumento de ROS y en estrés oxidativo neuronal (Gamba, P 2011).  $\beta$ A intracelular también inhibe el proteosoma (Gregori, L. 1995), ayuda a la hiperfosforilación de TAU (Tseng, B. 2008), induce la alteración de la homeostasis del calcio (Pierrot, N. 2004) y produce apoptosis (Laferla, F. 2007).



**Figura 1.13. Efectos neuropatológicos de  $\beta$ A intraneuronal** (Fuente: Laferla, F. 2007). Diferentes mecanismos activados por la oligomerización de  $\beta$ A provoca daño intraneuronal. Por una parte, la hiperfosforilación de TAU provoca la formación de ovillos neurofibrilares. Se inhibe la función del proteosoma, se produce una disrupción de la función mitocondrial que provoca un aumento del estrés oxidativo. Además se produce una disfunción en la homeostasis del calcio. Todos estos mecanismos conducen a la apoptosis neuronal. Existe un balance entre  $\beta$ A intraneuronal y extraneuronal, por lo tanto, todos estos mecanismos incrementan el depósito de  $\beta$ A extracelular.

**1.6.1.2 Aclaramiento de  $\beta$ A:** Bajo condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre la producción de  $\beta$ A y su eliminación del cerebro.

1.6.1.2.1 Eliminación a través de la BHE por el transportador LRP1: la proteína receptora de lipoproteínas de baja densidad es una glicoproteína transmembrana localizada en la BHE, en plexo coroideo e hígado (Moestrup, S. 1992). LRP1 está implicada en el transporte de una gran cantidad de sustancias, entre ellas  $\beta$ A y ApoE. (Trommsdorff, M. 1998). El transporte de  $\beta$ A (**fig. 1.14**) se produce desde el cerebro hasta el torrente sanguíneo a través de la BHE (Shibata, M. 2000). LRP1 se expresa en los capilares cerebrales y puede unirse a  $\beta$ A directamente o indirectamente a través de transportadores como  $\beta$ A-lactoferrina,  $\beta$ A- $\alpha$ M2 o  $\beta$ A-ApoE.



**Figura 1.14. Transporte del  $\beta$ A a través de la BHE mediado por LRP1.** (Fuente: Pietrzik, C. 2008)

## INTRODUCCIÓN

La circulación sistémica de  $\beta$ A acaba en hígado, donde LRP1 también es el transportador que media el paso de circulación sistémica-hígado (Tamaki, C. 2006). Una vez en hígado, el  $\beta$ A se degrada (Ghiso, J. 2004). El hígado es el principal responsable del metabolismo y excreción de sustancias tóxicas del organismo. La degradación del  $\beta$ A en hígado es muy rápida.

1.6.1.2.2 Degradación enzimática en el cerebro: diversas proteasas están relacionadas con la degradación de  $\beta$ A, por una parte, la enzima IDE (*Insulin degrading enzyme*) y la neprilisina están relacionadas con el aclaramiento de  $\beta$ A, mientras PreP (*presequence peptidase*) juega un rol importante en la degradación del  $\beta$ A mitocondrial (Nalivaeva, N. 2008).

La insulina puede cruzar la barrera hematoencefálica (BHE) y aumentar en ancianos los niveles de  $\beta$ A<sub>42</sub> en LCR (Watson, G. 2003). La enzima degradadora de insulina (IDE) es una proteasa presente en cerebro que ayuda al aclaramiento cerebral de  $\beta$ A (Qiu, W. 1998). La insulina que ha atravesado la BHE y el  $\beta$ A son dos sustratos competitivos para IDE (Farris, W. 2003).

Neprilisina es una enzima encargada de la degradación de algunos péptidos endógenos vasoactivos que ha demostrado aumento del aclaramiento de  $\beta$ A (Iwata, N. 2001). Debemos tener muy en cuenta esta hecho, ya que la neprilisina se ha convertido en un objetivo en los ensayos en cardiología para la indicación de insuficiencia cardiaca. Sacubitrilo/valsartán (Entresto®) es un inhibidor dual formado por valsartán, un inhibidor del receptor de la angiotensina II, y sacubitrilo, un inhibidor de la neprilisina. En el ensayo clínico PARADIGM de Novartis se detectaron casos de demencia por la inhibición de neprilisina (Cannon, J. 2016). El estudio PERSPECTIVE (en ambos estudios he tenido la oportunidad de

trabajar como farmacéutico de ensayos clínicos) pretende aclarar el efecto de sacubitrilo sobre la función cognitiva (Clinicaltrials.gov. 2019).

PreP es una proteasa que degrada péptidos ricos en residuos cargados positivamente, hidroxilados e hidrófobos evitando toxicidad mitocondrial. Además, también se ha demostrado que PreP degrada varias isoformas de  $\beta$ A presentes en las mitocondrias ( $\beta$ A<sub>40</sub> y  $\beta$ A<sub>42</sub>). (Falkevall, A. 2006).

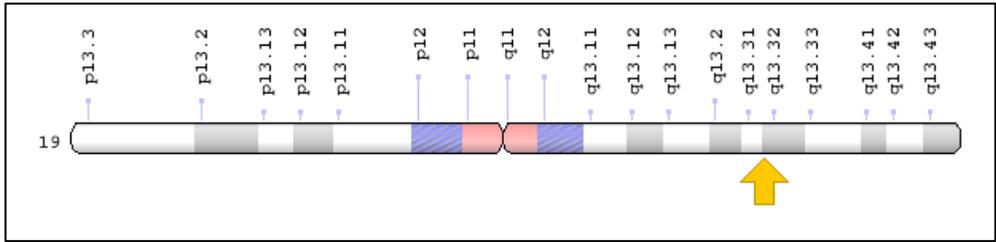
1.6.1.2.3 Difusión al LCR donde es retenido por el plexo coroideo: existe un flujo de  $\beta$ A de LCR a sangre, desde donde será transportado al hígado para su degradación. Un aclaramiento deficiente a través de la barrera hematoencefálica o a través de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo comprometerá el aclaramiento de BA y agravará la patología amiloidea (Gonzalez-Marrero, I. 2015).

El plexo coroideo es una red de vasos sanguíneos y células en los ventrículos (espacios llenos de líquido) del cerebro. Los vasos sanguíneos están cubiertos por una capa delgada de células que elaboran el líquido cefalorraquídeo. El plexo coroideo forma una barrera entre la sangre y el LCR que puede regular la concentración de  $\beta$ A del cerebro. El plexo coroideo rompe el  $\beta$ A en fragmentos más pequeños que posteriormente acumula (Crossgrove, J. 2005).

### **1.6.1.3 ApoE, producción o aclaramiento de $\beta$ A según genotipo**

El gen ApoE se encuentra en el cromosoma 19q13.32 (**fig. 1.15**) y consta de 4 exones que codifican una apolipoproteína de 299 aminoácidos que se expresa en varios órganos. Más adelante veremos que esto es importante ya que PPAR $\gamma$  modulará esta región genética donde podemos decir que existe un *cluster* de genes relacionado con EA, a parte de ApoE encontraremos TOMM40 o APOC1.

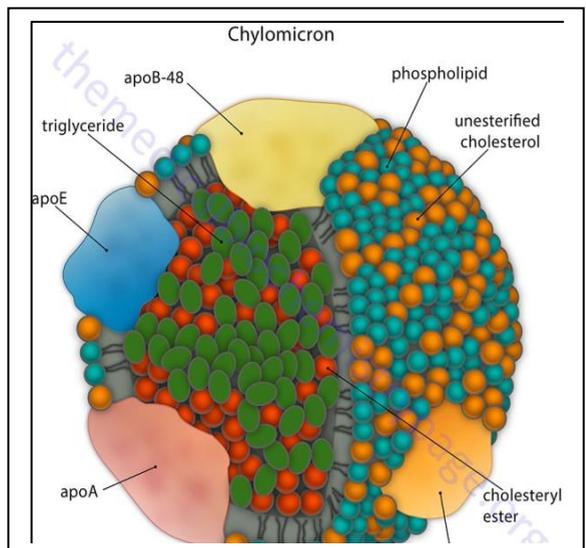
# INTRODUCCIÓN



**Figura 1.15.** Posición del gen ApoE en el brazo largo del cromosoma 19. Fuente: [Genome Decoration Page/NCBI](#) (Reference, G. 2019)

La máxima expresión de ApoE se da en hígado y en menor medida en cerebro. ApoE es la apolipoproteína más abundante en SNC. Los astrocitos y en menor cantidad la microglía son los encargados de la producción de ApoE en cerebro (Wernette-Hammond, M. 1989). En condiciones de estrés las neuronas también pueden expresar APOE pero en mucha menor proporción (Xu, P. 1999). ApoE es uno de los componentes principales de los quilomicrones (**fig. 1.16**) junto a otras alolipoproteínas como pueden ser apoA-I, apoA-II, apoA-IV, apoD, apoE, apoH, and apoJ. La función de los quilomicrones es el transporte de moléculas lipídicas.

**Figura 1.16. Estructura de un quilomacrón.** Los quilomicrones son macromoléculas de origen lipídico y proteico formadas por ésteres de colesterol, fosfolípidos, apolipoproteínas y otros componentes lipídicos cuya función es el transporte de lípidos por el torrente circulatorio (Fuente: [Themedicalbiochemistrypage.org,2019](#))



Otras funciones de ApoE son actuar como ligando en la endocitosis mediada por receptores de lipoproteínas, la transferencia de colesterol de la astrogliá a la neurona (Pitas, R.E. 1987) o el transporte lipídico entre células. El colesterol liberado de las partículas de lipoproteínas que contienen ApoE es utilizado en la sinaptogénesis y el mantenimiento de las conexiones sinápticas (Pfrieger, F. 2003). Además participa en la reparación y el mantenimiento de las neuronas como por ejemplo, en la remielinización, redistribuyendo durante la regeneración neuronal los lípidos a axones en las células de Schwann (Mahley, R. 2006). A nivel periférico ApoE2 y ApoE3 tienen gran afinidad por lipoproteínas de alta densidad (HDL) y son las responsables del transporte de los lípidos al hígado donde serán metabolizados (Kim, J. 2009).

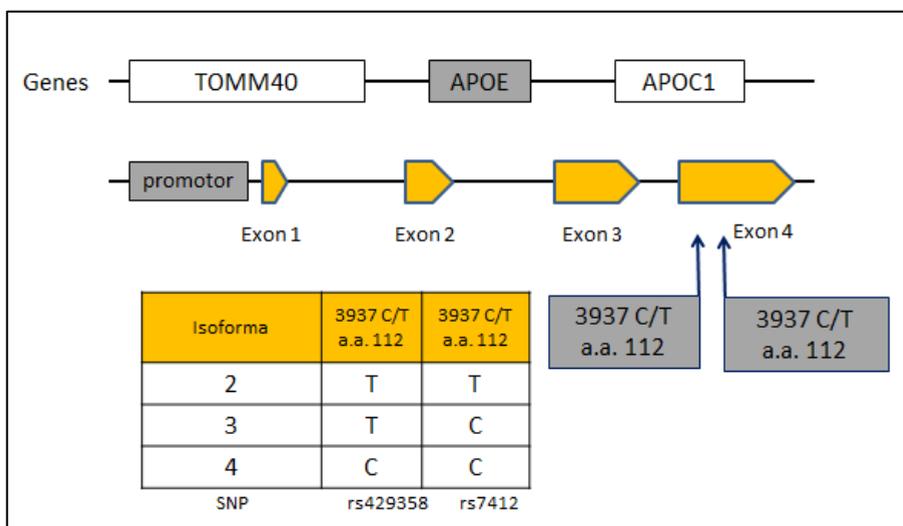
Aparte del mantenimiento de la homeostasis lipídica, ApoE participa en la eliminación de  $\beta$ A a través de varios mecanismos: ApoE participa como transportador en la eliminación cerebral de  $\beta$ A a través de la BHE por el transportador LRP1 tal y como habíamos visto en el apartado **1.6.1.1.2**

El gen ApoE está presente en el cromosoma 19 y puede presentar varios polimorfismos mononucleótidos. Los tres más importantes llevan a cambios en la secuencia de codificación y dan como resultado que ApoE pueda adoptar tres isoformas distintas según los aminoácidos esenciales que ocupen las posiciones 112 y 158 (**fig. 1.17**) (Mahley, R. 2006):

- ApoE  $\epsilon$ 2 (cys112, cys158): esta isoforma se asocia con una menor concentración de colesterol en plasma, con un menor riesgo de padecer EA y con una edad de aparición de la enfermedad mayor (Huang, Y. 2004). También se relaciona con un menor riesgo cardiovascular (Huang, Y. 2014)
- ApoE  $\epsilon$ 3 (cys112, arg158): se asocia a un riesgo intermedio de enfermedad de Alzheimer.

## INTRODUCCIÓN

- ApoE  $\epsilon$ 4 (arg112, arg158): relacionado con mayores concentraciones plasmáticas de LDL y totales de colesterol, un mayor riesgo de aterosclerosis y un mayor riesgo de EA (Corder, E. 1993). ApoE fue el primer gen descubierto en relación a la enfermedad de Alzheimer tardía y permanece en lo más alto del ranking en cuanto a causa de esta enfermedad (Corder, E. 1993; Saunders, A. 1993). Además de aumentar la incidencia de la enfermedad también podemos ver la relación de ApoE4 con el hecho de que la enfermedad aparezca a una edad más temprana (Coon, K. 2007).



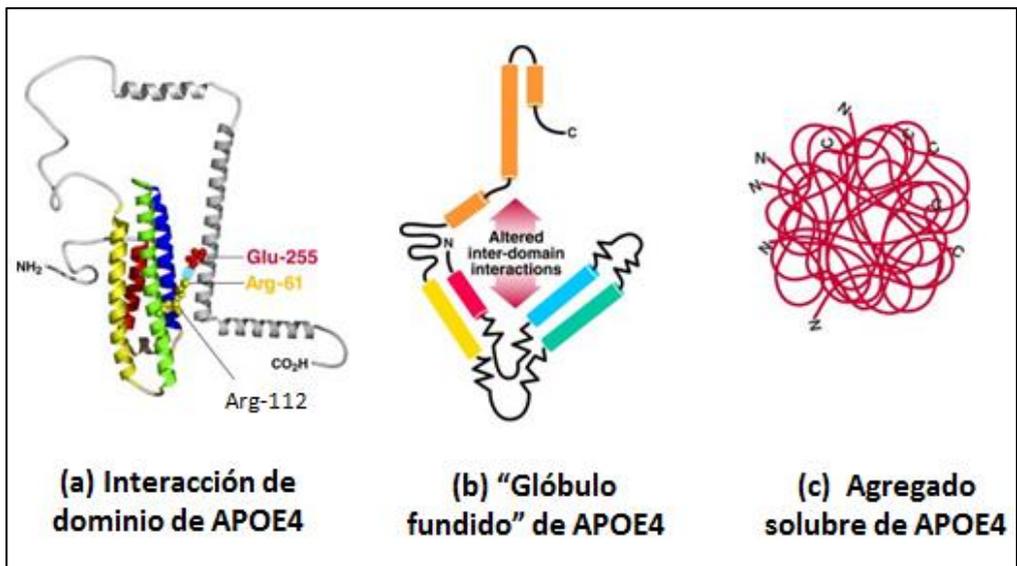
**Figura 1.17. Estructura de apolipoproteína E (ApoE) y polimorfismos de nucleótido único (SNP).** (Adaptado de Bekris, E. 2010)

La frecuencia en la población mundial de ApoE2 es de un 5-10%, para ApoE3 varía entre un 60-70% y para ApoE4 es de un 15-20% (Mahley, R. 2006). En la población española podemos ver cifras que concuerdan con los datos mundiales, 10% de población española posee el alelo ApoE2, un 75% posee el alelo  $\epsilon$ 3 y un 15% el alelo  $\epsilon$ 4 (Martorell, L. 2001).

## INTRODUCCIÓN

El humano puede ser homocigoto o heterocigoto para ApoE4. Los individuos homocigóticos para el alelo  $\epsilon 4$  pueden presentar un riesgo de padecer EA hasta doce veces mayor (Verghese, P. 2011). Los individuos heterocigotos para ApoE 4 tienen un riesgo cuatro veces mayor de desarrollar la enfermedad que aquellos que no poseen ningún alelo  $\epsilon 4$  (Mayeux, R. 2006). Además, APOE 4 se relaciona con un incremento de  $\beta A$  en hipocampo y el córtex (Mahley, R. 2006).

La presencia de arginina en la posición 112 es clave para entender dos factores que contribuirán al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Por una parte, permite la interacción de dominio de la molécula (**fig. 1.18(a)**), este hecho favorece la producción de  $\beta A$ , aumenta la fuga liposomal inducida por  $\beta A$  y favorece la escisión proteolítica en neuronas. Además, Arg-112 provoca que ApoE sea la forma más inestable de ApoE (estabilidad ApoE2>ApoE3>ApoE4).



**Figura 1.18 Agregación de ApoE** (a) La presencia de Arg-112 favorece la interacción de dominio de la molécula. (b) Disposición de "glóbulo fundido" de la molécula de ApoE4. (c) Agregados solubles de ApoE4 formados a partir de (Adaptado de Zhong, N. 2008)

## INTRODUCCIÓN

ApoE no sigue un patrón de equilibrio, donde está plegada o completamente desplegada, sino que existe un estadio intermedio de plegamiento parcial o de “glóbulo fundido” (**fig. 1.18(b)**) (Morrow, J. 2000).

Esta disposición favorece la agregación de ApoE4, además de provocar otros efectos como la alteración de la señalización celular, el aumento de la unión a membranas, la alteración de la unión a lípidos o el aumento de la susceptibilidad a la degradación (para revisión, ver Zhong, N. 2008).



**Triste herencia, Joaquín Sorolla, 1899**

Los depósitos de  $\beta$ A se correlacionan con la expresión de ApoE4 (Schmechel, D. 1993). Existe una propensión de ApoE4 a formar agregados solubles de alto peso molecular que forman protofilamentos de fibrillas (**fig. 1.18(c)**). Estos agregados provocan neurotoxicidad, aumentan la

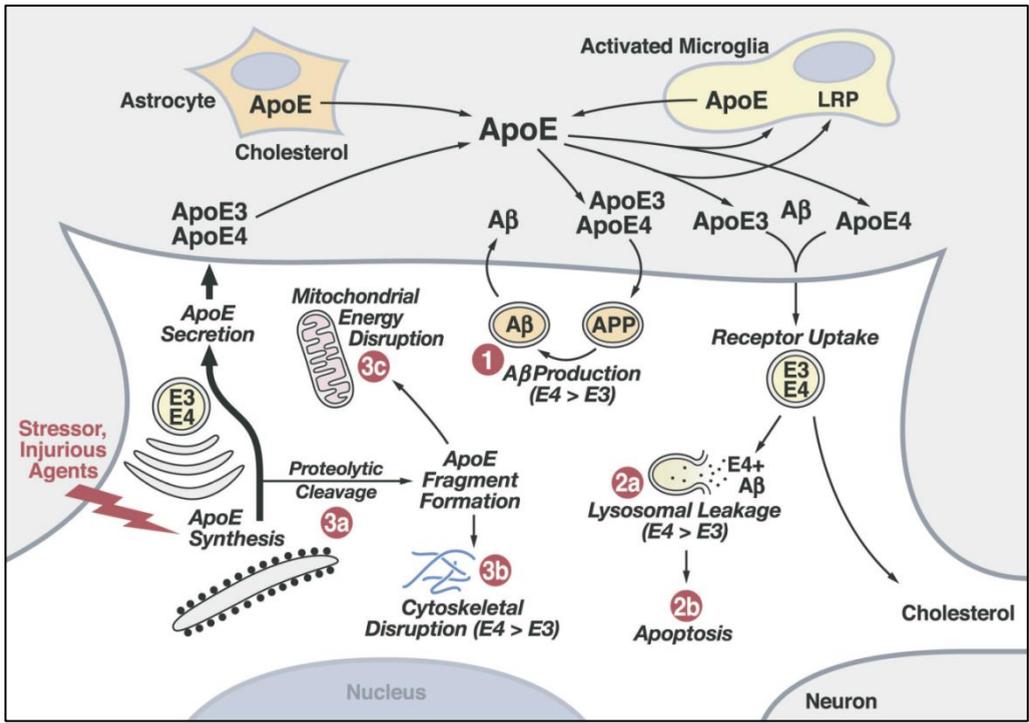
polimerización de  $\beta$ A y favorecen la formación de placas seniles (Hatters, D. 2006). Además ApoE4 funciona como una chaperona patológica de la deposición de  $\beta$ A (Wisniewski, T. 1992). Esto hecho se debe más a la formación de “glóbulos fundidos” que a la interacción de dominio (Morrow, J. 2002).

Pero, ¿cuáles son los mecanismos neuropatológicos de ApoE4? Podemos distinguir dos tipos de mecanismos patológicos, dependientes de  $\beta$ A y no dependientes de  $\beta$ A.

### 1.6.1.3.1 Mecanismos neuropatológicos de ApoE4 dependientes de $\beta$ A:

- Disminución del aclaramiento de  $\beta$ A y/o aumenta la deposición de  $\beta$ A: Tanto estudios *in vitro* como *in vivo* demuestran que ApoE 4 inhibe el aclaramiento de  $\beta$ A (Bales, K. 1999, Holtzman, D. 2000a) y/o aumenta el acúmulo de  $\beta$ A (Irizarry, M. 2000; Holtzman, D. 2000b).
- Incremento de la producción de  $\beta$ A (**fig. 1.19.1**): ApoE4 promueve la formación de fibrillas a partir de  $\beta$ A soluble mediante la unión de la interacción entre dominio carboxi-terminal de APOE y los residuos 12-28 de  $\beta$ A (LaDu, M. 1995).
- Potenciación de la fuga lisosomal inducida por  $\beta$ A: los lisosomas que entran en la neurona para el transporte del colesterol y otros lípidos pueden sufrir una rotura provocada por  $\beta$ A y promover el vertido en el interior de la neurona tanto de  $\beta$ A como de ApoE que ejercía como ligando (**fig. 1.19.2a**) (Ditaranto, K. 2001), lo que puede desencadenar la apoptosis. La rotura de la membrana lisosomal puede verse favorecida por la formación de intermediarios reactivos de ApoE (forma globular fundida que habíamos visto en este mismo apartado) (Mahley, R. 2006).

# INTRODUCCIÓN



**Figura 1.19. Patología de ApoE a nivel neuronal.** (1) Mayor producción de  $\beta A$ , por la disminución del aclaramiento y/o incremento de la producción de  $\beta A$ . (2) Potenciación de la fuga lisosomal inducida por  $\beta A$ . (3a) Escisión de ApoE intraneuronal, que da lugar a fragmentos de ApoE que impiden el correcto mantenimiento del citoesqueleto neuronal o disfunción de la mitocondria (3c). (Fuente: Mahley, R. 2006)

### 1.6.1.3.2 Mecanismos neuropatológicos de ApoE4 independientes de $\beta A$ :

- Escisión de ApoE intraneuronal (**fig. 1.19.3a**): Como habíamos dicho antes, las neuronas también pueden expresar ApoE en condiciones de estrés. Esto se produce para proteger a las neuronas del daño sufrido y para promover la reparación intraneuronal y mantener las conexiones sinápticas (Xu, P. 1999). Cuando ApoE es sintetizado por las neuronas, en el interior de estas, ApoE puede

sufrir una escisión por proteasas, y los fragmentos resultantes son perjudiciales para el proceso de regeneración neuronal (Harris, F. 2003). ApoE4 es mucho más susceptible a esta proteólisis que el resto de isoformas de ApoE (Huang, Y. 2001). Los fragmentos de ApoE4 intraneuronal pueden unirse a mitocondrias (**fig. 1.19.3c**) y provocar la desregulación del metabolismo de la glucosa en las neuronas (Reiman, E. 2003) y de interferir en el papel de las mitocondrias en la sinaptogénesis (Li, Z. 2004).

- ApoE estimula la fosforilación de TAU: Diferentes isoformas de ApoE (sobre todo ApoE3) pueden unirse a TAU no fosforilada y protegerla de la hiperfosforilación, lo que favorecerá el mantenimiento de la estructura de los microtúbulos y por tanto, ayudará en el mantenimiento del citoesqueleto. Sin embargo, ApoE4 no tiene este papel protector, al contrario, la conformación del extremo carboxi-terminal estimula la hiperfosforilación de TAU y por tanto, la formación de ovillos neurofibrilares. (Tesseur, I. 2000a; Tesseur, I. 2000b; Brecht, W. 2004)

- Menor efectividad en el mantenimiento y reparación neuronal: ApoE 4 tiene mayor afinidad por las partículas lipídicas de gran tamaño, ricas en lipoproteínas de baja densidad (LDL y VLDL) mientras que ApoE 3 y ApoE 2 se asocian preferiblemente con los pequeños fosfolípidos ricos en lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Dong, L. 1996). Esta menor afinidad de ApoE4 por las moléculas lipídicas pequeñas podría explicar que fuera menos efectiva en las funciones de homeostasis lipídica que realiza habitualmente ApoE, que incluyen funciones como el transporte de colesterol necesario en la sinaptogénesis o el mantenimiento y reparación neuronal (Bu, G. 2009). La mayor afinidad de ApoE4 por LDL y VLDL no solo tendrá repercusiones cerebrales, a nivel sistémico provocará un aumento de los niveles de estas lipoproteínas en sangre, lo que dará

## INTRODUCCIÓN

lugar a un aumento de riesgo cardiovascular. (Davignon, J. 1988). Las enfermedades cardiovasculares aumentan el riesgo de padecer EA tal y como veremos en el apartado *1.9.2 Factores de riesgo modificables*.

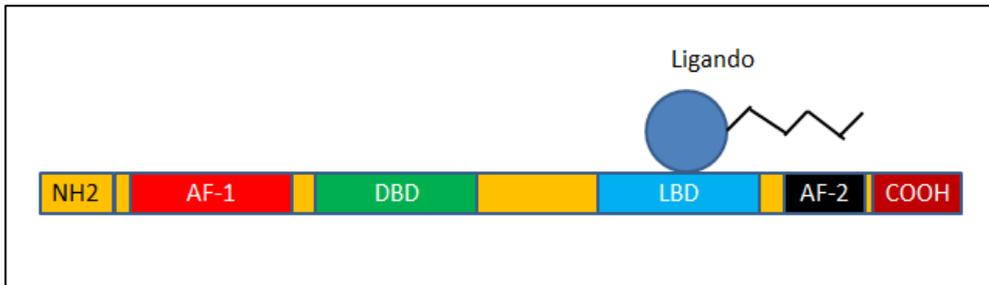
- ApoE participa en la inflamación de forma activa, en la enfermedad de Alzheimer se produce una activación anormal de los astrocitos y la microglía. Mientras las isoformas ApoE2 y ApoE3 regulan la neuroinflamación de forma positiva (Keene, C. 2011), ApoE 4 tiene propiedades proinflamatorias o reduce la capacidad inflamatoria de las neuronas, lo que provoca una exacerbación de la patología inflamatoria en EA (Liu, C. 2013). En pacientes portadores de al menos un alelo  $\epsilon 4$ , se produce un aumento de la respuesta inflamatoria que contribuye a la patogénesis de la EA (Bales, K. 2000).

### **1.6.1.4 Papel de PPAR y RXR**

Los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (en inglés *peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR*) son unos receptores hormonales nucleares (NRs) pertenecientes a la superfamilia de los receptores esteroideos cuya función es regular los genes en diferenciación celular y otros procesos metabólicos, especialmente aquellos ligados a los lípidos y la homeostasis de la glucosa (Berger, J. 2002).

PPAR consta de varias regiones, una de ellas es la zona de unión al DNA (en inglés *DNA binding domain, DBD*) en la parte central de la molécula, esta zona proporciona la especificidad de unión del receptor a los genes diana, más concretamente a los elementos de respuesta hormonal (HRE). DBD contiene átomos de zinc que interaccionan con secuencias de aminoácidos de HRE para dar

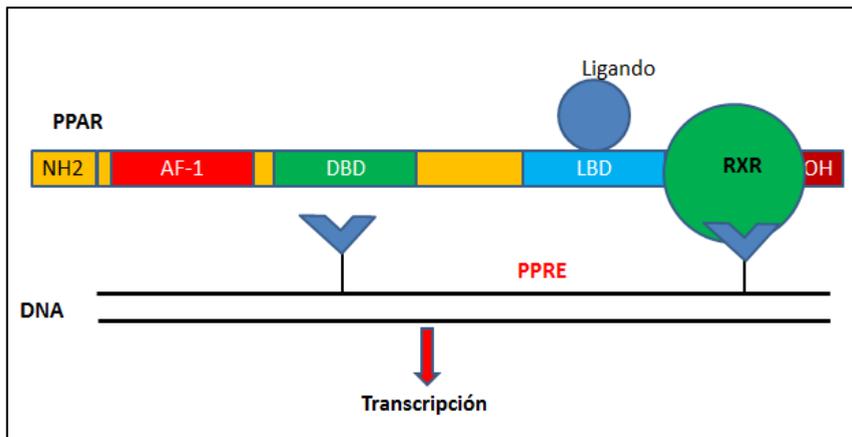
una conformación helicoidal que se unirá al HRE (Beato, M. 1989). En la zona C-terminal encontramos la zona de unión al ligando (en inglés *ligand binding domain*, LBD). Estos ligandos pueden ser naturales o sintéticos y al unirse a PPAR activan la transcripción de genes (**fig. 1.20**). Existen dos secuencias de transactivación, AF-1 (en el extremo N-terminal y AF-2 en el extremo carboxi-terminal, que interaccionan con coactivadores necesarios para completar el proceso. Mientras AF-1 es independiente de ligando, AF-2 depende de este.



**Figura 1.20. Estructura de PPAR.** En la región C-terminal encontramos la zona de unión al ligando. Estos pueden ser naturales o sintéticos. En la zona media, encontramos la zona de unión a DNA. (Adaptado de Lee, W. 2015)

Después de la interacción con el agonista, PPARs forman un heterodímero con el receptor nuclear del ácido 9-cis retinoico (RXR). El complejo PPAR-RXR es capaz de reconocer y unirse a una secuencia específica del ADN en la región promotora del gen (**fig. 1.21**). Las regiones específicas de DNA de los genes diana que se unen con PPAR y RXR se denominan elementos de respuesta hormonal proliferativa del peroxisoma (en inglés: *peroxisome proliferator hormone response elements*, PPREs). La secuencia capaz de unirse con el heterodímero es *agggtca*. Esta unión dará lugar a la puesta en marcha de la traducción génica y se inicia la transcripción del gen (Willson, T. 2000).

## INTRODUCCIÓN



**Figura 1.21. Formación del heterodímero PPAR-RXR.** Este complejo es capaz de unirse a la región PPRE del DNA, para dar comienzo a la transcripción de genes. (Adaptado de Lee, W. 2015)

PPAR incluye tres isoformas: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  y PPAR $\gamma$ . Estas tres isoformas difieren unas de otras por su distribución en tejidos, la especificidad de sus ligandos y sus funciones fisiológicas (**tabla 1.2**) (Berger, J. 2002).

**PPAR $\alpha$ :** se expresa en tejidos con alta capacidad metabólica, como hígado, corazón, músculo esquelético, mucosa intestinal o tejido adiposo marrón (Neschen, S. 2007). Tiene un papel regulador en el metabolismo de los ácidos grasos: estimula el catabolismo de lípidos, aumenta la producción de HDL mientras reduce VLDL y disminuye la resistencia a la insulina (Verme, J. 2005). Los agonistas naturales de PPAR $\alpha$  son los ácidos grasos insaturados omega-3, mientras los agonistas sintéticos son los fibratos, fármacos destinados a disminuir los niveles altos de triglicéridos y elevar el HDL, lo que reduce el riesgo cardiovascular (Taniguchi, A. 2001).

**PPAR $\beta/\delta$** : se expresa en todos los tejidos, pero es particularmente abundante en hígado, intestino, riñón, grasa abdominal y músculo esquelético (Delerive, P. 2000). Tiene su función en el metabolismo lipídico y del colesterol, promoviendo la oxidación de ácidos grasos, mejora el perfil lipídico y reduce los adipocitos, lo que previene la obesidad (Wang, Y. 2003). Los agonistas naturales para PPAR $\beta/\delta$  son los ácidos grasos insaturados, la carbaprostaciclina y componentes del VLDL. El ligando sintético es GW501516, una molécula descartada en el tratamiento de la obesidad (Mosti, M. 2014).

**PPAR $\gamma$** : se expresa en tejido adiposo blanco y marrón, en intestino delgado y bazo (Vidal-Puig, A. 1997). Su función es la regulación de adipogénesis, el mantenimiento del balance energético y la biosíntesis lipídica. Además, regula la homeostasis de la glucosa y mejora la sensibilidad a la insulina (Kliwer, S, 1997). PPAR $\gamma$  también tiene un papel regulador en el desarrollo del cáncer, inhibe o promueve el crecimiento del cáncer según las condiciones celulares y la vía de señalización (Feige, J. 2006). Los agonistas naturales de PPAR $\gamma$  son los ácidos grasos poliinsaturados (en inglés *poly unsaturated fatty acids*, PUFA) como el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenoico, además de prostaglandinas como las prostaglandinas (PG) PGA1, PGA2 y PGD2. Los ligandos sintéticos son tiazolidinedionas (como la rosiglitazona, pioglitazona, ciglitazona o pioglitazona), fármacos que mejoran la sensibilidad a la insulina en el tratamiento de la *diabetes mellitus*. (Elstner, E. 1998).

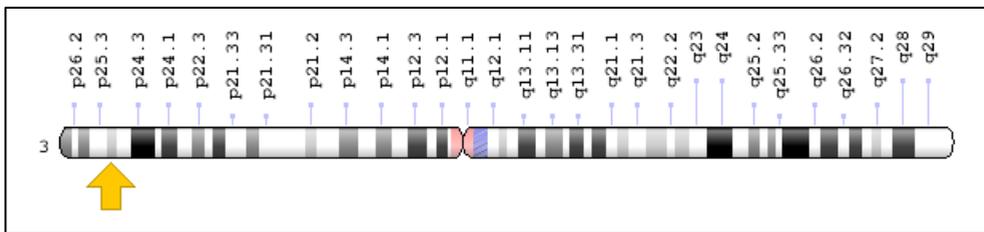
## INTRODUCCIÓN

		PPAR $\alpha$	PPAR $\beta/\delta$	PPAR $\gamma$
Localización		Hígado, corazón, músculo esquelético, mucosa intestinal o tejido adiposo marrón (Neschen, S. 2007)	Hígado, intestino, riñón, grasa abdominal, músculo esquelético (Delerive, P. 2000)	Tejido adiposo blanco y marrón, en intestino delgado y bazo (Vidal-Puig, A. 1997)
Función		Metabolismo de los ácidos grasos: estimula el catabolismo de lípidos, aumenta la producción de HDL mientras reduce VLDL y disminuye la resistencia a la insulina (Verme, J. 2005)	Metabolismo lipídico y del colesterol, promoviendo la oxidación de ácidos grasos, mejora el perfil lipídico y reduce los adipocitos, lo que previene la obesidad (Wang, Y. 2003)	Regulación de adipogénesis, el mantenimiento del balance energético y la biosíntesis lipídica. Además regula la homeostasis de la glucosa y mejora la sensibilidad a la insulina (Kliewer, S, 1997)
Ligandos	Naturales	Ácidos grasos insaturados omega-3 Leucotrieno B4 (Moraes, L. 2006)	Ácidos grasos insaturados Carbaprostaciclina Componentes del VLDL (Berger, J. 2002)	Ácidos grasos poliinsaturados Prostaglandinas (Berger, J. 2002)
	Sintéticos	Fibratos (Taniguchi, A. 2001)	GW501516 (Mosti, M. 2014)	Tiazolidinedionas Farglitazar S26948 (Elstner, E. 1998) (Xu, H. 2001)

**Tabla 1.2. Localización, función y ligandos de los diferentes tipos de PPAR.** (Adaptado de Grygiel-Górniak, B. 2014).

En general podemos decir que PPAR $\alpha$  y PPAR $\beta/\delta$  facilitan la combustión de energía, mientras PPAR $\gamma$  contribuye al almacenamiento de energía al mejorar la adipogénesis (Grygiel-Górniak, B. 2014).

Vamos a centrarnos en PPAR $\gamma$ , ya que nuestra tesis se basa en la activación del heterodímero PPAR $\gamma$ /RXR como tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. El gen que codifica PPAR $\gamma$  se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 3, en la posición 25.2 (**fig. 1.22**).



**Figura 1.22.** Posición del gen que codifica PPAR $\gamma$ , en el brazo corto del cromosoma 3, en la posición 25.2. Fuente: [Genome Decoration Page/NCBI](#) (Reference, G. 2019)

PPAR $\gamma$  juega un papel importante en la obesidad (Sharma, A. 2007), diabetes (Celi, F. 2002), enfermedades cardiovasculares (Das, S. 2006), inflamación (Plutzky, J. 2003), neuroinflamación (Cowley, T. 2012), inmunidad innata (Olefsky, J. 2010), cáncer (Michalik, L. 2004) y función cognitiva (Johnson, W. 2008). Todas estas enfermedades están ligadas al cromosoma 19q13.32, que como podemos recordar, pertenece a la región genética que contiene un *cluster* de genes donde se encuentra la apolipoproteína E. Además encontramos TOMM40 (translocasa de membrana externa de mitocondria 40, en inglés *translocase of mitochondrial membrane 40*) y APOC1 (apolipoproteína C1). Los genes que contiene esta región genética están implicados en el perfil lipídico (HDL, LDL, VLDL y triglicéridos) (Leahy, J. 2008), longevidad (Nebel, A. 2011), riesgo cardiovascular (Middelberg,

## INTRODUCCIÓN

R. 2011), inflamación (Suchindran, S. 2010), y enfermedad de Alzheimer de fase tardía, influyendo tanto en la susceptibilidad como en la edad de inicio (Coon, K. 2007, Kamboh, M. 2011). Ya que esta región posee un gran número de sitios de unión a PPAR $\gamma$ , cabe prever que este ejercerá un papel regulador muy importante en este *cluster* de genes (Subramanian, S. 2017).

TOMM40 es una translocasa de membrana externa de mitocondria que participa en la entrada de proteínas dentro de la célula (Humphries, A. 2005). TOMM40 puede sufrir una serie de polimorfismos de un solo nucleótido (en *inglés*, *single nucleotide polymorphisms*, SNP) asociado a un aumento en el riesgo de padecer EA (Yu, C. 2007). Investigaciones recientes demuestran que este riesgo es independiente de ApoE en ciertas poblaciones como es el caso de la etnia han (Huang, H. 2016). Los niveles de TOMM40–mRNA están incrementados en cerebros afectados por EA (Payton, A. 2016).

La apolipoproteína C1 (APOC1) en asociación con ApoE participa en el metabolismo del colesterol, regeneración de membranas y apoptosis neuronal (Leduc, V. 2006). Mutaciones en APOC1 en combinación con poseer el alelo  $\epsilon 4$  es un factor de riesgo potencial para el desarrollo de EA. Existe una probabilidad del 65% de desarrollar EA en individuos que presentan mutaciones en APOC1 y tienen al menos un alelo ApoE  $\epsilon 4$  (Zhou, Q. 2014). El gen APOC1, al igual que APOE, está relacionado con aterosclerosis, como ya habíamos visto, factor de riesgo de EA.

Se define desequilibrio de ligamiento (en *inglés*, *linkage disequilibrium*, LD) como la correlación entre variantes cercanas, de modo que los alelos de los polimorfismos vecinos (observados en el mismo cromosoma) se asocian dentro de una población con más frecuencia que si estuvieran desvinculados (Sciencedirect.com, 2019). Es importante destacar que aunque TOMM40 y APOC1 se encuentren en desequilibrio de ligamiento con ApoE4 y que muestren una asociación significativa con EA, la fuerza de asociación de ApoE4 es quince veces

mayor que la observada para los genes presentes en este *cluster*. Esto refuerza aún más la teoría de que ApoE es el único factor de riesgo genético de EA en esta región del cromosoma 19 (Bertram, L. 2010).

La dimerización de PPAR $\gamma$  con RXR activa la transcripción de ApoE cerebral que es sintetizado sobre todo por astrocitos, lo que provoca un aumento del aclaramiento cerebral de  $\beta$ A (Chawla, A. 2001). Además jugará un papel importante en la disminución de la inflamación ya que RXR también modula la respuesta inmune a través de la fagocitosis por la microglía (Johnson, K. (1993). Kawahara también describe que la dimerización PPAR $\gamma$ -RXR provoca un aumento de la expresión génica de IDE, que también ayuda al aclaramiento cerebral de  $\beta$ A (Kawahara, K. 2014).

PPAR $\gamma$  estimula la síntesis de ApoE aumentando la expresión del gen LXR (Yue, L. 2004). Además se ha hallado un PPRE (la región específica de DNA de los genes diana que se unen con PPAR y RXR) en la región genética común a APOC1 y ApoE, además de sitios de unión adicionales de PPAR $\gamma$  con la región genómica TOMM40-ApoE-APOC1 (Galletto, R. 2001) lo que podría llevar a una regulación directa de PPAR $\gamma$  mediada por transcripción.

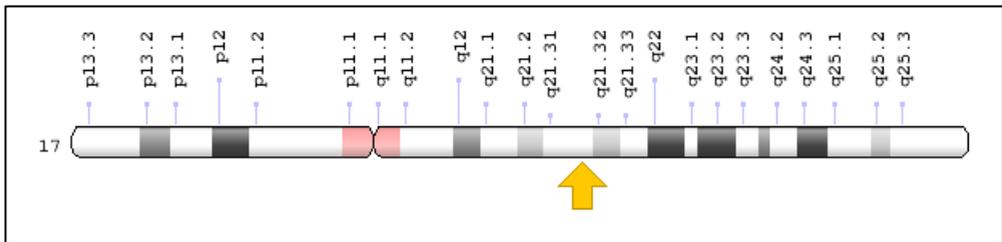
Estudios de asociación de genoma completo (en inglés *Genome-wide association study*, GWAS) han demostrado que PPAR $\gamma$  también participa en la regulación de las transcripción de otros seis genes implicados en la génesis de la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío (EAIT): ABCA7, ApoE, CASS4, CELF1, PTK2B, ZCWPW1 y DSG2 (Barrera, J. 2018). De estos genes, CELF1 se asocia a ciertos tipos de cáncer (Cifdaloz, M. 2017) y la expresión de ABCA7 está aumentada en carcinoma de ovario (Elsnerova, K. 2017). Esto podría llevarnos a pensar en un mecanismo solapado entre cáncer y EA. Se sabe que personas que han sufrido cáncer tienen un riesgo muy reducido de padecer enfermedad de Alzheimer y pacientes con EA

# INTRODUCCIÓN

tienen bajas probabilidades de padecer cáncer (Musicco, M. 2013; Yarchoan, M. 2017).

## 1.6.2 Proteína TAU y patología neurofibrilar

La proteína TAU es una proteína asociada a microtúbulos (MAP) identificada por primera vez en 1975 (Wingarten, M. 1975). El gen que codifica la proteína TAU se encuentra en el cromosoma 17 (**fig. 1.23**), más concretamente en 17q21 y contiene 16 exones (Buée, L. 2000).

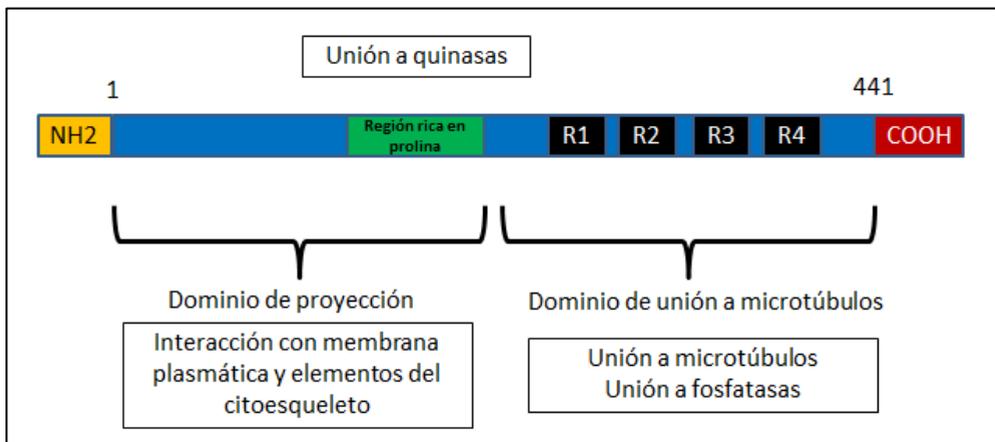


**Figura 1.23. Posición del gen de TAU en el brazo largo del cromosoma 17.** Fuente: [Genome Decoration Page/NCBI](#) (Reference, G. 2019)

TAU es una proteína que forma parte de los microfilamentos de las neuronas. Se encuentra en la mayoría de los tejidos pero se expresa en mayor proporción en el sistema nervioso periférico. TAU interactúa con  $\alpha$ -tubulina y  $\beta$ -tubulina para formar los microtúbulos, el estado de fosforilación de TAU es importante para estabilizar los polímeros de tubulina.

TAU es una fosfoproteína en condiciones normales y la fosforilación regula su actividad biológica (Drechsel, D. 1992). El grado de fosforilación de TAU depende del balance entre la fosforilación por proteínas quinasas y la desfosforilación por proteínas fosfatasas.

En el cerebro, TAU puede adoptar 6 isoformas diferentes con rangos de 352 a 441 aminoácidos. Dentro de los primeros 120 residuos predominan los aminoácidos, lo que le confiere un carácter básico en esta región aunque en conjunto la proteína TAU tenga carácter básico. La molécula TAU puede subdividirse en un dominio amino-terminal que se proyecta desde la superficie de los microtúbulos (también llamado dominio de proyección) y un dominio de unión a los microtúbulos del terminal carboxi (**fig. 1.24**).



**Figura 1.24. Representación esquemática de la proteína TAU y función de sus diferentes regiones** (Adaptado de Buée, L. 2000)

El extremo N-terminal es denominado dominio de proyección, porque sobresale de la superficie del microtúbulo, pudiendo interactuar con otros elementos del citoesqueleto y con la membrana plasmática. Una de las funciones de este dominio es mantener el diámetro de los haces de microtúbulos (Chen, J. 1992).

La región rica en prolinas se encuentra entre el dominio de proyección y la región de las repeticiones. Está constituida por secuencias de serina o treonina seguidas

## INTRODUCCIÓN

de prolina. Es importante porque será la diana de las diferentes quinasas que fosforilen TAU.

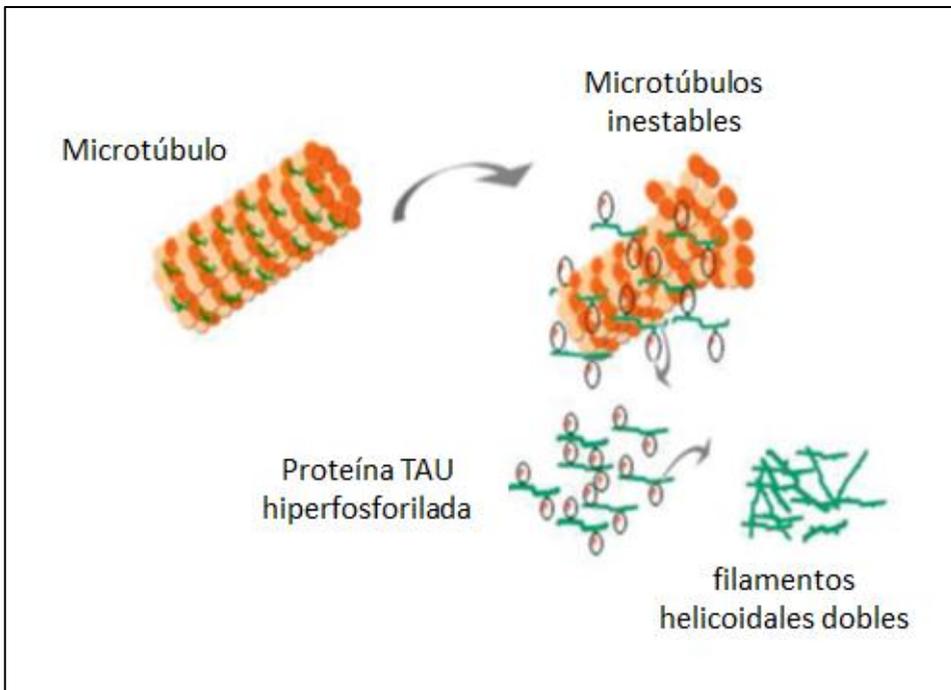
El dominio de unión a microtúbulos está constituido por la región de repeticiones y el extremo carboxi-terminal. Comprende 3 o 4 secuencias repetidas de 14 aminoácidos (R1 a R4). Es el lugar de unión a tubulina. (Gong, C. 1994). Como decíamos existen diferentes isoformas, entre las que encontramos 3R y 4R. Mientras que las isoformas 4R tienen mayor afinidad por los microtúbulos, las isoformas 3R, presentes también en estadios fetales, son las que permiten la plasticidad neuronal (Lee, G. 1989). Este dominio también es la zona de unión a fosfatasas como PP2A y PP1.

Además de mantener unidas los microtúbulos que forman el citoesqueleto neuronal (Kosik, K. 1993) TAU tiene otras funciones como son el transporte axonal de organelas como pueden ser mitocondrias, lisosomas o vesículas sinápticas que contienen neurotransmisores que son transportados desde el cuerpo celular a sinapsis distales. Este transporte viene condicionado por la polaridad neuronal que a su vez depende de la orientación de los microtúbulos presentes en axones y dendritas. TAU participa muy activamente de esta configuración (Shahani, N. 2002).

Otra de las funciones esenciales de TAU es participar en la plasticidad neuronal. Existe un gradiente de fosforilación a través del axón, menos fosforilada en la zona distal del axón. Los cambios en la fosforilación de TAU son necesarios durante el proceso de remodelación neuronal (Evans, D. 2000).

**1.6.2.1 Hiperfosforilación de TAU:**

El segundo de los hallazgos neuropatológicos de la enfermedad de Alzheimer es la presencia de ovillos neurofibrilares intraneuronales formados por filamentos helicoidales dobles (en *inglés paired helical filaments*, PHF). La proteína TAU es el principal componente de estos filamentos (Brion, J. 2006). Además se observa que la proteína TAU está anormalmente fosforilada (Grundke-Iqbal, I. 1987). La fosforilación anormal de TAU afecta a su capacidad de unirse a la tubulina, desestabilizando la estructura de los microtúbulos (fig. 1.25). El desequilibrio entre quinasas y fosfatasa conducen a la hiperfosforilación de TAU.



**Figura 1.25. Formación de filamentos helicoidales e hiperfosforilación de TAU** (Fuente: Harris, J. 2012).

## INTRODUCCIÓN

### **Quinasas implicadas en fosforilación de TAU:**

Las quinasas capaces de fosforilar TAU se dividen en dos grupos, quinasas dirigidas por prolinas y quinasas no dirigidas por prolinas (Baudier, J. 1987).

■ Quinasas dirigidas por prolinas: la más importante es la glucógeno sintasa kinasa 3 (GSK3), aunque también encontramos otras como la quinasa dependiente de ciclina 5 (CDK5) o la MAP quinasa p38. En las regiones ricas en prolina es donde se sitúan la mayoría de residuos fosforilados de TAU. GSK3 es la quinasa que juega un papel más importante en la hiperfosforilación de TAU. (Mazanetz, M. 2007). Existe una correlación entre GSK3 e hiperfosforilación de TAU (Engel, T. 2006).

■ Quinasas no dirigidas por prolinas: proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa C (PKC), la calmodulina quinasa II (CaMKII), las quinasas reguladoras de afinidad entre MAPs (MARK) o la caseína quinasa II (CKII). Estas quinasas fosforilan a TAU en el dominio de unión a microtúbulos, salvo CKII que fosforila a TAU cerca del dominio de proyección (Buée, L. 2000).

### **Fosfatasas implicadas en desfosforilación de TAU**

La proteína fosfatasa 2A (PP2A) se ha revelado como la más importante en la regulación de fosforilación de TAU en la enfermedad de Alzheimer (Sontag, E. 1996), pero existen otras fosfatasas como la proteína fosfatasa P1 (PP1), la proteína fosfatasa 2B (PP2B) o calcineurina, o proteína fosfatasa 5 (PP5). En la enfermedad de Alzheimer, PP2A es importante porque al disminuir su acción, desequilibra el cociente fosforilación/desfosforilación y además contribuye a la activación de otras quinasas como CaMKII, MARK y otras quinasas activadas por estrés (Bennectib, M. 2001).

Además, TAU hiperfosforilada altera el transporte axonal y el metabolismo sináptico, causando disfunciones que dan lugar a la pérdida de la viabilidad celular y, en última instancia, conducen al colapso del citoesqueleto microtubular y la muerte neuronal (Wang, J. 2007).

TAU fosforilada puede tener entre 6 y 8 grupos fosfato por molécula, mientras que el grado normal de fosforilación de TAU en un cerebro sano puede ser de 2 o 3 grupos fosfato por molécula.

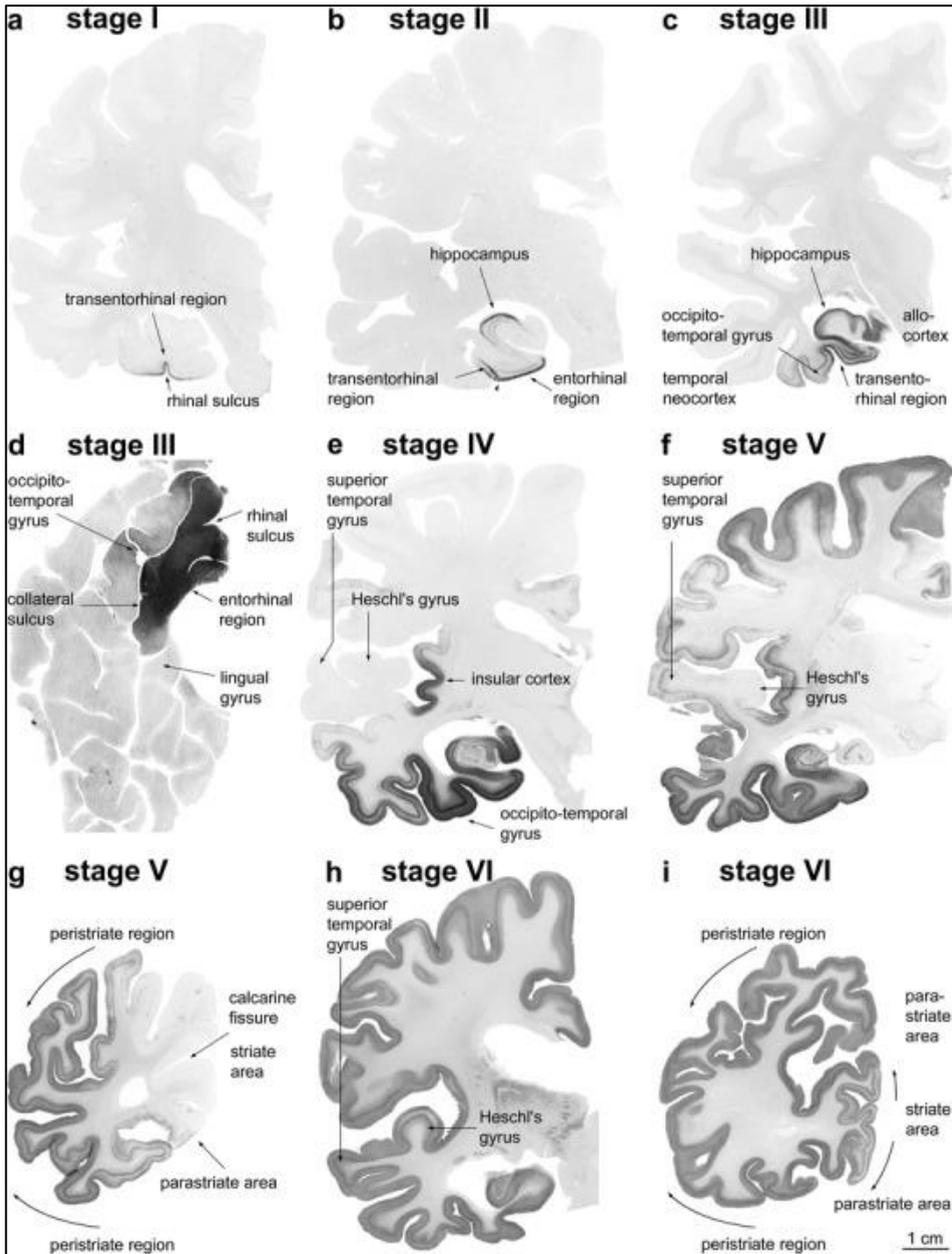
Los ovillos neurofibrilares también se observan en otras enfermedades neurodegenerativas poco comunes, denominadas tauopatías, en las cuales no se observan placas seniles ni depósitos de  $\beta$ A (Avila, J. 2000). Se definen las tauopatías como enfermedades neurodegenerativas que presentan depósitos filamentosos de TAU hiperfosforilado en neuronas y glía y que cursan con aberraciones en el procesamiento alternativo de TAU, los niveles de TAU y su grado de fosforilación. Además de la EA encontramos otras tauopatías como las demencias frontotemporales, la degeneración corticobasal (CBD), la demencia pugilística, la enfermedad de Niemann-Pick, la enfermedad de Creutzfeld- Jacob, el síndrome de Down, la enfermedad de Pick y la parálisis supranuclear progresiva (PSP).

Las mutaciones genéticas en TAU, a diferencia de lo que podríamos pensar, no producen enfermedad de Alzheimer, sino demencia frontotemporal con parkinsonismo asociada al cromosoma 17 (FTPD-17) (Goedert, M. 2005).

En EA, encontramos mayor densidad de ovillos neurofibrilares en las neuronas del córtex entorrinal, la región CA1 y zona subicular del hipocampo y las capas III, V y VI del neocórtex. (Morrison, J. 1997). Existe una correlación entre el número de ovillos neurofibrilares presentes en el cerebro y el grado de demencia de los

## INTRODUCCIÓN

pacientes con EA (Arriagada, O. 1992). La distribución de la patología neurofibrilar en la EA sigue un patrón anatómico característico que también se asocia con el grado de demencia del enfermo de Alzheimer (Braak, H. 1995). Los primeros ovillos neurofibrilares empiezan a formarse en la región transentorrinal, en una segunda etapa pasa a la región entorrinal. Durante las etapas I y II (fase transentorrinal) los pacientes no presentan síntomas de la enfermedad. Los estadios III y IV son conocidos como la fase límbica, en esta los ovillos neurofibrilares pasan al hipocampo y al córtex adyacente. Se produce durante estas fases un deterioro cognitivo más acentuado y un ligero cambio en la personalidad del enfermo. Los estadios V y VI son conocidos como la etapa neocortical y se produce una propagación de la patología neurofibrilar por el resto del córtex cerebral y el enfermo ya presenta una demencia severa (**fig. 1.26**). En general, asociamos los estadios I a IV a la pérdida de memoria, y los estadios V y VI a la demencia (Braak, H. 1995). En ancianos sin enfermedad de Alzheimer ni ninguna otra tauopatía, podemos encontrar ovillos neurofibrilares en el hipocampo (Duong, T. 1994).



**Figura 1.26** Estadios de la patología neurofibrilar. Los primeros ovillos neurofibrilares empiezan a formarse en la región transentorrinal, en una segunda etapa pasa a la región entorrinal, pasando al hipocampo y al córtex adyacente (estadio III) hasta invadir el resto

## INTRODUCCIÓN

de la corteza (estadio VI). Se asocian los estadios I a IV a la pérdida de memoria, y los estadios V y VI a la demencia (Fuente: Braak, H. 2006).

En las áreas dañadas podemos encontrar “ovillos fantasma”, que en realidad se tratan de ovillos neurofibrilares extracelulares. Existe una relación inversa entre estos “ovillos fantasma” y neuronas vivas, lo que podría llevarnos a la conclusión de que las neuronas muertas podrían verter su contenido al espacio extracelular y por ello encontramos TAU extraneuronal en LCR. (Iqbal, K. 2005).

### ***La tormenta perfecta***

Las placas seniles y los ovillos neurofibrilares no son mecanismos independientes. El grupo del profesor Viña hipotetiza sobre el nexo de unión entre ambas patologías, proponiendo que  $\beta$ A provoca un aumento del estrés oxidativo crónico que provoca la activación de RCAN (inhibidor de fosfatasas de TAU) y de p38 (activador de fosfatasas de TAU). Ambos procesos conllevan una hiperfosforilación de TAU (Lloret, A. 2015). Este mismo artículo argumenta que la modulación de las quinasas y fosfatasas implicadas en la fosforilación/desfosforilación de TAU también se ven alteradas por el  $\beta$ A. Mientras la disminución de Pin1 por parte de  $\beta$ A provoca una inhibición de la calcineurina, lo que se traduce en una disminución de la desfosforilación de TAU, el aumento de CDK5 o GSK-3b provocan un aumento de la fosforilación de TAU. Todo esto se traduce en la hiperfosforilación de TAU.

### **1.6.3 Inflamación y enfermedad de Alzheimer**

Cuando Alois Alzheimer estudia por primera vez al microscopio las secciones histológicas del cerebro de August D. además de las placas seniles y los ovillos

neurofibrilares, también describe un conglomerado de células gliales alrededor de las placas seniles (Alzheimer, A. 1907).

La neuroinflamación es un elemento común a muchas enfermedades neuronales (Bidstrup, P. 1972). La inflamación juega un papel destacado en la EA, concretamente la microglía y los astrocitos son mediadores de la neuroinflamación en la EA y suponen una contribución alta a la patogénesis de la enfermedad.

Las células gliales son células del sistema nervioso que a diferencia de las neuronas no transmiten el impulso nervioso, pero tienen un papel importante en el mantenimiento, nutrición y defensa del sistema nervioso. Las células gliales son la microglía, los astrocitos, los oligodendrocitos, que forma la mielina alrededor de los axones del sistema nervioso central y las células de Schwann, que tiene la misma función pero en el sistema nervioso periférico. Pero estudiamos en profundidad las dos primeras:

### **1.6.3.1 Microglía**

La microglía es una célula glial de origen hematopoyético considerada como el macrófago del tejido cerebral. Es esencial en la respuesta inflamatoria mediada por inmunidad innata en múltiples enfermedades neurodegenerativas como enfermedad de Alzheimer (Mandrekar-Colucci, S. 2010), enfermedad de Parkinson (Teismann, P. 2004), esclerosis múltiple (Muzio, L. 2007) o esclerosis lateral amiotrófica (Yin, F. 2009).

#### **1.6.3.1.1 Funciones de la microglía**

- La microglía interviene en los procesos neuroinflamatorios en respuesta a cualquier agresión al SNC (Lund, S. 2006). También desempeña un papel

## INTRODUCCIÓN

importante en el mantenimiento normal de los tejidos al absorber y desechar los *detritus* celulares en el parénquima cerebral.

- La microglía ataca y elimina patógenos potenciales, actuando en primera línea de defensa frente a estos patógenos (Wyss-Coray, T. 2002).
- La microglía realiza un muestreo continuo del entorno celular con movimientos retráctiles. Durante este escaneo la microglía entra en contacto con astrocitos, vasos sanguíneos y neuronas. La microglía examina todo el cerebro una vez cada pocas horas (Davalos, D. 2005; Nimmerjahn, A. 2005). En caso de detectar daño cerebral puede movilizarse y migrar a la zona afectada en poco tiempo (Davalos, D. 2005).
- En enfermedad de Alzheimer, la activación de la microglía es capaz de reducir los depósitos de  $\beta$ A mediante mecanismos de fagocitosis, aclaramiento y degradación (Frautschy, S. 1998; Yan, Q. 2003). Además la microglía puede secretar la enzima degradadora de insulina (IDE). IDE es una metaloproteasa de zinc con capacidad de aclaramiento y eliminación de  $\beta$ A (Qiu, W. 1998).

En definitiva, la microglía desempeña un papel activo y dinámico en el mantenimiento de la homeostasis en un cerebro sano y puede detectar y responder de manera eficiente a las lesiones del SNC (Mandrekar-Colucci, S. 2010). A pesar de que existe controversia en determinar si la microglía tiene o no efectos protectores, nos quedamos con la frase de Streit y Xue: *“la única microglía mala es una microglía muerta”* (Streit, W. 2009).

### 1.6.3.1.2 Activación de la microglía

El proceso degenerativo de la microglía es poco frecuente en cerebros humanos envejecidos, pero aparece a consecuencia de la enfermedad de Alzheimer. Se produce una pérdida de la neuroprotección de la microglía. La microglía activada

no es capaz de degradar el  $\beta$ A, se produce una “fagocitosis frustrada” debido a los cambios sufridos en la microglía (Paresce, D. 1997; Majumdar, A. 2007; Majumdar, A. 2008). Además se producirán otros mecanismos de toxicidad neuronal como son la liberación de óxido nítrico, que provocará un aumento del estrés oxidativo (Colton, C. 2006), la desregulación de la fagocitosis, que dará lugar a una fagocitosis no controlada (Biber, K. 2007) y lo más importante, el inicio de la cascada proinflamatoria que dará lugar a gran cantidad de factores inflamatorios que afectara a todo el sistema nervioso: citoquinas como IL-1b, IL-6 o TNF- $\beta$ , interferón G, (Lue, L. 2001), especies reactivas de oxígeno (ROS) (Coraci, I. 2002), quimiocinas como la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP1), macrófagos y factores estimulantes de colonias de macrófagos (El Khoury, J. 2003), factores del complemento como C1q, C3, C4 y C9 (Walker, D. 1995) o moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad II (MHCII) (John, G. 2003). También se expresan receptores asociados a la inflamación y a la fagocitosis como receptores de quimiocinas (Cartier, L. 1995), receptores para RAGE (Walker, D. 2005), receptores relacionados con el sistema inmune, como receptores Fc y receptores *scavenger* (Okun, E. 2009) o CD40 (Tan, J. 1999). La secreción de todos estos mediadores de la inflamación dará lugar a neurodegeneración, que además de provocar apoptosis neuronal, amplificará la inflamación local provocada por EA. Todos estos mediadores de la inflamación se han medido en múltiples estudios en regiones de cerebros afectados por EA (ver revisión en Akiyama, H. 2000). Se ha comprobado que TNF- $\alpha$ , además de aumentar la inflamación también aumenta la actividad de BACE, aumentando el corte de APP y por tanto la producción de  $\beta$ A (Decourt, B. 2016).

La activación de la microglía puede producirse por muchos estímulos, el más importante de ellos en EA son los depósitos de  $\beta$ A. Encontramos una

## INTRODUCCIÓN

concentración densa de microglía expresando complejos mayores de histocompatibilidad de tipo II (MHCII) alrededor y dentro los depósitos de  $\beta$ A (Luber-Narod, J. 1988; McGeer, P. 1988). MHCII se expresa en células presentadoras de antígeno como fagocitos, linfocitos B o células dendríticas, y se relaciona con la fagocitosis.

Además, existe una relación inversa entre activación de la microglía y neurogénesis (Ekdahl, C. 2003). En el estudio de Ekdahl se mide la reducción en el número de nuevas neuronas frente a los niveles de inflamación en un modelo animal. La inhibición de la neurogénesis por parte de la activación de la microglía es revertida si se administraba minociclina, un antibiótico derivado de la tetraciclina cuyo mecanismo de acción es la síntesis proteica (Flórez, J. 2014). Es un fármaco capaz de cruzar la BHE y sus propiedades neuroprotectoras demostrada en estudios preclínicos son la reducción de los niveles de inflamación y el aumento del aclaramiento de  $\beta$ A (Budni, J. 2016). Otro estudio preclínico demuestra que la administración de minociclina aumenta el aclaramiento de  $\beta$ A vía inactivación de la microglía (García-Alloza, M. 2007). A pesar de que solo ha habido resultados de un solo ensayo clínico en 13 pacientes, donde el perfil de seguridad ha sido adecuado (Clinicaltrials.gov. (2019), un nuevo estudio pivotal está en marcha y su previsión de reclutamiento es de 480 pacientes (Gtr.ukri.org, 2019).

### 1.6.3.2 Astrocitos

Son las células gliales más abundantes, suponiendo el 25% del volumen cerebral (Tower, D. 1973). Como habíamos dicho antes no generan potenciales de acción, sino que se comunican entre ellas y con el resto de orgánulos del sistema nervioso

a través de la gliotransmisión, que son cambios en la concentración de calcio intracelular ( $\text{Ca}^{2+}_i$ ) (Volterra, A. 2005).

La proteína ácida fibrilar glial (GFAP) es el principal componente del citoesqueleto de los astrocitos. Es el marcador más usado para la determinación inmunohistoquímica de astrocitos (Ruutinen, J. 2009)

### **1.6.3.2.1 Funciones de los astrocitos.**

Además de la clásica función de sostén del sistema nervioso central, desarrollan otras muchas funciones importantes:

- Los astrocitos son importantes en el desarrollo del sistema nervioso ya que guían a los axones en crecimiento y las neuritas hacia sus *targets* (Powell, E. 1999). Además, los astrocitos también participan en la sinaptogénesis y la plasticidad sináptica, no solo durante el desarrollo embrionario, sino también tras lesiones del SNC (Pfrieger, F. 1997). Los astrocitos también participan en la neurogénesis adulta, es decir, la capacidad del cerebro adulto de crear nuevas neuronas (Gould, E. 1997). Los precursores de estas nuevas neuronas migran hacia su nuevo destino gracias a que son guiadas por astrocitos. Esto se consigue por la reorganización estructural que se produce gracias a la expresión de factores de crecimiento endotelial vascular (en inglés *vascular endothelial growth factor*, VEGF) (Bozoyan, L. 2012).
- Control de la función sináptica: los astrocitos liberan gliotransmisores que provocan cambios de  $\text{Ca}^{2+}_i$  que producen excitabilidad neuronal (Kang, J. 1998; Fellin, T. 2004). El glutamato, la D-serina o la piruvatocarboxilasa son diferentes gliotransmisores de los astrocitos. Todos estos procesos se regulan a través de la liberación de ATP (Arcuino, G. 2002).

## INTRODUCCIÓN

- Regulación del flujo sanguíneo: los astrocitos están en contacto con la musculatura lisa vascular a través de los pies perivasculares. Se ha observado un cambio en la concentración del calcio en esta región cuando se producen cambios de microcirculación vascular. Los gliotransmisores implicados podrían ser el glutamato, las prostaglandinas o el ácido araquidónico entre otros (Koehler, R. 2006). La actividad anormal de los astrocitos puede conducir a la alteración de la homeostasis de la unión neurovascular y provocar alteraciones cognitivas (Takano, T. 2007). Los astrocitos regulan la expresión de VEGF para la angiogénesis cerebrovascular adecuada y desempeñan un papel importante en la formación de la barrera hematoencefálica (Araya, R. 2008).
- Regulación del metabolismo del sistema nervioso central: la captación de nutrientes de los vasos sanguíneos por parte de los astrocitos y su posterior reparto entre todos los orgánulos del SNC es esencial para su mantenimiento. Además, los astrocitos son la reserva de glucógeno (Phelps, C. 1972) que mantiene la actividad neuronal durante la hipoglucemia y durante los períodos de alta actividad neuronal del SNC (Suh, S. 2007).
- Los astrocitos están en contacto con los pericitos vasculares de la BHE. Aunque no es conocido con exactitud la relación de astrocitos y BHE parece ser que los astrocitos a través de la liberación de factores como TGFβ o angiopeptina 1 modifica la polaridad de la BHE (Aiba, T. 1995). Como habíamos dicho, los astrocitos también participan en la formación de la BHE (Araya, R. 2008).
- Los astrocitos participan en el metabolismo lipídico, ya que son los responsables de la síntesis de colesterol y lipoproteínas como ApoE (ya que estas no proceden de sangre periférica), que participan en la movilización de estos lípidos (Vance, J. 2005). El órgano del cuerpo humano más rico en colesterol es el cerebro. La

regulación del colesterol es llevada a cabo por las neuronas y células de la glía. La desregulación del metabolismo lipídico está estrechamente ligada con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Como ya hemos visto, ApoE tiene un papel fundamental no solo en la protección de las neuronas frente a  $\beta$ A, también es antiinflamatorio (LaDu, M. 2001) y protege frente a la apoptosis (Hayashi, H.2007).

Como consecuencia de diferentes agresiones al SNC los astrocitos pueden verse alterados a nivel morfológico y funcional. Las consecuencias de estos cambios pueden dar lugar a pérdida o ganancia de función. Si existe una pérdida de función, todas las funciones anteriormente descritas se ven comprometidas. Si existe un aumento de la funcionalidad de los astrocitos se produce la astrogliosis reactiva, que es un proceso análogo a la inflamación.

Los astrocitos reactivos no solo potencian todas aquellas funciones que hemos visto anteriormente para la protección del sistema nervioso central, además tienen un papel protector como respuesta al estrés oxidativo, ya que protegen a las neuronas del ácido nítrico por medio de mecanismos glutatión-dependientes (Chen, Y. 2001). También podemos añadir que los astrocitos reactivos pueden degradar  $\beta$ A de los depósitos extracelulares (Wyss-Coray, T. 2003). La astrocitosis reactiva deja de ser un proceso fisiológico y pasa a ser un proceso patológico cuando sus consecuencias se vuelven irreversibles.

Según el daño, la astrogliosis reactiva puede tener tres grados; astrogliosis reactiva leve o moderada, severa difusa y severa con cicatriz glial. Este proceso, al igual que decíamos en el apartado anterior sobre microgliosis, es un *continuum*, es decir, hay un deterioro progresivo (Sofroniew, M. 2009):

## INTRODUCCIÓN

- Astrogliosis reactiva leve o moderada: podemos encontrar el biomarcador GFAP elevado, no hay solapamiento de los astrocitos vecinos y no hay proliferación, estamos asistiendo a un proceso aún reversible.
- Astrogliosis reactiva severa difusa: existe una elevación mayor de GFAP, con hipertrofia de cuerpos celulares, proliferación de astrocitos y solapamiento de estos.
- Astrogliosis reactiva severa con cicatriz glial: la proliferación de astrocitos es tan elevada que se producen cambios morfológicos que dan lugar a daño tisular e inflamación. Se forma una cicatriz glial de manera irreversible, que constituye un mecanismo de barrera entre el tejido sano y las zonas dañadas.

### 1.6.3.2.2 Astrogliosis y enfermedad de Alzheimer

La neurodegeneración causada por EA provoca astrogliosis reactiva y cicatriz glial. En enfermedad de Alzheimer la astrogliosis reactiva se manifiesta por un incremento en el número, tamaño y motilidad de los astrocitos alrededor de las placas seniles (Minagar, A. 2002). Es un proceso focalizado alrededor de las placas de  $\beta$ A o de los depósitos difusos de  $\beta$ A (una de las teorías es que pretende actuar como barrera neuroprotectora). Los astrocitos pueden contener material derivado de neuronas y  $\beta$ A como consecuencia de su función de eliminación de desechos en respuesta a la neurodegeneración local (Nagele, R. 2004).

Que los astrocitos pueden aumentar el aclaramiento de  $\beta$ A ya lo habíamos visto entre las funciones fisiológicas de estos (Wyss-Coray, T.2003). ApoE juega un papel muy importante en este proceso. Se ha demostrado que en ratones ApoE -/- el aclaramiento de  $\beta$ A por los astrocitos sufre una disminución muy pronunciada en comparación con ratones *wild type* (Koistinaho, M. 2004).

MCP1 es una quimiocina liberada por la activación de la microglía que guía a los astrocitos adultos a las zonas de depósito de  $\beta$ A. Allí los astrocitos expresan receptores para la unión a  $\beta$ A, RAGE y lipoproteínas de baja densidad. Este mecanismo quimiotáctico explica la alta densidad de astrocitos agregados alrededor de las placas seniles (Wyss-Coray, T. 2003).

Los astrocitos reactivos pueden aumentar la expresión de una gran cantidad de factores de la inflamación como S100 $\beta$ . Esta proteína se sobreexpresa en EA y se relaciona con la presencia de neuritas distróficas en los depósitos amiloides (Mrak, R. 1996). Otros muchos mediadores de la inflamación son liberados por los astrocitos como TGF- $\beta$ , prostaglandinas, COX-2, iNOS, etc. Estos aumentan la neurotoxicidad y la neurodegeneración, pudiendo provocar muerte neuronal (para revisión ver Akiyama, H. 2000; Akiyama, H. 2000b).

Es conocido desde hace tiempo que la activación de la microglía induce la activación de los astrocitos (Heneka, M. 2007). Estudios recientes indican que la microglía activa los astrocitos A1 por la secreción de IL-1 $\alpha$ , TNF y C1q *in vitro* e *in vivo* (Liddelow, S. 2017). Podemos clasificar los astrocitos como astrocitos A1, que favorecen la degradación del tejido y los astrocitos A2, que son reparadores e imprescindibles en la angiogénesis. Los astrocitos A2 solo son activados por daño neuronal (Bush, T. 1999). Los astrocitos A1 reactivos secretan una neurotoxina que induce la muerte de neuronas y oligodendrocitos, además han perdido la capacidad de promover la supervivencia neuronal (Liddelow, S. 2017).

También encontramos puntos comunes entre astrocitos y TAU. Se ha relacionado el nivel de astrogliosis reactiva (medida con GFAP) con los estadios de la patología neurofibrilar medida con la escala de Braak. Recordemos que esta clasificación relaciona el deterioro cognitivo del paciente con la presencia de TAU en el

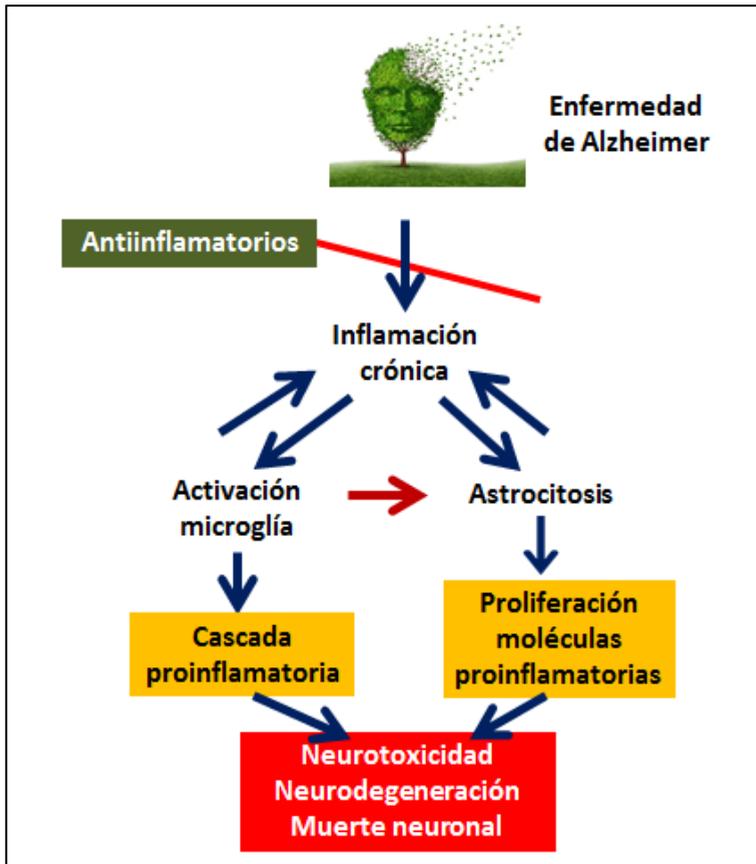
## INTRODUCCIÓN

cerebro. El daño por astrogliosis reactivo medido con GFAP aumenta en paralelo al estadio de la clasificación de Braak de patología neurofibrilar y deterioro cognitivo (Simpson, J. 2010).

Los astrocitos están en contacto íntimo con la microglía, existe una evidencia más que palpable de que existe señalización bidireccional entre estos dos tipos de células. (Van Eldik, L. 2016).

### **1.6.3.3 Relación enfermedad de Alzheimer e inflamación**

La inflamación siempre es una respuesta secundaria a un primer patógeno. En el caso de la enfermedad de Alzheimer, la formación de placas de  $\beta$ A en los primeros estadios de la enfermedad y la aparición de ovillos neurofibrilares provocan inflamación (Eikelenboom, P. 2004). La aparición de estos fenómenos está íntimamente ligada a la activación de astrogliosis reactiva y microgliosis (**fig. 1.27**). Al principio de cada apartado hemos hablado de las funciones fisiológicas de astrocitos y microglía, llegando a la conclusión de que estos tenían un papel protector frente al daño neuronal, con mecanismos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios. Pero estos mecanismos protectores pueden no ser suficientes para contrarrestar los efectos negativos de la patología. Además, no debemos olvidar que las vías proinflamatorias pueden estar alteradas en la enfermedad de Alzheimer, lo que puede provocar sobreexpresión de más factores de la inflamación. Se ha demostrado que estos no solo tienen efectos proinflamatorios sino que además potencian la neurodegeneración al aumentar la sensibilidad de las neuronas a los radicales libres (Combs, C. 2001).



**Figura 1.27. Relación entre enfermedad de Alzheimer, inflamación y células gliales.** La enfermedad de Alzheimer provoca una inflamación crónica, en su mayor parte producida por la presencia de las placas seniles de  $\beta$ A. Estos depósitos de  $\beta$ A son el principal desencadenante de la activación de la microglía y los astrocitos. Por una parte, la microglía inicia una cascada proinflamatoria que agrava aún más la patología amiloidea y por otra parte, aumenta la reactividad de los astrocitos. Los astrocitos también provocan la proliferación de moléculas inflamatorias y segregación de moléculas neurotóxicas. Todos estos factores contribuyen a la retroalimentación del proceso inflamatorio y provocan neurodegeneración y muerte celular. Como veremos en el apartado 1.13 (*Tratamiento de EA*) la terapia antiinflamatoria solo parece ser eficaz para disminuir la neuroinflamación como prevención en etapas muy tempranas de la enfermedad (Imbimbo, B. 2010).

## INTRODUCCIÓN

Como norma general, podemos decir que los mecanismos compensatorios funcionan en las fases agudas de ciertas enfermedades. La microglía aumenta el aclaramiento de  $\beta$ A y realiza su función neuroprotectora, pero con la progresión de la enfermedad y el aumento de factores proinflamatorios se va cronificando la enfermedad, no solo los mecanismos compensatorios son insuficientes, sino que hay una desregulación de los genes implicados en el aclaramiento y eliminación de  $\beta$ A que favorece aún más la patología amiloide (Hickman, S. 2008).

Dentro de nuestro estudio, la inflamación tiene un importante papel, RXR tiene también la capacidad de modular la respuesta inmune (Johnson, K. 1993). Recordemos además, que PPAR $\gamma$  está implicada en la regulación de la inflamación (Plutzky, J. 2003) y neuroinflamación (Cowley, T. 2012). Por tanto, la heterodimerización PPAR $\gamma$ -RXR no solo debería aumentar el aclaramiento de  $\beta$ A, sino además debería reducir la neuroinflamación.

Aunque las placas seniles sean el principal desencadenante del proceso inflamatorio, la activación de la microglía y los astrocitos puede darse en fases tempranas de la enfermedad, incluso en ausencia de depósitos de  $\beta$ A (Nunomura, A. 2001). En este estudio también se observa que en algunos casos se produce un aumento exacerbado de la inflamación incluso antes de la aparición de los depósitos de  $\beta$ A y que con la aparición de estos depósitos, la inflamación se vuelve menor. Nunomura conjetura que aparecen mecanismos compensatorios de la inflamación como consecuencia de la presencia de  $\beta$ A (Nunomura, A. 2001). Gracias a las imágenes obtenidas por PET y REM se ha comprobado en humanos con enfermedad de Alzheimer leve a moderada que existe una activación de la microglía mayor en etapas muy tempranas de la enfermedad en relación a las fases intermedias y avanzadas de la enfermedad (Cagnin, A. 2001).

### **1.6.4 Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer**

El estrés oxidativo es el desequilibrio entre las especies que provocan oxidación y los antioxidantes (Sies, H. 1986). Este desequilibrio está caracterizado por el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Dentro de las ROS encontramos los radicales libres, estos son fruto de procesos fisiológicos pero cuando se produce el desequilibrio oxidante-antioxidante, los radicales libres provocan daño oxidativo a las células (Slater, T. 1975). Los radicales libres son, entre otros, el ion superóxido ( $O_2^-$ ), el ion hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), el óxido nítrico ( $NO^\cdot$ ) o el ion peroxilo ( $ROO^\cdot$ ). La teoría de los radicales libres postula que los radicales libres derivados del oxígeno son los responsables del daño oxidativo a las células y tejidos asociado a la edad (Harman, D. 1956). Años más tarde, Miquel propone que las mitocondrias son un elemento clave en la generación de radicales libres, y que estas mitocondrias son a su vez diana del daño causado por las especies reactivas de oxígeno (Miquel, J. 1980). Los antioxidantes pueden ser enzimas (como catalasa, superóxido dismutasa o glutatión peroxidasa), vitaminas (como la A, C y E), u otros metabolitos, como el glutatión, el ácido úrico, la bilirrubina o la albúmina (Halliwell, B. 1995). Los antioxidantes actúan en varios niveles; previniendo la formación de radicales libres, neutralizando los radicales libres y sus precursores, uniéndose a los metales que catalizan las reacciones de oxidación o generando y regulando diferentes mecanismos defensivos, como por ejemplo la reparación del DNA, frente las ROS y los procesos oxidativos (Halliwell, B. 1995).

Los radicales libres y el daño que provocan se asocian con muchas enfermedades neurológicas como EA, Parkinson o esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Halliwell, B. 2006).

## INTRODUCCIÓN

El cerebro es un órgano rico en ácidos grasos, además consume una gran cantidad de energía y requiere de mucho oxígeno. Esto sumado a sus pocos mecanismos antioxidantes, lo hace muy vulnerable frente al estrés oxidativo (Migliore, L. 2009; Christen, Y. 2000).

La agregación de  $\beta$ A lleva a la formación de radicales libres (Hensley, K. 1994), en placas seniles y ovillos neurofibrilares se ha demostrado un aumento de marcadores de oxidación de macromoléculas (lípidos, proteínas y DNA) (Jiménez-Jiménez, F. 2006). Estos marcadores evidencian un incremento de la oxidación de estas macromoléculas en las placas seniles y en los ovillos neurofibrilares (Markesbery, W. 2006). También hallamos estos biomarcadores en tejido periférico y orina de pacientes de EA (Tuppo, E, 2001; Migliore, L. 2005). Se ha descrito *post mortem* la presencia de marcadores de peroxidación lipídica en el cerebro de pacientes con deterioro cognitivo leve, es decir, la fase más temprana de diagnóstico de la enfermedad. Este estudio sugiere que la cuantificación de los biomarcadores de peroxidación lipídica en fluidos periféricos puede ayudar a la detección temprana de los sujetos durante la fase prodrómica (Bradley-Whitman, M. 2015) Pasemos a ver con un poco más de detenimiento estos tres procesos de oxidación de macromoléculas.

### **1.6.4.1 Peroxidación lipídica**

La peroxidación lipídica provoca daños sobre todo en los ácidos grasos poliinsaturados, las neuronas tienen una alta concentración de estos ácidos grasos (Cheeseman, K. 1993). La peroxidación de lípidos afecta a las membranas, produciendo una rigidez de la misma, disminución de la actividad de las enzimas de membrana, destrucción de receptores de membrana y cambio en la permeabilidad (Wong-ekkabut, J. 2007).

Existe un aumento de marcadores de peroxidación lipídica en cerebros de pacientes de EA. Estos marcadores son las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), el malonil-dialdehído (MDA) (Palmer, A. 1994; Marcus, D. 1998) o el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) (Sayre, L. 2002). La peroxidación lipídica aparte de dañar las membranas, también genera un gran número de productos tóxicos como son los aldehídos, que tendrán efectos nocivos sobre el DNA y sobre proteínas (Dei, R. 2002).

### **1.6.4.2 Oxidación de proteínas**

La formación de carbonilo es un marcador de oxidación de proteínas. Numerosos estudios han demostrado la acumulación de proteínas carboniladas en la EA (Carney, J. 2006).

Las proteínas son muy susceptibles al ataque de los radicales libres. Esta oxidación provocará sobre todo la desnaturalización de las proteínas (Dean, R. 1993). Se ha medido la presencia de grupos carbonilo en  $\beta$ -tubulina,  $\beta$ -actina y otras proteínas estructurales, lo que demuestra su papel en la degeneración neurofibrilar de las neuronas en la enfermedad de Alzheimer (Aksenov, M. 2001). Aksenov también demuestra la presencia de proteínas carboniladas en el interior celular y el daño que provocan. Aparte de la desnaturalización de proteínas y su relación con la patogenia de TAU, la presencia de proteínas carboniladas también aumenta la peroxidación lipídica (Gasic-Milenkovic, J. 2003). Todos estos efectos patológicos de las proteínas carboniladas conduce a la muerte neuronal.

### **1.6.4.3. Oxidación del DNA**

El DNA tiene una alta sensibilidad a ser oxidado por radicales libres. Si se replica el DNA dañado antes de la replicación o la reparación del DNA se realiza de forma incorrecta, se producen mutaciones (Breen, A. 1995). El marcador de daño en

## INTRODUCCIÓN

DNA nuclear y mitocondrial es el 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG). Existe un aumento de este marcador en el cerebro de pacientes con EA (Mecocci, P. 1994). En pacientes con EA, una de las respuestas del cerebro al daño oxidativo de DNA es el aumento de los genes de las proteínas ERCC-80 y ERCC-89, proteínas involucradas en la reparación del DNA (Hermon, M. 1998).

### **1.6.4.4 Acumulación de hierro y otros metales**

La acumulación de hierro en la enfermedad de Alzheimer (Smith, M. 1997) favorece la formación de radicales libres. A pesar de que no existe un aumento de la concentración de hierro en el cerebro, sí podemos decir que existe un acúmulo de hierro, aluminio y otros metales en placas seniles y en los ovillos neurofibrilares (Jellinger, K. 1990; Good, P. 1992), lo que podría favorecer el aumento del estrés oxidativo. También se han detectado otros elementos como calcio, fósforo o sulfuro en las placas seniles (Watt, F. 1996).

Los metales pueden actuar en las reacciones químicas que dan lugar a los diferentes radicales libres, tanto como reactantes como catalizadores (Halliwell, B. 1988). Diversos estudios describen valores anormales de enzimas relacionadas con estos metales que contribuyen al estrés oxidativo, como la ceruloplasmina: enzima ferroxidasa cuya principal misión es el transporte del cobre (Loeffler, D. 1994) o el subtipo genético C2 de la transferrina, que favorece el aumento de los depósitos de hierro (Van Rensburg, 1993).

No hay relación entre ser portador del alelo ApoE4 y los niveles de marcadores de oxidación, a excepción del ácido úrico plasmático y de niveles de catecol-ortometil-transferasa en eritrocitos (Fernandes, M. 1999). Sí existe, sin embargo, relación entre ApoE4 y estrés oxidativo inducido por  $\beta$ A (Lauderback, C. 2002).

Podemos decir que la función cognitiva en EA es inversamente proporcional al estrés oxidativo sistémico. De ahí la importancia de medir los marcadores de estrés oxidativo periféricos. (Viña, J. 2004).

**1.6.5 Betaamiloidosis microvascular (angiopatía amiloidea):** la proteína  $\beta$ A también puede acumularse en el sistema circulatorio cerebral, más concretamente en la membrana basal de capilares, arteriolas y vénulas cerebrales. Se forma una banda de fibrillas de  $\beta$ A que va aumentando hasta formar una densa maraña de  $\beta$ A (Ellis, R. 1996). Aunque la angiopatía amiloidea se asocia a la EA también podemos encontrarla en otras patologías como la encefalopatía espongiiforme causada por priones o en ancianos sin enfermedad de Alzheimer (Morris, J. 1997). Estos depósitos pueden provocar accidentes vasculares cerebrales, cuya gravedad dependerá de la zona hipoperfundida y del tiempo de oclusión.

### **1.7. Envejecimiento y enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer no es igual a envejecimiento y tampoco es una consecuencia de este. El envejecimiento es un proceso fisiológico en el cual el organismo sufre una serie de cambios estructurales y funcionales debido al paso del tiempo. Si nos referimos a envejecimiento cerebral, se producen cambios morfológicos, bioquímicos y metabólicos que derivan en cambios funcionales del cerebro (Borrás, C. 2106). Cuando las adaptaciones compensatorias no son capaces de suplir las funciones fisiológicas perdidas se produce el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento (Pieramico, V. 2014). La demencia, entre ellas la enfermedad de Alzheimer que es el objeto de nuestro estudio, no forma parte del proceso fisiológico del envejecimiento. A continuación, veremos las

## INTRODUCCIÓN

diferencias entre proceso de envejecimiento normal o fisiológico y la enfermedad de Alzheimer (**tabla 1.3**).

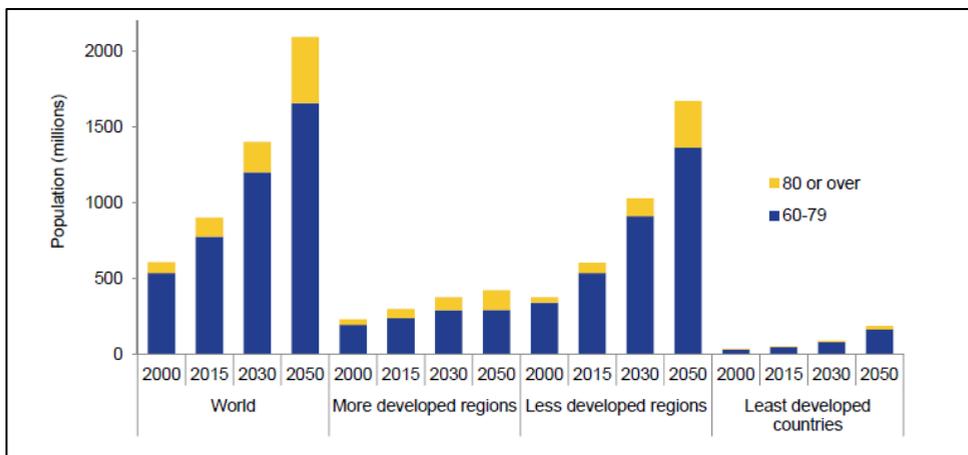
	Envejecimiento fisiológico	Enfermedad de Alzheimer	Referencia
Cambios macroscópicos	Disminución leve volumen y peso cerebral	Disminución significativa de volumen y peso del cerebro	(Newberg, A. 1996)
Recuento de células neuronales	Descenso poco marcado	Descenso importante de dendritas y espinas dendríticas	(Le, Y. 2014)
Placas de $\beta$ A	Presentes en envejecimiento	Mucho más abundante en EA	(Pensalfini, A. 2014)
Ovillos neurofibrilares de TAU	Presencia en hipocampo	Presencia en córtex y otras áreas cerebrales (criterio diagnóstico de EA)	(Duong, T. 1994)
Glía	Número de células de la microglía varía ligeramente	Aumento celular de glía e incremento en inflamación (gliosis)	(Blasko, I. 2014)
Neurotransmisores	Alteraciones en los valores de los distintos neurotransmisores	Cambios en determinados neurotransmisores	(Mora, F. 2007)
Cambios funcionales en el cerebro	Deterioro cognitivo asociado a la edad es compensado por otras funciones cerebrales. Alteración cognitiva sin repercusión en la vida diaria	Deterioro cognitivo deriva en demencia incapacitante y muerte	(Borrás, C. 2016)

**Tabla 1.3. Diferencias esenciales entre envejecimiento y Enfermedad de Alzheimer.** (Adaptado de Borrás, C. 2016).

Ronald C. Petersen establece el punto de inflexión entre envejecimiento normal y enfermedad de Alzheimer, usando por primera vez el término “deterioro cognitivo leve” (DCL), que define como la fase clínica más temprana en que se puede detectar la EA y representa la desviación inicial del envejecimiento normal (Petersen, R. 1999).

### **1.7.1 La pirámide poblacional se invierte: el envejecimiento de la población mundial**

El número de personas ancianas en el mundo ha aumentado sustancialmente y se espera que este crecimiento se acelere en las próximas décadas (UN.org. 2015).



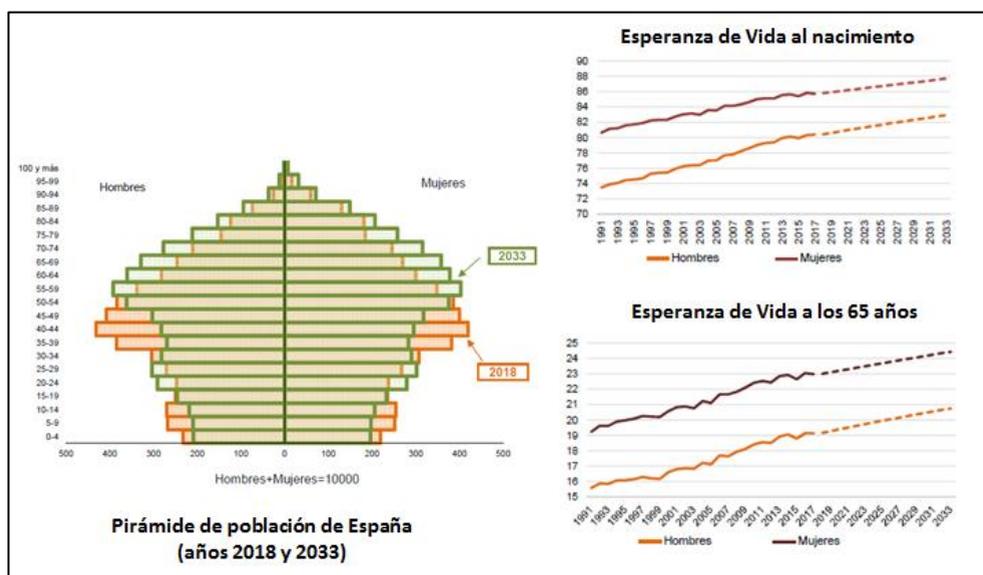
**Figura 1.28. Población entre 60-79 años y mayor de 80 años en el mundo, según el grado de desarrollo del país al que pertenecen (UN.org. 2015).**

En la **figura 1.28** podemos ver los datos de población anciana en el mundo desde el año 2000 y la previsión de crecimiento hasta 2050. De aquí a mediados del siglo XXI no solo se espera a nivel mundial un aumento de la población anciana, sino también que el grupo poblacional que supere los 80 años haya crecido considerablemente. En los países desarrollados se producirá un envejecimiento notorio, pero será en los países en desarrollo donde habrá un crecimiento más

## INTRODUCCIÓN

pronunciado. Este será uno de los factores que puede provocar el aumento de los casos de EA en países en desarrollo. En los países menos desarrollados también habrá un crecimiento de los dos grupos de población: entre 60-80 años y personas mayores de 80 años (UN.org. 2015).

En cuanto a los datos en España, en la **figura 1.29** podemos ver los datos demográficos por edad y sexo del Instituto Nacional de Estadística (INE) en 2018 y las previsiones para 2033.



**Figura 1.29.** Datos del Instituto Nacional de Estadística sobre población anciana en España en 2018 y previsión para 2033. Pirámide poblacional en España 2018 y 2033 (Fuente: INE, 2018)

En la pirámide de población de 2018 ya podemos ver como es una pirámide invertida, signo evidente del envejecimiento que sufre nuestro país. En la gráfica superpuesta de la **figura 1.29** (previsión para 2033), vemos como aumenta la población anciana mientras disminuye la población joven. Se define “esperanza de vida al nacimiento” al número de años que en promedio esperaríamos vivir una

persona si durante toda su vida estuviera sujeta a las condiciones de mortalidad por edad observadas en el período de estudio. La esperanza de vida en España en 2018 es de 80,43 años para los hombres y de 85,80 años para las mujeres. La esperanza de vida al nacimiento llegará en 2033 a los 82,9 años en hombres y a los 87,7 años en mujeres, con una ganancia respectiva de 2,5 y 1,9 años. La esperanza de vida a los 65 años indica el número de años que una persona que tuviera 65 años cumplidos en el año de referencia podría vivir si se mantuvieran las pautas de mortalidad registradas en ese año. Una mujer que alcance en 2033 los 65 años, vivirá de promedio 24,4 años más frente a los 23,0 actuales o los 19,1 en el año 1991 (en hombres será de 20,7 años en 2033, frente a los 19,1 actuales o los 15,6 del año 1991) (INE.es. 2018).

### **1.8. Fases de la enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer es un proceso muy lento, un *continuum* donde se produce un deterioro cognitivo progresivo. Desde el comienzo de la enfermedad, que podríamos establecer en la aparición de los primeros depósitos de  $\beta$ A, hasta la demencia pueden pasar 20 años. Desde el inicio de la demencia, pueden pasar aproximadamente 4,2 años hasta la atrofia del hipocampo y 3,3 años hasta el deterioro de la memoria (Villemagne, V. 2013).

Existen 3 fases, la asintomática, el deterioro cognitivo leve y la etapa de demencia. La segunda y la tercera constituyen las fases sintomáticas. Se utilizan varias escalas para monitorizar la progresión de la EA, una de las más usadas es la escala *Clinical Dementia Rating* (CDR) (Morris, J. 1993). Esta escala diferencia seis categorías cognitivas y conductuales: memoria, orientación, juicio y solución de problemas, actividades sociales, actividades domésticas (y aficiones) y cuidado personal. Las puntuaciones van de 0 a 3, siendo 3 el grado más grave (**tabla 1.4**).

# INTRODUCCIÓN

Área	Sanos (CDR 0)	Demencia cuestionable (CDR 0,5)	Demencia leve (CDR 1)	Demencia moderada (CDR 2)	Demencia grave (CDR 3)
<b>Memoria</b>	Sin pérdida de memoria. Olvidos de poca importancia.	Olvidos consistentes leves: recuerdo parcial de acontecimientos. Olvidos "benignos".	Pérdida de memoria moderada, más marcada para acontecimientos recientes; el defecto interfiere con actividades diarias.	Grave pérdida de memoria; retención exclusiva de material muy importante; pérdida rápida de material nuevo.	Grave pérdida de memoria, sólo quedan fragmentos.
<b>Orientación</b>	Completamente orientado.	Completamente orientado	Algunas dificultades con relaciones temporales; orientados por lugar y persona durante la prueba pero puede haber desorientación geográfica.	Habitualmente desorientación temporal, a menudo de lugar.	Orientación sólo respecto a personas.
<b>Juicio y resolución de problemas</b>	Resuelve bien problemas cotidianos; juicio bueno en relación al rendimiento pasado.	Sólo deterioro dudoso en la resolución de problemas. Similitudes/ diferencias	Dificultad moderada para manejar problemas complejos; juicio social suele mantenerse.	Manejo de problemas gravemente deteriorado. Similitudes/diferencia s; juicio social suele estar deteriorado.	Incapaz de intentar juicios o resolver problemas.
<b>Vida social</b>	Función independiente en nivel habitual de trabajo, compras, negocios y asuntos financieros, grupos sociales y voluntarios.	Deterioro dudoso o leve si es que existe, en estas actividades.	Incapaz de funcionar independientemente en estas actividades aunque todavía puede realizar algunas; puede aparecer normal en contacto casual.	Ninguna pretensión de funcionamiento independiente fuera del hogar.	Ninguna pretensión de funcionamiento independiente fuera del hogar.
<b>El hogar y las aficiones</b>	Vida doméstica, aficiones, intereses intelectuales se mantienen bien.	Vida doméstica, aficiones, intereses intelectuales se mantienen bien, sólo ligeramente deteriorados.	Leve pero definitivo deterioro de función doméstica; se abandonan las tareas más difíciles; se abandonan aficiones e intereses más complejos.	Sólo se conservan las tareas más sencillas; intereses muy limitados. Mantenimiento pobre.	Ninguna función doméstica significativa fuera de la habitación propia.
<b>Cuidado personal</b>	Totalmente capaz de cuidarse de sí mismo.	Totalmente capaz de cuidarse de sí mismo.	Necesita estimulación ocasional.	Necesita asistencia para vestirse, lavarse y cuidar de sus efectos personales.	Requiere mucha ayuda para el cuidado personal; a menudo incontinente.

**Tabla 1.4. Escala CDR de evaluación de demencia.** (Adaptado de Morris, J. 1993; López Mongil, R. 2016).

La Escala Global de Deterioro (en inglés *Global Deterioration Scale*, GDS) (Reisberg, B. 1982) valora los niveles de funcionalidad del paciente en su vida diaria. Se divide en siete categorías: la etapa 1 corresponde a un sujeto sano, mientras las etapas 2 y 3 son de pre-demencia. Durante las etapas 4 y 5 el paciente aún conserva una cierta autonomía, requiriendo de cuidados especiales en las últimas etapas (demencia severa).

Para alcanzar mayor precisión en la categorización de la enfermedad, disponemos de otras escalas con mayor sensibilidad, como es la Escala de Estratificación de la Evaluación Funcional (en inglés, *Functional Assessment Staging*, FAST) (Reisberg, B. 1988). Divide la evolución de la enfermedad en 7 estadios tal y como hace la GDS, pero a su vez subdivide las etapas 6 y 7 en cinco subestadios. Posee una mayor sensibilidad en las fases más avanzadas de la enfermedad. En las etapas finales de la escala FAST podemos ver claramente la retrogénesis, es decir, la pérdida de capacidades en sentido inverso a como se han ido adquiriendo durante el desarrollo humano (Reisberg, B. 2002).

En la tabla de la página siguiente (**tabla 1.5**) veremos la correspondencia entre las escalas de valoración de demencia GDS y FAST:

## INTRODUCCIÓN

Escala GDS		Escala FAST		Descripción
1	Paciente sano	1	Paciente sano	No existe pérdida de memoria ni quejas subjetivas u objetivas
2	Deterioro cognitivo muy leve	2	Adulto anciano sano	Pérdida cognitiva fisiológica
3	Deterioro cognitivo leve	3	EA prodrómica	Olvidos de memoria, falta de orientación
4	EA leve	4	EA leve	Actividades cotidianas comprometidas, pérdida de memoria reciente
5	EA moderada	5	EA moderada	Dependiente en ciertas actividades (vestirse)
6	EA moderada severa	6a	EA moderada-severa	Incapaz de vestirse correctamente
		6b	-	Incapaz de bañarse correctamente
		6c	-	Incapaz de utilizar el váter
		6d	-	Incontinencia urinaria
		6e	-	Incontinencia fecal
7	EA severa-grave	7a	EA grave	Pérdida progresiva de capacidades motoras y verbales
		7b	-	Solo repite una palabra una y otra vez
		7c	-	Incapaz de caminar
		7d	-	Pierde capacidad de sonreír
		7e	-	Pierde capacidad de sostener la cabeza

**Tabla 1.5. Escalas de evaluación de la demencia GDS y FAST** (Adaptado de Reisberg, B. 1982; Reisberg, B. 1988).

### **1.9. Factores de riesgo de la Enfermedad de Alzheimer**

Definimos factor de riesgo como aquello que incrementa su probabilidad de contraer una enfermedad o condición. Con excepción de la EA causada por mutaciones genéticas, esta enfermedad aparece como el resultado de múltiples factores.

#### **1.9.1 Factores no modificables:**

**1.9.1.1 Edad:** la edad es el factor de riesgo más importante para desarrollar la enfermedad de Alzheimer (Hebert, L. 2010). Cuando aumenta la edad, también aumenta la probabilidad de sufrir EA. A pesar de ello, esta enfermedad no forma parte del proceso de envejecer y por sí solo no es suficiente para causar la enfermedad.

**1.9.1.2 Antecedentes familiares:** no es necesario tener antecedentes familiares para desarrollar la enfermedad, pero existen estudios que confirman que tener familiares de primer grado de consanguinidad eleva el riesgo de padecer la enfermedad frente a los que no tienen (Loy, C. 2014). Las mutaciones genéticas y la presencia del alelo ApoE 4 son las principales causas y serán explicadas en el próximo apartado.

#### **1.9.1.3 Factores genéticos**

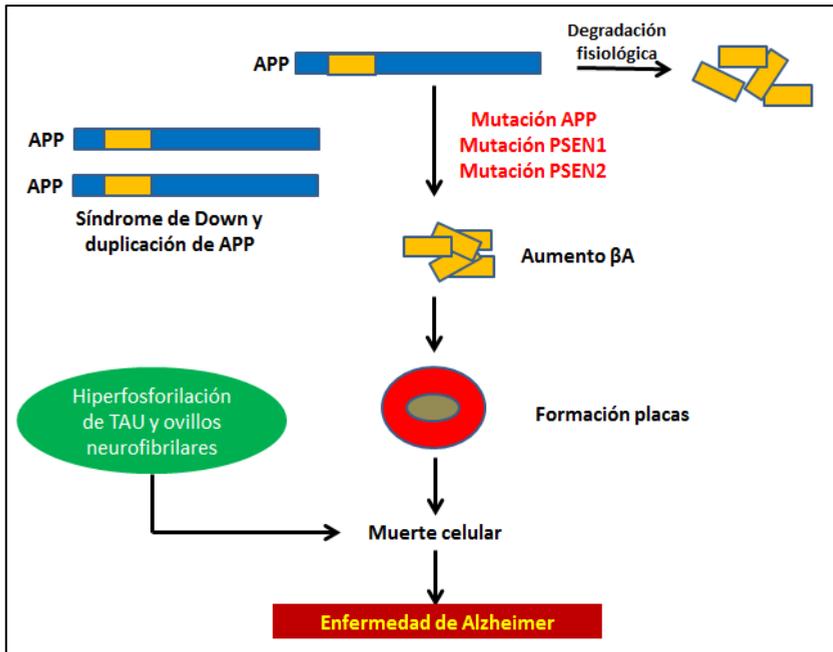
1.9.1.3.1 Síndrome de Down: el síndrome de Down es una enfermedad rara (según la OMS, aquella que afecta a menos de 5 de cada 10.000 habitantes) donde la persona nace con una copia completa o parcial del cromosoma 21. Alrededor de los cuarenta años, las personas con síndrome de Down suelen presentar placas de  $\beta$ A y ovillos de TAU característicos de la enfermedad de Alzheimer (Lott, I. 2010).

## INTRODUCCIÓN

El cromosoma 21 incluye un gen que codifica para la producción de APP (**fig. 1.30**). Los primeros síntomas de EA suelen aparecer a partir de los 50 años y se estima que un 75% de personas con síndrome de Down mayores de 65 años sufren EA (Coppus, A. 2006). Poseer ApoE4 predispone a un inicio más temprano de la enfermedad. Las personas con síndrome de Down portadores de la apolipoproteína ApoE4 suelen morir más jóvenes que aquellos que no poseen ningún alelo ApoE4 (Prasher, V. 2008).

1.9.1.3.2 Mutaciones genéticas: una mutación genética es un cambio en la secuenciación de DNA. Un 5% de los casos de EA son debidos a la mutación en uno de estos tres genes autosómicos dominantes: el gen para el APP (Goate, A. 1991) o los genes para la presenilina 1 (Sherrington, R. 1995) y presenilina 2 (Levy-Lahad, E. 1995) (**fig. 1.30**).

Individuos que presentan mutaciones en cualquiera de estos tres genes tienden a desarrollar los síntomas de la enfermedad mucho antes que aquellos que no tienen estas mutaciones (Levy-Lahad, E. 1998). La mutación de presenilina 1 es la causa más frecuente de EA familiar temprana, ocurre en el 11% de los pacientes remitidos a estudio genético (Rogaeva, E. 2001).



**Figura 1.30. Hipótesis de la cascada amiloidea y patogénesis en EA en relación con factores genéticos.** Los tres genes responsables de la enfermedad de Alzheimer familiar están implicadas la producción del  $\beta A$  y su posterior agregación en placas amiloideas.

1.9.1.3.3 Alelo ApoE  $\epsilon 4$ : La herencia del alelo de la apolipoproteína (ApoE)  $\epsilon 4$  es el único factor de riesgo genético establecido para la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía (Corder, E. 1993). Un individuo puede ser homocigoto para el alelo ApoE 4 (posee dos alelos  $\epsilon 4$ ), heterocigoto para  $\epsilon 4$  (solo uno de los dos alelos es  $\epsilon 4$ ) o no portador de ApoE4 (William Rebeck, G. 1993).

Tal y como habíamos visto en el apartado 1.6.1.3, poseer un solo alelo  $\epsilon 4$  aumenta cuatro veces la probabilidad de padecer EA (Mayeux, R. 2006), mientras la configuración homocigótica aumenta en doce el riesgo (Verghese, P. 2011). Se estima que la proporción de pacientes atribuible al alelo ApoE4 es de un 20% (Slooter, A. 1998). La presencia de uno o dos pares de alelos  $\epsilon 4$  no solo aumenta

## INTRODUCCIÓN

el riesgo de aumentar el riesgo de padecer EA, sino además provoca que la sintomatología aparezca antes (Farrer, L. 1997). Se estima que la media de edad de aparición de la enfermedad es de 68 años en homocigotos  $\epsilon 4$ , 76 años en heterocigotos para  $\epsilon 4$  y 84 años para pacientes no portadores de ningún alelo ApoE4 (Liu, C. 2013). Este mismo estudio fija la frecuencia de aparición de la enfermedad para homocigotos en un 94%, para heterocigotos en un 47% y no portadores en un 20%.

### **1.9.2 Factores de riesgo modificables**

**1.9.2.1 Factores de riesgo cardiovascular:** una buena salud cerebral debe ir ligada al buen estado funcional del corazón y el sistema circulatorio. Un corazón sano nos asegura que la sangre sea convenientemente bombeada a través del sistema circulatorio y lleve todos los nutrientes y el oxígeno necesario al cerebro. El riesgo de enfermedad de Alzheimer aumenta con el número de factores de riesgo cardiovascular. La diabetes y el tabaquismo son los dos factores de riesgo cardiovascular más fuertes cuando aparecen en solitario o se unen a otros factores, pero la hipertensión y las enfermedades coronarias también aumentan considerablemente el riesgo de padecer EA cuando aparecen en sinergia con otras (Luchsinger, J. 2005). El riesgo de padecer EA es más alto si los factores de riesgo cardiovascular han estado presentes durante la mediana edad del individuo (40-60 años) (Kivipelto, M. 2001).

**1.9.2.1.1 Obesidad:** existen estudios contradictorios en cuanto a la relación entre adipocitos y demencia. Mientras la leptina es una proteína producida por el tejido adiposo que inhibe la ingesta de alimentos y aumenta el gasto energético para mantener el peso corporal, la adiponectina es una adipocitoquina sintetizada y secretada exclusivamente por el tejido adiposo que participa en el metabolismo

de ácidos grasos y la glucosa, poseyendo propiedades antiaterogénicas y antidiabéticas. La leptina se ha relacionado con una reducción de la incidencia de la enfermedad de Alzheimer (Lee, E. 2011) mientras la adiponectina es una citoquina relacionada con una mayor incidencia de la enfermedad (Kiliaan, A. 2018). Esto explicaría que individuos con un índice de masa corporal medio, tienen menos riesgo de sufrir demencia que individuos con índice de masa corporal bajo o con sobrepeso (Anstey, K. 2011). La relación entre obesidad y EA varía con el tiempo, es una relación más fuerte en individuos de mediana edad, sin embargo en individuos más ancianos, se aprecia que la obesidad está asociada a un menor riesgo de demencia (Luchsinger, J. 2007).

Las alteraciones metabólicas producidas por la obesidad podrían ser el principal mecanismo por el cual la obesidad se convierte en un factor de riesgo importante para la enfermedad de Alzheimer. Los cambios en la tolerancia periférica a la glucosa e insulina pueden afectar a la utilización de la glucosa cerebral (Kothari, V. 2017). El aumento de la inflamación también jugará un rol importante en el aumento del daño neuronal en pacientes obesos, ya que el tejido adiposo periférico libera múltiples citoquinas inflamatorias como  $TNF\alpha$  e IL-6, (Hotamisligil, G, 1995; Liu, C. 2013).

El déficit cognitivo aumenta en pacientes obesos portadores de ApoE  $\epsilon 4$ . Estos tienen niveles significativamente más altos de glucosa e insulina (Arbones-Mainar, J. 2008) y un mayor riesgo de síndrome metabólico, con una edad de inicio más temprana (Torres-Perez, E. 2016). Además, pacientes con al menos un alelo  $\epsilon 4$  tienen mayores niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos y presentan resistencia a la insulina (Elosua, R. 2003). La combinación de obesidad y ApoE  $\epsilon 4$  no sólo está asociada a efectos metabólicos nocivos, también a déficit cognitivo (Ghebranious, N. 2010).

## INTRODUCCIÓN

Se estima que un 3-4% de la población mundial sufre obesidad (con gran variación entre países ricos y países en desarrollo) (Kelly, T. 2008). Se estima que un 2% de los casos de EA son atribuibles a la obesidad en la mediana edad (40-60 años). Una reducción de la prevalencia de la obesidad en un 25% podría suponer una reducción de 166.000 casos de EA en el mundo (Barnes, D. 2011).

1.9.2.1.2 Sedentarismo: la actividad física tiene un efecto protector frente a la EA por varios motivos, promueve la movilización de grasas disminuyendo la obesidad, aumenta el consumo de glucosa mejorando el perfil de la insulina y aumenta el flujo cerebral. Tanto estudios preclínicos (Adlard, P. 2005) como metanálisis (Hamer, M. 2008) han demostrado que el ejercicio físico disminuye las placas de  $\beta$ A en cerebro. Se estima que el 17,7% de la población mundial tiene hábitos sedentarios (Guthold, R. 2008). En el estudio de Barnes se atribuyen un 13% de los casos de EA a la inactividad física. Barnes estima que disminuyendo un 25% la prevalencia de inactividad física, se conseguiría reducir en 1,000.000 de casos la EA (Barnes, D. 2011).

1.9.2.1.3 Tabaco: los fumadores tienen entre dos y cuatro veces más riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer que los no fumadores, en especial aquellos que poseen el alelo ApoE4 (Merchant, C. 1999). El aumento de especies inflamatorias como la proteína C reactiva (Bakhru, A. 2005), el aumento del estrés oxidativo (Bruno, R. 2006) y la sinergia con otros factores de riesgo cardiovascular (Luchsinger, J. 2005) explicarían el aumento del riesgo de padecer EA en fumadores. No hay datos suficientes para determinar el riesgo de padecer EA en exfumadores (Anstey, K. 2007). Una reciente revisión de Stirland concluyó que había una evidencia muy baja entre fumadores pasivos y aumento de riesgo de déficit cognitivo o demencia (Stirland, L. 2017).

Sin embargo, en estudios preclínicos donde la nicotina no se administraba a través del tabaco, se demostró que esta podía tener un efecto protector frente a la EA (Nordberg, A. 2002). Se sugiere que la nicotina puede tener un efecto protector frente a EA, ya que produce aumentos del receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR), contrarrestando así la pérdida que se produce de estos receptores en la EA. De esta observación nace el uso de agonistas nicotínicos como posible tratamiento de la EA (Lippiello, P. 2006).

Se estima que el 27,4% de la población mundial fuma (Storr, C. 2009). Se calcula que un 14% de los casos de EA en el mundo se atribuyen al tabaco. Reducir un 25% la prevalencia del tabaco significaría una disminución de cerca de un millón de enfermos de Alzheimer (Barnes, D. 2012).

1.9.2.1.4 Diabetes: La *diabetes mellitus* tipo 2 (DM II) incrementa por dos el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer (Leibson, C. 1997). Los mecanismos por los cuales la DM II provoca EA son la hiperinsulinemia, los productos avanzados de glicación (AGE) y el estrés oxidativo. Recordemos que en el capítulo de mecanismos fisiopatológicos habíamos visto como la insulina puede cruzar la barrera hematoencefálica (BHE) y aumentar en ancianos los niveles de  $\beta A_{42}$  en LCR (Watson, G. 2003). La enzima degradadora de insulina (IDE) es una proteasa presente en cerebro que ayuda al aclaramiento cerebral de  $\beta A$ . La insulina que ha atravesado la BHE y el  $\beta A$  son dos sustratos competitivos para IDE (Farris, W. 2003). Por su parte, los productos avanzados de glicación (AGE) son un grupo heterogéneo de compuestos generados a través de la glicación no enzimática de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La unión de los AGE a su receptor RAGE, introducirá a través de la BHE en el cerebro el  $\beta A$  que ya había sido aclarado previamente por este, aumentando de esta forma el daño neuronal provocado por el  $\beta A$  como ya habíamos visto en el apartado 1.6.1.1.2 (Entrada en el cerebro

## INTRODUCCIÓN

de  $\beta$ A a través de la barrera hematoencefálica (BHE) por los receptores RAGE). Todas estas observaciones reforzaron el uso de la rosiglitazona como tratamiento de la EA (además rosiglitazona es un agonista de PPAR $\gamma$ , lo que sumaba otro mecanismo de acción más frente a la enfermedad, aunque otros factores, como la absorción a través de la BHE y su toxicidad han desaconsejado su uso, tal y como veremos en el capítulo de tratamientos). Teniendo en cuenta que la prevalencia de la DM es alrededor de un 6,4% en el mundo (Shaw, J. 2010) y que un 2% de los casos de EA son atribuibles a la DM como principal factor de riesgo, se estima que disminuyendo la prevalencia de diabetes en un 25%, se podrían prevenir 200.000 casos de EA en el mundo (Barnes, D. 2012).

1.9.2.1.5 Hiperlipemia: Los lípidos tienen un papel vital en muchos de los mecanismos patológicos implicados en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Niveles altos de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL), son factores de riesgo para la aterosclerosis carotídea y la enfermedad de las arterias coronarias (Reitz, C. 2004, Sharrett, A. 1994) lo que puede dar lugar a un deterioro cognitivo secundario debido a la hipoperfusión cerebral o embolia (Breteler, M. 1994). El estrés oxidativo y la oxidación de lípidos en particular, tienen un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, ya que la peroxidación lipídica puede influir en la permeabilidad de la membrana neuronal, afectando la función celular y dañando la membrana. (Hall, E. 1986). El cerebro puede ser particularmente susceptible al daño oxidativo de los lípidos debido a su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Recientes y diversos estudios genéticos vinculan el metabolismo del colesterol con el riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer. De todos los genes que hasta la fecha conocemos con certeza que están implicados en la enfermedad de Alzheimer sabemos que hay

cuatro relacionados con el metabolismo del colesterol: *ApoE*, *clusterina (CLU)*, *ATP-binding cassette sub-family A member 7 (ABCA7)*, y *Sortilin Related Receptor 1 (SORL1)* (Reitz, C. 2013).

Podemos concluir este apartado diciendo que existe una asociación entre dislipemias y deterioro cognitivo, aunque sus mecanismos no son totalmente conocidos. A pesar de que se recomienda la prevención y tratamiento de las dislipemias en pacientes de mediana edad, no se recomienda el uso de estatinas como prevención de la enfermedad de Alzheimer (Appleton, J. 2017).

1.9.2.1.6 Hipertensión: La hipertensión arterial (HTA) puede aumentar el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer ya que tiene efecto sobre la integridad vascular de la barrera hematoencefálica (BHE), que da como resultado la extravasación de proteínas en el tejido cerebral. (Kalaria, R. 2010). A su vez, la extravasación de proteínas puede provocar daño celular, una reducción de la función neuronal o sináptica, apoptosis y un aumento en la acumulación de A $\beta$  que resulta en deterioro cognitivo (Deane, R. 2004). Sin embargo con la edad, la hipertensión puede disminuir el riesgo de padecer EA e incluso ser un factor protector ya que después de la aparición de la EA la presión sanguínea tiende a disminuir, como resultado de la rigidez del vaso, la pérdida de peso y los cambios en la regulación autónoma (Lithell, H. 2003).

En el reciente estudio HUNT, un estudio retrospectivo con datos de 25.000 pacientes durante el período 1995-2011 ha demostrado que existe una relación entre hipertensión y EA en pacientes mayores de 60 años. Entre los sujetos de mediana edad (menos de 60 años), la presión arterial sistólica elevada y la presión del pulso se asociaron con la enfermedad de Alzheimer en individuos que habían tomado medicamentos antihipertensivos. (Gabin, J. 2017).

## INTRODUCCIÓN

La variabilidad de la presión sistólica ha sido asociada con demencia, y una gran variabilidad de esta podría ser un predictor de rápida progresión de la enfermedad (Lattanzi, S. 2015).

La HTA como principal factor de riesgo en individuos de mediana edad, puede provocar un 5% de los casos de EA. Teniendo en cuenta que el 8,9% de la población mundial de entre 40 y 60 años sufre HTA (Kearney, P. 2005), una reducción de un 25% en los casos de hipertensión en pacientes de mediana edad podría suponer una reducción de 400.000 pacientes con EA (Barnes, D. 2012).

1.9.2.1.7 Síndrome metabólico: no solo se han estudiado los factores de riesgo cardiovasculares por separado, también se ha evaluado la relación entre síndrome metabólico (SM) y enfermedad de Alzheimer. Se define síndrome metabólico como el conjunto de factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular y la *diabetes mellitus* tipo 2 que suelen presentarse juntos con frecuencia (Alberti, K. 2010). Estos cuadros son hipertensión arterial, niveles elevados de azúcar en sangre, niveles sanguíneos elevados de triglicéridos, bajos niveles en sangre de colesterol HDL y exceso de grasa alrededor de la cintura.

Para el diagnóstico de síndrome metabólico se consideran necesarios 3 de los 5 criterios diagnósticos que se detallan a continuación:

1) Perímetro abdominal aumentado, varía según la región, en Europa se suelen emplear las recomendaciones de la Sociedad Europea de Cardiología para la prevención Cardiovascular, que sitúa el corte en  $\geq 102$  cm para los hombres y  $\geq 88$  cm en mujeres.

2) Hipertrigliceridemia (o tratamiento farmacológico en su defecto):  $\geq 150$  mg/dL

3) Disminución HDL (o tratamiento farmacológico si procede): < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres.

4) Hipertensión arterial: PAS  $\geq$  130 mmHg y/o PAD  $\geq$  85 mmHg/dL

5) Glucosa alterada en ayunas (o tratamiento farmacológico)  $\geq$  100 mg/dL (Alberti, K. 2010)

Varios estudios confirman la relación directa entre síndrome metabólico y enfermedad de Alzheimer (Raffaitin, C. 2008, Solfrizzi, V. 2009).

<b>Factor de riesgo</b>	<b>Criterio diagnóstico (se necesitan al menos 3 criterios para diagnóstico de SM)</b>
Hipertensión arterial	PAS $\geq$ 130 mmHg y/o PAD $\geq$ 85 mmHg/dL
Niveles elevados de azúcar en sangre	Glucosa alterada en ayunas $\geq$ 100 mg/dL
Bajos niveles sanguíneos de colesterol HDL	HDL: < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres.
Niveles sanguíneos elevados de triglicéridos	Hipertrigliceridemia $\geq$ 150 mg/dL
Exceso de grasa alrededor de la cintura	Perímetro abdominal aumentado, $\geq$ 102 cm para los hombres y $\geq$ 88 cm en mujeres

**Tabla 1.6. Factores de riesgo para síndrome metabólico y criterios diagnósticos**

### **1.9.3 Factores sociales:**

Los factores premórbidos son aquellos ya existentes en un individuo antes de la aparición de la enfermedad. Las condiciones premórbidas asociadas a la EA son el nivel educativo, la reserva cognitiva, el compromiso social, el estrés y la depresión.

## INTRODUCCIÓN

**1.9.3.1 Educación:** este es el factor más estudiado, el nivel educativo se corresponde con la probabilidad de sufrir la EA. En un estudio en niños nacidos en Aberdeen en 1921 se asoció la menor capacidad mental con la aparición de demencia en la vejez, más concretamente se asoció a EA de aparición tardía (es decir, la no genética). El bajo nivel educativo venía asociado a otros problemas de la infancia, como mala alimentación, nivel sanitario, circunstancias familiares, etc. (Whalley, L. 2000). En este mismo apartado también podríamos añadir la capacidad lingüística. En el famoso “estudio de las monjas”, Snowdon asoció la baja complejidad gramatical y la menor densidad de ideas durante la juventud con el hecho de padecer Alzheimer en la vejez. (Snowdon, D. 1996).

Un metanálisis de 2006 que analiza la asociación entre baja educación y riesgo de EA da datos definitivos sobre el incremento de padecer la enfermedad entre personas que no tienen estudios o que han completado fases de la educación elemental (Caamaño-Isorna, F. 2006). Los programas de formación educativa en personas mayores en riesgo de padecer algún tipo de deterioro cognitivo o demencia han dado buenos resultados, mejorando la función cognitiva (Ball, K. 2002).

Se estima que un 14,8% de la población mundial no tiene estudios, mientras un 25,2% solo ha cursado estudios primarios (Barro, R. 2013). Alrededor del 19% de los casos de EA son atribuibles a una baja educación. Se estima que una reducción de la prevalencia de baja educación del 25% supondría una reducción de 1,4 millones de casos de enfermedad de Alzheimer en el mundo (Barnes, D. 2012).

**1.9.3.2 Reserva cognitiva:** se define como la capacidad del cerebro para adaptarse a los efectos patológicos producidos por las enfermedades neurodegenerativas como demencia o enfermedad de Alzheimer (Andel, R. 2006).

Esta reserva cognitiva puede ser innata o bien ser resultado de las circunstancias de cada individuo, entre ellas la educación o la ocupación laboral. El riesgo de demencia es menor en aquellas personas con educación superior, cociente intelectual y aquellas que presentan más actividades de ocio que estimulan el sistema cognitivo (Ravdin, L. 2007). Cuando los marcadores de reserva cognitiva están combinados disminuye el riesgo de sufrir EA (Valenzuela, M. 2008).

**1.9.3.3 Compromiso social:** a menor grado de actividad y relaciones sociales, mayor probabilidad de sufrir EA (Kondo, K. 1994). Otro estudio relaciona el carecer de metas vitales con el desarrollo de la enfermedad. La conclusión del estudio es que tener propósitos de vida superiores en la vida reduce la patogenicidad de la enfermedad de Alzheimer (Boyle, P. 2010).

**1.9.3.4 Estatus socio-económico:** el estatus social y la posición económica baja pueden ser factores de riesgo para la EA (Evans, D. 1997). Este estatus influye en múltiples factores, como pueden ser la educación, la alimentación o el poder realizar ciertas actividades que aumenten la reserva cognitiva.

**1.9.3.5 Estrés:** diversos estudios han demostrado que trastornos somáticos producidos por el estrés pueden desencadenar la enfermedad de Alzheimer o ser un factor de riesgo de padecerla. El estrés emocional puede aumentar hasta en diez veces el riesgo de sufrir EA (Kelly, J. 2004). Un estudio a tener en cuenta revela que la pérdida del cónyuge o un hijo no supone un mayor riesgo de padecer EA (Jorm, A. 1991). Este hecho quizás ponga en evidencia el sesgo en este tipo de estudios, por la gran variabilidad interindividual frente a situaciones de estrés post-traumático, estrés emocional, etc.

**1.9.3.6 Depresión:** como habíamos descrito anteriormente, uno de los primeros síntomas de la EA es la depresión. En este punto podemos describir dos

## INTRODUCCIÓN

escenarios, un primer grupo de pacientes que nunca han sufrido depresión y que esta aparezca a una edad relativamente avanzada puede ser un punto clave para la anamnesis de la enfermedad. En un segundo escenario, el paciente premórbido ya sufría la depresión antes de aparecer la enfermedad. Muchos han sido los estudios que han definido la depresión como un factor de riesgo para sufrir EA (Green, R. 2003; Ownby, R. 2006; Diniz, B. 2013). Haber tenido episodios anteriores de depresión aumenta el riesgo de padecer EA, este riesgo es especialmente mayor en mujeres (De Oliveira, F. 2014). Cirrito relaciona el uso de cierto tipo de antidepresivos (los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, ISRS) con un aumento del aclaramiento de  $\beta$ A en modelos animales (Cirrito, C. 2011). Es interesante en este sentido el estudio de Burke que analiza EA en función de 4 variables: ApoE, el haber padecido episodios de depresión recientes (menos de dos años), el hecho de que la depresión haya sido o no tratada y el tipo de antidepresivo empleado (Burke, S. 2017). Poseer al menos un alelo ApoE4 aumentaba significativamente el riesgo de padecer EA en aquellos pacientes que habían tenido episodios recientes de depresión y que no estaban siendo tratados de esta dolencia (factores que por sí solo ya eran factor de riesgo de la EA).

Las concentraciones altas de cortisol en LCR se asocian a mayor frecuencia del alelo ApoE4 y a una menor frecuencia del alelo ApoE2 en pacientes con enfermedad de Alzheimer respecto a pacientes de grupo control (Peskind, E. 2001). El cortisol es una hormona que se libera en respuesta al estrés y produce depresión, cansancio y debilidad.

Se estima que en el primer mundo hay una prevalencia del 5,5% de depresión, mientras países en desarrollo tienen una prevalencia del 5,9% (Kessler, R. 2010). Cerca de un 10% de los casos de EA pueden ser atribuibles a la depresión. Una

reducción del 25% en la prevalencia de la depresión supondría unos 826.000 casos menos de EA en el mundo (Barnes, D. 2012). La depresión suele presentar una buena respuesta clínica a su tratamiento, comparado con otros síntomas de la enfermedad de Alzheimer como puede ser la agitación o el deterioro cognitivo. Es importante un diagnóstico correcto y un tratamiento precoz, ya que el tratamiento contra la depresión además de mitigar los efectos de esta, podría disminuir el riesgo de sufrir la enfermedad de Alzheimer.

### **1.9.4 Otros factores**

**1.9.4.1 Alcohol:** un estudio preclínico reciente demuestra que el alcohol afecta a genes relacionados con la microglía, alterando su capacidad de eliminación de la proteína  $\beta$ A (Kalinin, S. 2018). Desde los estudios de Orgogozo sobre el consumo de alcohol en la región de Burdeos, que concluía que un consumo responsable de alcohol disminuía el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer (Orgogozo, J. 1997), se han publicado muchos estudios sobre alcohol y demencia. El abuso de alcohol está asociado con un aumento de la demencia. A pesar de ello, un consumo moderado de alcohol, particularmente de vino, reduce el riesgo de demencia, seguramente debido a las propiedades antioxidantes del vino y su efecto en el metabolismo lipídico (Neafsey, E. 2011). En el capítulo 1.13 hablaremos del resveratrol.

### **1.9.4.2 Contaminación:**

La contaminación aumenta la morbilidad y mortalidad de la población mundial. Es uno de los principales factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares y respiratorias (Cohen, A. 2017). Se han realizado estudios que también relacionan la contaminación con la demencia y la enfermedad de Alzheimer. La

## INTRODUCCIÓN

contaminación provocada por el tráfico se asocia a un menor desarrollo cognitivo en niños (Sunyer, J. 2015). Además, la exposición prolongada a la contaminación puede producir neuroinflamación en niños y jóvenes (Calderón-Garcidueñas, L.2008). Este mismo estudio desvela que los portadores de ApoE4 tienen un mayor riesgo de desarrollar EA si residen en zonas con altas cuotas de contaminación. Estudios posteriores, tanto clínicos como preclínicos, confirman la sinergia entre estos dos factores de riesgo, ApoE y contaminación (Schikowski, T. 2015; Cacciottolo, M. 2017). Un estudio muy reciente muestra evidencias de la contaminación en Londres, según códigos postales, con nuevos casos de demencia. La asociación es más consistente para EA que para demencia vascular (Carey, I. 2018). También existen grandes estudios epidemiológicos de cohortes donde se valora la contaminación y cognición en más de dos millones de adultos, dando una asociación fuerte entre ambas, sobretodo en residentes en grandes urbes (Chen, H. 2017; Kioumourtzoglou, M. 2017).

Muchos de estos estudios no solo tienen en cuenta la contaminación en el aire, sino también la contaminación acústica. Diversos estudios han propuesto el ruido como factor de riesgo asociado, demostrando que todos ellos pueden actuar de forma sinérgica sobre la capacidad cognitiva del adulto (Tzivian, L. 2015; Tzivian, L. 2017).

Los principales contaminantes del aire son O<sub>3</sub>, PM, CO, NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub>. Estos llegan al individuo no solo a través del aire, sino también a través del agua y la comida (Thron, R. 1996). Estas partículas pueden pasar al cerebro a través de la BHE (Block, M. 2009). Aquí pueden participar en la peroxidación lipídica y en la oxidación de proteínas o bien actuar como radicales libres, provocando estrés oxidativo e induciendo inflamación y neuroinflamación que pueden desembocar

en deterioro cognitivo (Moulton, P. 2012). El estudio anteriormente comentado de Calderón-Garcidueñas describe la presencia de TAU hiperfosforilada y placas de  $\beta$ A difusas en la corteza frontal de individuos expuestos a contaminación ambiental, lo que sugiere que existe un vínculo entre estrés oxidativo, neuroinflamación, neurodegeneración y exposición crónica a altas concentraciones de contaminación del aire (Calderón-Garcidueñas, L.2008).

**1.9.4.3 Daño cerebral por traumatismo:** es la interrupción de la función cerebral normal causada por un golpe o sacudida en la cabeza o penetración del cráneo por un objeto extraño. La clínica que se observa es pérdida de conciencia, desorientación a corto plazo y amnesia post-traumática a largo plazo. Se considera daño leve si la pérdida de conciencia es menor a 30 minutos, moderada si la duración oscila entre 30 minutos y 24 horas o severa si el episodio dura más de 24 horas. Individuos con historial de daño cerebral por traumatismo tiene un mayor riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer (Schofield, P. 1997). Metaanálisis posteriores demuestran que el daño cerebral por traumatismo moderado está asociado a un riesgo dos veces mayor de sufrir enfermedad de Alzheimer y el daño cerebral por traumatismo severo representa 4,5 veces riesgo superior de desarrollar la enfermedad. (Plassman, B.2000). Este factor es importante no solo por la incidencia de accidentes de tráfico o caídas, sino también por la práctica de deportes de contacto. Tras daño cerebral por traumatismo se produce un aumento de los niveles de  $\beta$ A y TAU en LCR, así como la sobreproducción de APP, confirmando que existe una relación entre el daño cerebral y la EA (Franz, G. 2003).

# INTRODUCCIÓN

## 1.9.5 Combinación de los factores de riesgo

Factor de riesgo	Prevalencia enfermedad en el mundo	Casos de EA atribuibles	Prevención (*1)
Inactividad cognitiva	14,8% analfabetismo 25,2% solo estudios primarios (Barro, R. 2013)	19%	1,400.000
Sedentarismo	17,7% (Guthold, R. 2008)	13%	1,000.000
Tabaco	27,4% (Storr, C. 2009)	14%	1,000.000
Depresión	5,5-5,9% (Kessler, R. 2010)	10%	826.000
Hipertensión	8,9% (*2) (Kearney, P. 2005)	5%	400.000
Diabetes mellitus	6,4% (Shaw, J. 2010)	2%	200.000
Obesidad	3,4% (*2) (Kelly, T. 2008)	2%	166.000
Combinación de principales factores de riesgo	-	50%	3,000.000
(*1) Prevención si se redujera la prevalencia del factor de riesgo en un 25%			
(*2) Solo tiene en cuenta población de mediana edad, estas patologías solo son factor de riesgo cuando el grupo de población está en la mediana edad			

**Tabla 1.7. Factores de riesgo principales de la EA.** Teniendo en cuenta datos epidemiológicos de estas enfermedades a nivel mundial y los casos atribuibles de EA, la autora ha realizado un cálculo de la prevención si se redujera la prevalencia de estos factores de riesgo en un 25%. (Adaptado de Barnes, D. 2012)

La probabilidad de padecer enfermedad de Alzheimer aumenta con el número de factores de riesgo. El estudio de Barnes calcula que la prevalencia de la enfermedad de Alzheimer es de 34 millones de pacientes en el mundo. A partir de

este dato se estima que los factores de riesgo modificables contribuyen a la mitad de los casos de EA en el mundo (17,2 millones de enfermos) (Barnes, D. 2012). Si se redujera la prevalencia de los factores de riesgo modificables, se calcula que habría 3 millones de casos de EA menos en el mundo (**Tabla 1.7**) (Barnes, D. 2012).

### **1.10 Prevención de la enfermedad de Alzheimer**

La EA es un proceso altamente invalidante que genera un alto coste a los sistemas sanitarios, además de una alta carga mental, física y económica a los familiares. Los datos para las próximas décadas no son halagüeños, por tanto se hace imprescindible concienciar a la población de la importancia de la prevención.

Viendo el fracaso terapéutico en que se ha visto sumida la investigación en EA en las últimas décadas, nos hacemos eco del artículo del profesor Viña, *Only prevention makes sense*.

El abordaje de la prevención no farmacológica de la enfermedad de Alzheimer ha de verse desde una perspectiva multidisciplinar. En el apartado anterior (1.9.5. *Combinación de factores de riesgo*) hemos visto que al disminuir los principales factores de riesgo modificables, la prevalencia mundial podría sufrir una fuerte reducción. Una combinación de factores, como la nutrición, el ejercicio físico, el ejercicio cognitivo, la vida familiar y social activa y un control de los factores de riesgo cardiovasculares, podría ser la mejor fórmula para disminuir la enfermedad en una sociedad cada vez más envejecida.

Se han publicado datos del estudio FINGER, un estudio clínico controlado randomizado, donde se aplica una serie de modificaciones de estilo de vida a los pacientes de la rama experimental, que incluyen nutrición, ejercicio físico,

## INTRODUCCIÓN

entrenamiento cognitivo, estimulación social y control de los factores de riesgo cardiovascular en relación a la rama control. Los pacientes que han sufrido la intervención de mejora de hábitos de vida mejoran o mantienen la función cognitiva frente a los de la rama control (Ngandu, T. 2015). Además, se ha relacionado la dieta mediterránea con una reducción del riesgo de padecer EA (Opie, R. 2013; Singh, B. 2014).

Se han realizado también numerosos estudios relacionando el ejercicio físico con el enlentecimiento de la pérdida cognitiva. Se estima que ancianos sedentarios que inician un programa de actividad física pueden mejorar la función cognitiva, sobre todo la velocidad de procesamiento mental (Angevaren, M. 2008). En pacientes con factores de riesgo genético para la enfermedad de Alzheimer que hicieron ejercicio con regularidad se observó una menor atrofia cerebral en comparación con aquellos que no la realizaron, lo que lleva a pensar que la actividad física previene la neurodegeneración incluso en población con riesgo genético (Smith, J. 2014). Se ha demostrado que el ejercicio físico también mejora los síntomas neuropsiquiátricos de la enfermedad (Dregan, A. 2013).

Hablemos brevemente sobre terapia no farmacológica. Aunque realmente deberíamos haber incluido este tema en el capítulo de *Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer*, he preferido que esté en el apartado de prevención, ya que vamos a hablar de terapias cuyo beneficio puede ser mayor cuando el paciente aún sufre un deterioro cognitivo leve y no ha llegado a desarrollar la enfermedad de Alzheimer. Un diagnóstico a tiempo puede llevarnos a tomar medidas físicas, cognitivas y sociales, que palién en parte los efectos devastadores de la enfermedad. La musicoterapia, la terapia de reminiscencia o la fototerapia han sido incluidas en los planes de prevención y terapia. Por ejemplo, estudios de *mindfulness* combinado con terapia farmacológica han demostrado una tendencia

positiva en el área cognitiva (Quintana Hernández, D. 2015). Una revisión del uso de perros asistentes en enfermos de Alzheimer no muestra efectos significativos en la cognición, pero sí muestra beneficios en los síntomas neuropsiquiátricos y puede resultar un alivio para el cuidador o familiar (Lundqvist, M. 2017).

La prevención farmacológica es un asunto aún en estudio. Debemos discernir entre fármacos modificadores de la enfermedad y fármacos que previenen la enfermedad. En el apartado de prevención podríamos situar nuestra molécula en estudio, genisteína, además de otras moléculas neuroprotectoras, que pudieran añadirse a la dieta habitual y que tuvieran un perfil de seguridad adecuado para ser utilizadas a largo plazo.

Por último me gustaría acabar este capítulo con una reflexión sobre los cribados de detección precoz. La historia familiar, más los análisis genéticos de los genes que predisponen para la EA familiar, PSEN1, PSEN2 y APP, además de la determinación de ApoE  $\epsilon$ 4, podrían ser una herramienta para poner en marcha programas de detección precoz. Las campañas de sensibilización para el público en general y los cursos de formación continuada para el personal de atención primaria están dentro de las líneas de actuación que deben tomar las autoridades sanitarias para mejorar el diagnóstico precoz.

### **1.11 Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer**

Definimos prevalencia como la proporción de personas afectadas por una enfermedad en una determinada población en un punto específico en el tiempo. La incidencia es el número de nuevos casos de la enfermedad ocurridos en un periodo de tiempo en una población determinada. La unidad de tiempo más usada

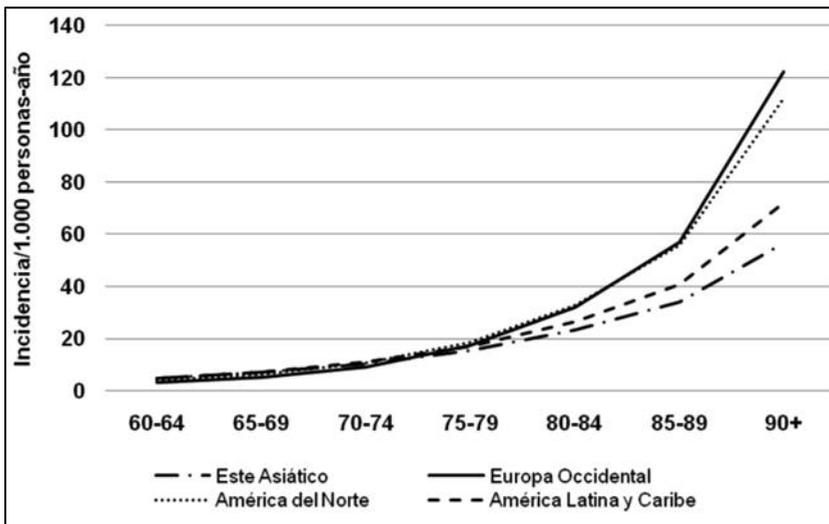
## INTRODUCCIÓN

cuando hablamos de incidencia es el año. Las cifras de incidencia las daremos en nuevos casos por cada 1000 personas y por año.

### **1.11.1 La enfermedad de Alzheimer en el mundo**

Permítame el lector realizar durante este apartado una analogía entre demencia y EA, ya que se estima que esta segunda representa entre el 60% y 80% de los casos totales de demencia (Van der Flier, W. 2005) y además los diagnósticos en los que se basan estos estudios epidemiológicos no siempre distinguen entre ambas patologías.

Se estima que alrededor de 47 millones de personas en el mundo sufren algún tipo de demencia, según las previsiones en 2050 la prevalencia será de 130 millones de personas (Alz.co.uk. 2015). Cada año se diagnostican en el mundo 4,6 millones de casos nuevos de demencia (Ferri, C.P. 2005). Los estudios epidemiológicos en demencia y EA (**fig. 1.31**) muestran que la incidencia en estas enfermedades aumenta con la edad y presenta un crecimiento exponencial a partir de los 65 años (Garre Olmo, J. 2018). En el *World Alzheimer's Report de la ADI de 2010: The Global Economic Impact of Dementia* se calculó que el coste mundial de la demencia fue de 604.000 millones de dólares en 2010 (*Alzheimer's Disease International, 2010*).

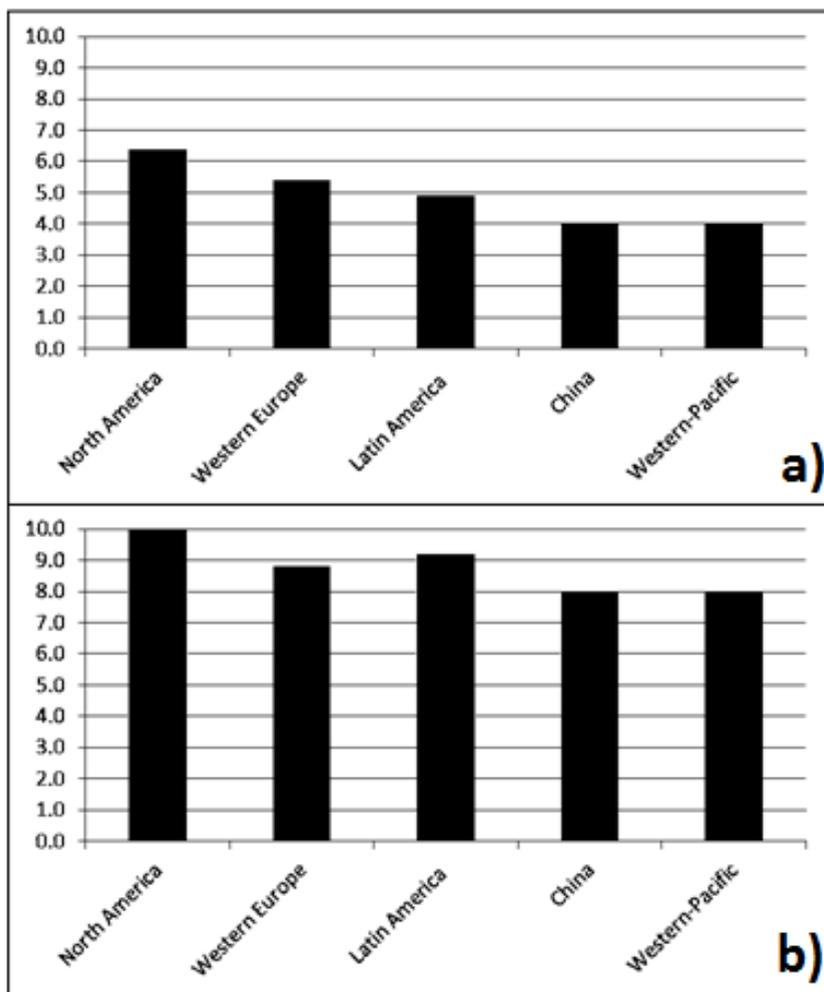


**Figura 1.31. Incidencia de la demencia en el mundo según grupos de edad y región.** La incidencia de la demencia aumenta con la edad y presenta un crecimiento exponencial a partir de los 65 años (Fuente: Garre Olmo, J. 2018).

La enfermedad de Alzheimer es la forma de demencia más común, representa alrededor de un 60% de los casos de demencia. Barnes estima la prevalencia mundial de la enfermedad de Alzheimer en 34 millones de pacientes (Barnes, D. 2012), mientras que la prevalencia en 2050 de la EA será de alrededor de 100 millones de personas (Reitz, C. 2014).

Si nos fijamos en la **figura 1.32**, podemos ver que las zonas de mayor prevalencia de EA son Norteamérica, Europa occidental y Australia. (Reitz, C. 2014). En Estados Unidos, se estimaron 5,4 millones de enfermos de Alzheimer en 2013, siendo el 96,3% de ellos mayores de 65 años (Hebert, L. 2013). La prevalencia de la enfermedad en mayores de 65 años es de 9,50% (Brookmeyer, R. 2011), mientras la incidencia es de 14,26 por 1000 personas-año (*Alzheimer's Association* 2016).

## INTRODUCCIÓN



**Figura 1.32. Prevalencia e incidencia mundial de demencia (%).** En la gráfica a) podemos ver las regiones donde existe una mayor prevalencia de demencia, mientras en la figura b) podemos ver los datos de incidencia (Fuente: Reitz, C. 2014)

Llama la atención que son los países con mayor calidad de vida los que presentan mayor prevalencia e incidencia, la causa podría ser la mayor longevidad de sus habitantes, aunque también por el hecho de que no disponemos de datos

precisos y fiables de todos los países. Además, no todos los sistemas sanitarios del mundo tienen suficientes herramientas para el diagnóstico ni ponen todo su empeño en el diagnóstico de la EA, no disponen de ensayos clínicos ni especialistas e investigadores en el campo de EA, en definitiva, no es actualmente un problema sanitario prioritario para países menos desarrollados (Alz.co.uk. 2018).

Existen evidencias de que la prevalencia en países desarrollados ha alcanzado una meseta y no experimentará grandes aumentos, esto se atribuye a los niveles de educación cada vez mayores y al mayor control de los factores de riesgo cardiovasculares (Rocca, W. 2011; Matthews, F. 2013), mientras en países en desarrollo la prevalencia va a aumentar en consonancia con el aumento de la esperanza de vida (Catindig, J. 2012; Etindele Sosso, F. 2017) y con el desarrollo de enfermedades como la diabetes o la hipertensión (Kalaria, R. 2008). Se estima que los casos de demencia en países en desarrollo habrán aumentado un 68% en 2050 (Alz.co.uk. 2015).

La incidencia por su parte seguirá en aumento en países desarrollados por el envejecimiento de la población (ver Apartado 1.11.6. La pirámide poblacional se invierte: el envejecimiento de la población mundial).

Tal es la importancia de la EA en el mundo, que en septiembre de 2018, según [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) hay registrados 1.979 ensayos clínicos en EA en el mundo, estando 605 de ellos aún no finalizados (Clinicaltrials.gov. 2018).

# INTRODUCCIÓN

## **1.11.2 Enfermedad de Alzheimer en Europa**

Vayamos a la vieja Europa, donde se estima que la prevalencia de la EA es de un 5,05%, siendo menor en hombres (3,31%) que en mujeres (7,13%). Mientras, la incidencia media en Europa es de un 11,08% en población general, siendo un 7,2% en hombres y un 13,23% en mujeres (Niu, H. 2017). Este estudio muestra una disminución de la prevalencia de la EA en Europa, mientras deja ver un ligero descenso de la incidencia, quizás por el mayor conocimiento de la enfermedad y la disminución de ciertos factores de riesgo. Estos datos concuerdan con lo visto en el apartado *1.11.1 Enfermedad de Alzheimer en el mundo*.

## **1.11.3 Epidemiología en Japón**

Desde 1961 la ciudad de Hisayama en la prefectura de Fukuoka ha sido objeto del estudio en salud más grande del país nipón, evaluando los factores de riesgo para enfermedades relacionadas con el estilo de vida. El estudio neurodegenerativo se realizó entre 1985 y 2017 (Neurodegenerationresearch.eu, 2020). *Seikita et al* concluyen a partir de los datos de este estudio que la prevalencia de la demencia en la población japonesa sufre un importante aumento en las dos últimas décadas, estimando la prevalencia en un 6% en 1985, 8,3% en 2005, y previendo una prevalencia del 17,9% en 2012. Los datos que arroja este estudio en cuanto a incidencia son más halagüeños, situándola en torno al 5,6% por 1000 personas-año en 2010 (Sekita, A. 2010). La prevalencia e incidencia siempre fueron bajas hasta los años 90 del siglo pasado, siendo los hábitos de vida, entre ellos la alimentación, un factor muy importante que contribuyó a este dato.

Analicemos los datos actuales, la prevalencia es alta, seguramente porque la población nipona está envejecida. La incidencia es menor que en el resto de

países desarrollados, seguramente por la dieta y otros estilos de vida saludable que aún conserva una parte de la población.

Numerosos estudios epidemiológicos relacionan el alto consumo en soja en Japón y otros países asiáticos con una menor incidencia de patologías cardíacas, oncológicas o neurodegenerativas. Entre ellos, el estudio de Adlercreutz que además estima el consumo de soja en Japón, hallando un valor entre 20 y 80 mg de genisteína diaria (Adlercreutz, H. 1990). Esta es una de las premisas del grupo de investigación del Dr. Viña para elaborar la hipótesis de la genisteína como posible tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, tema de esta tesis.

Contradictoriamente al resto de países desarrollados donde habíamos visto un estancamiento o incluso una disminución de la prevalencia de la EA, todos los estudios indican que en Japón se producirá un aumento tanto de la incidencia como de la prevalencia (Meguro, K. 2002; Sekita, A. 2010). Varias son las causas que pueden explicar este hecho, por una parte, la esperanza de vida en Japón es una de las más altas del mundo y por otra, los cambios de hábito de la población, donde encontramos aumento del consumo de alcohol, una actividad física menor y una transición a una dieta occidentalizada (Montgomery, W. 2017).

### **1.11.4 La enfermedad en nuestro país**

Según la Sociedad Española de Neurología (SEN) existen aproximadamente 800.000 pacientes con enfermedad de Alzheimer en España, estimando que podría haber entre un 30 y un 40% de casos no diagnosticados (SEN.es, 2018).

La prevalencia e incidencia de la enfermedad en España es similar a la descrita en Europa por otros autores, dando un valor de 5,6% a la prevalencia en mayores de 65 años(4,8% en hombres y 6,4% en mujeres) (Virués-Ortega, J. 2011). Los datos de este estudio también mostraban un aumento exponencial de la prevalencia en

## INTRODUCCIÓN

pacientes más ancianos, pasando de un 5,4% en pacientes de 80 a 84 años, a 9,3% en el siguiente grupo de edad (85-89 años) y un 19,1% en pacientes con edad igual o superior a 90 años (Virués-Ortega, J. 2011).

Interesante resulta también el estudio de la prevalencia de la demencia a partir del uso de fármacos en la Comunidad de Madrid, el cual da cifras parecidas a las que habíamos manejado hasta el momento: 5,91% en pacientes mayores de 65 años, siendo del 4,00% en hombres y del 7,16% en mujeres (De Hoyos-Alonso, M. 2016).

Los estudios de frecuencia de los alelos en España dan resultados interesantes, un 10% y un 16% de la población española general tienen al menos un alelo ApoE4 o los dos alelos ApoE4 respectivamente. Asimismo, un 37% de los enfermos de Alzheimer presentan al menos un alelo  $\epsilon$ 4, y un 58% presentan ambos alelos ApoE 4 (**tabla 1.8**) (Setó-Salvia, N. 2010).

Alelo ApoE	Población española en general	Población española con EA
$\epsilon$ 2	5%	4%
$\epsilon$ 3	85%	60%
$\epsilon$ 4	10%	37%
$\epsilon$ 4/4	16%	58%

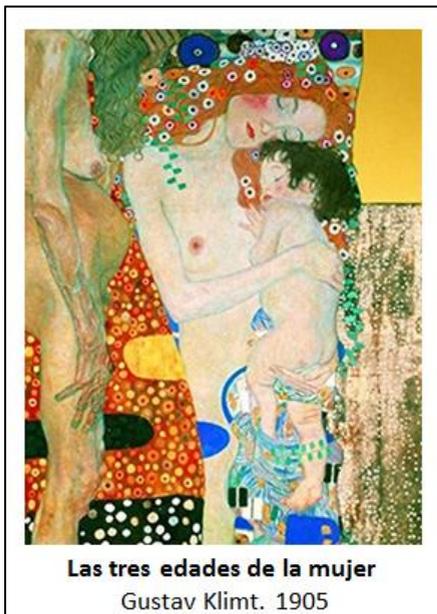
**Tabla 1.8. Frecuencia de ApoE en población española en general y en población española con EA.** (Fuente Setó-Salvia, N. 2010).

### **1.11.5 La enfermedad en nuestro ámbito de estudio**

En 2014 en la Comunidad Valenciana había un total de 26.673 personas diagnosticadas de Alzheimer. Los últimos datos ofrecidos por las autoridades

sanitarias locales revelan que solo durante el primer semestre de 2014 se diagnosticaron 2.812 nuevos pacientes y durante el año 2013 se registraron 5.796 nuevos casos (SIA-GAIA).

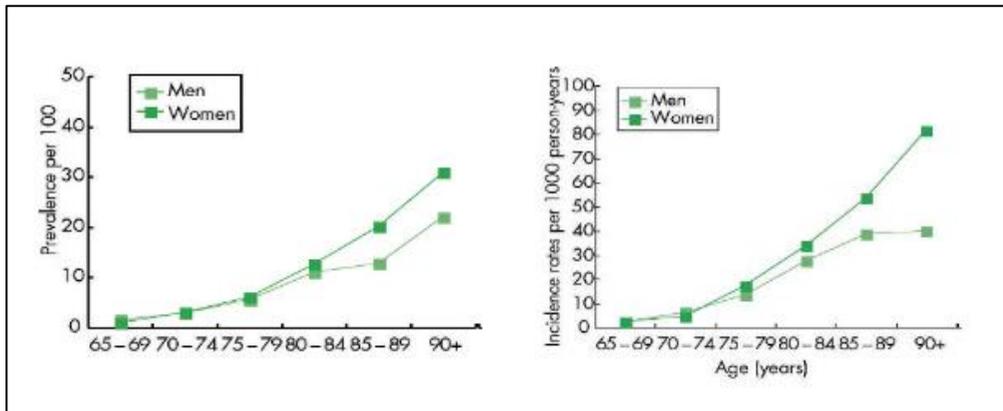
Nuestro estudio va a realizarse en dos hospitales pertenecientes a diferentes departamentos de salud de la Comunidad Valenciana. Por una parte, se realizará en el Servicio de Neurología del Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV), que atiende a más de 340.000 habitantes del Departamento Clínico-Malvarrosa y por otra en el Servicio de Geriátrica del Hospital La Ribera de Alzira (HLR), que atiende a más de 249.000 habitantes de esta comarca (AVS, Agencia Valenciana de Salud). Ampliaremos estos datos en el estudio incluido en la presente tesis: “Tendencia de prescripción de fármacos para la demencia en el entorno clínico del estudio clínico Genisteina\_2”



**1.11.7. Diferencia entre mujeres y hombres:** En las primeras fases de la EA hay una prevalencia similar entre hombres y mujeres, pero la prevalencia e incidencia en mujeres es mucho mayor en edades más avanzadas de la vejez (Lobo, A. 2000) (**fig. 1.33**), esto se debe a que la esperanza de vida en mujeres es mayor que en hombres (Aguero-Torres, H. 1998). Otros autores apuntan a la educación como un factor protector frente a la neurodegeneración (Flicker, L. 2010), las

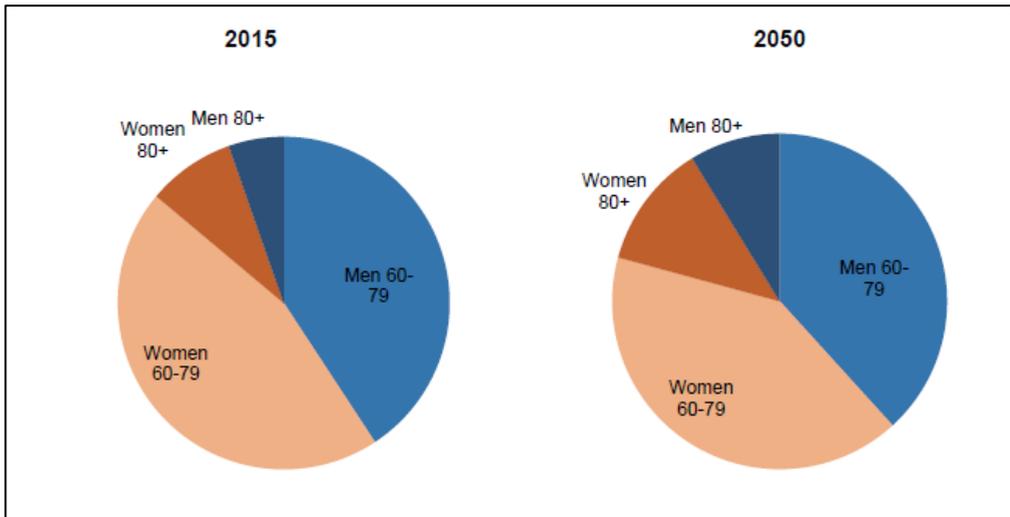
## INTRODUCCIÓN

generaciones de mujeres que participaron en los estudios epidemiológicos de finales del siglo pasado y principios del XXI, incluso aquellas mujeres que ahora se encuentran en edad anciana, han tenido mucho más complicado el acceso a la educación.



**Figura 1.33. Prevalencia e incidencia de demencia según sexo.** Al igual que los estudios de Agüero-Torres, el metanálisis de Lobo indica que en edades más tempranas ambas medidas son parecidas en mujeres y hombres, pero en los grupos de población más anciana (aproximadamente a partir de los 80 años) la prevalencia e incidencia son mucho mayores en población femenina (Lobo, A. 2000).

La previsión de la distribución poblacional por sexo en los próximos años (**fig. 1.34**) no parece variar especialmente de aquí a 2050, manteniéndose la proporción hombres-mujeres similar, pero si vemos una diferencia en los grupos de población por edad, habrá una mayor proporción, tanto de hombres como mujeres, mayores de 80 años que en la actualidad (UN.org. 2015).



**Figura 1.34. Distribución de la población anciana mundial por sexo en 2015 y 2050.** Se espera que en 2050 el balance entre mujeres y hombres permanezca igual que en la actualidad, pero sí podemos detectar dentro de la población anciana una mayor proporción de mujeres y hombres mayores de 80 años. (UN.org. 2015).

Son especialmente interesantes los estudios del grupo del profesor Viña sobre la toxicidad mitocondrial y las diferencias entre sexo (Viña, J. 2010). Se descubrió en modelos animales que las hembras viven más que los machos por una menor producción de peróxido, lo que disminuía el estrés oxidativo. El grupo del profesor Viña hipotetiza sobre el factor protector de los estrógenos no solo debido a sus propiedades antioxidantes, sino también a su capacidad de regular la expresión de genes antioxidantes. En modelos animales, la producción de estrés oxidativo por parte de la mitocondria en presencia de  $\beta$ A en hembras es menor que en machos, pero en animales más ancianos, la producción era igual o incluso mayor, lo que llevó a la conclusión que las hembras jóvenes tienen una protección mayor frente a la toxicidad de  $\beta$ A, protección que se pierde en los individuos hembra más ancianos (Lloret, A. 2008).

## INTRODUCCIÓN

### **1.11.8 Mortalidad y enfermedad de Alzheimer**

La tasa de mortalidad por una enfermedad es la cantidad de defunciones provocada por esa patología por cada mil habitantes en una determinada población en un periodo de tiempo concreto. Aunque la tasa de supervivencia tras el diagnóstico en EA es muy variable (entre 1,1 y 8,5 años) (Brodaty, H. 2012) podemos decir con certeza que la EA incrementa el riesgo de mortalidad en comparación con individuos sanos (Mölsä, P. 1986). Estudios europeos y españoles sitúan estas cifras alrededor del 12% (Commenges, D. 2004; Guehne, U. 2005; Villarejo, A. 2011). Entre los factores que aumentan la mortalidad encontramos: el grado de demencia avanzado, un deterioro cognitivo elevado y la edad avanzada. Los hombres tienen una tasa de mortalidad mayor que las mujeres (García-Ptacek, S. 2014).

### **1.12 Diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer**

#### **1.12.1 (Re)definiendo la enfermedad de Alzheimer**

La Organización Mundial de la Salud define en 1992 la EA como una enfermedad neurodegenerativa de etiología desconocida caracterizada por un deterioro progresivo de la memoria y la función cognitiva (Organización Mundial de la Salud, 1992). Si tenemos en cuenta que esta definición se realiza solo un año después del descubrimiento de la mutación del gen APP y solo un año antes del descubrimiento de ApoE4 por Corder, Strittmater y Saunders, podemos asegurar que los avances en fisiopatología de la EA hasta la actualidad obligan a un cambio de la definición de la misma. En apenas dos décadas los avances en la investigación

en EA modifican no solo la visión que teníamos de la enfermedad en 1992, también los criterios diagnósticos y las perspectivas en el abordaje terapéutico.

Desde la primera descripción de la enfermedad (Alzheimer, A. 1907), casi decimonónica, tenemos que esperar casi ocho décadas para cambiar la visión de la enfermedad. Viajamos, más concretamente a 1984, cuando se publican los criterios para el diagnóstico de la EA del *Nacional Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA) (McKhann, G. 1984) que define la EA como una entidad clínico-patológica, que es diagnosticada definitivamente en una autopsia y que en vida puede ser clasificada como EA posible o probable. En este documento se establecen tres niveles de certeza: diagnóstico definitivo, diagnóstico probable y diagnóstico posible. El diagnóstico “definitivo” siempre se acompaña de un estudio *post mortem* del cerebro del paciente donde se encuentran placas de  $\beta$ A y ovillos neurofibrilares.

El *National Institute of Aging* (NIA) es una parte del *National Institutes of Health* (NIH) que a su vez pertenece al Departamento de Salud de los EEUU, y la *Alzheimer's Association* (AA) presentan en 2011 las guías revisadas (NIA-AA) para el diagnóstico de EA (Albert, M. 2011). El aumento de los conocimientos de las manifestaciones clínicas y la biología de la EA permiten la actualización de estas guías (McKhann, G. 2011), que pretenden crear esquemas para definir y diferenciar las fases de la enfermedad en todo su espectro (Jack, C. 2018). En el documento NIA-AA se distinguen tres fases de la enfermedad:

- 1) Preclínica: corresponde con el inicio de la enfermedad, incluso décadas antes de aparecer los primeros síntomas de la enfermedad (Villemagne, V. 2013). Aunque ya se han producido cambios en el cerebro, como

## INTRODUCCIÓN

acumulación de  $\beta$ A o formación de ovillos neurofibrilares de TAU, no aparecen signos clínicos.

- 2) Deterioro cognitivo leve (DCL): etapa donde se producen los primeros síntomas neurocognitivos que no influyen en la independencia del paciente. Los pacientes con DCL pueden o no progresar hasta la demencia por EA. También se define DCL como el estado neurocognitivo entre el envejecimiento cognitivo normal (o fisiológico) y la demencia, puede ser a la vez una manifestación temprana, una fase prodrómica y un factor de riesgo de la enfermedad de Alzheimer (Albert, M. 2011).
- 3) Demencia por EA: es la etapa final de la enfermedad, la clínica se ha manifestado en toda su virulencia e impide al paciente ejercer sus funciones de forma independiente.

Las guías NIA-AA de 2011 difieren de las guías NINCDS-ADRDA de 1984 en varios aspectos (**tabla 1.9**) (National Institute on Aging. 2011; McKhann, G. 2011). Mientras los criterios de 1984 solo reconocen la etapa final de la enfermedad (fase de demencia), la guía NIA-AA diferencia tres estadios (fase preclínica, deterioro cognitivo leve y demencia por EA). Las guías de 1984 se centran en la pérdida de memoria como síntoma principal, mientras las guías de 2011 definen un espectro mayor de criterios neuropsicológicos. Las guías NIA-AA de 2011 hablan de diagnóstico diferencial de los diferentes tipos de demencia, que pueden tener un efecto sinérgico entre ellas, como puede ser la demencia vascular o la demencia mixta. Por último, el texto de 1984 relega el uso de biomarcadores a un contexto científico (hablaremos más extensamente de biomarcadores en este mismo capítulo). Si bien es cierto que nombra técnicas como la tomografía por emisión de electrones (PET) o la imagen por resonancia magnética, muchas de las técnicas desarrolladas en el texto de 2011 no existían o no estaban

completamente desarrolladas. Por tanto, la confirmación del diagnóstico en 1984 era exclusivamente *post mortem*. Hay que recordar además que en 1984 no se conocen todavía los genes que predisponen a la EA (Goate, A. 1991; Sherrington, R. 1995; Levy-Lahad, E. 1995).

Diferencias	NINCDS-ADRDA (1984)	NIA-AA (2011)
Etapas	Una sola etapa: etapa final de demencia	Tres etapas: fase preclínica, deterioro cognitivo leve y fase de demencia
Criterios neuropsicológicos	Pérdida de memoria como criterio principal	Otros factores neuropsicológicos
Relación entre diferentes tipos de demencia	Falta de conocimiento no permite relacionar EA con otras demencias	Sinergia entre diferentes demencias (sobretudo demencia vascular y demencia mixta)
Hallazgos neuropatológicos	Autopsia para determinar enfermedad  No incluye resultados de PET, MRI o LCR	Biomarcadores (nuevos métodos diagnósticos subrogados)
Genética	No se conocen genes que predisponen a la EA	Tiene en cuenta la presencia de 3 genes (PSEN1, PSEN2 y APP gen)

**Tabla 1.9. Diferencia entre guías de diagnóstico del Alzheimer NINCDS-ADRDA (1984) y NIA-AA (2011).** (Fuente: National Institute on Aging. 2011; McKhann, G. 2011)

Estos criterios (y sus actualizaciones) no son los únicos usados hoy en día por los profesionales para el correcto diagnóstico de la enfermedad. El DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) es un manual editado por la *American Psychiatric Association* (APA) y contiene descripciones, síntomas y otros criterios para diagnosticar trastornos mentales (Frances, A. 1994). Este se basa en la clínica

## INTRODUCCIÓN

cognitiva (alteraciones de memoria acompañada de al menos uno de los siguientes síntomas: afasia, apraxia, agnosia o alteración de funciones ejecutivas) acompañado del diagnóstico por exclusión y solo confirmada tras autopsia.

La Sociedad Española de Neurología (SEN) elaboró su propio documento: “Criterios de la SEN para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer” (Robles, A. 2002). Este documento, que puede ser consultado en la web de la SEN (Sociedad Española de Neurología, 2019), está basado en los criterios diagnósticos de la NINCDS-ADRDA y DSM-IV y pretende actualizar y unificar criterios en la identificación clínica de la EA en todos sus estadios. Seguiremos el esquema de la **figura 1.35** para estudiar el diagnóstico de la EA.

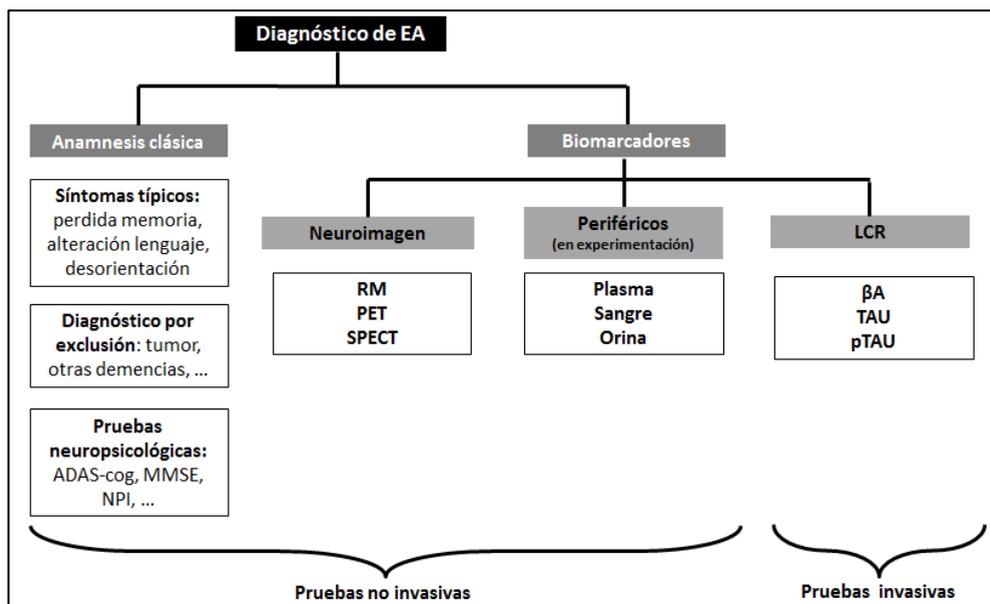


Figura 1.35. Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

## **1.12.2 Anamnesis clásica**

### **1.12.2.1 Síntomas típicos**

El criterio diagnóstico central es la afectación de la memoria, del lenguaje y de la capacidad de aprendizaje. Estos síntomas aparecen de forma lenta y progresiva.

- Desorientación.
- Presencia de factores de riesgo (edad avanzada, antecedentes familiares, etc.).
- Posibles síntomas neuropsicológicos, como depresión, apatía, agitación o psicosis.

### **1.12.2.2 Diagnóstico por exclusión**

Un inicio agudo del deterioro cognitivo excluiría un diagnóstico de EA. A continuación enumeraremos las patologías que debemos estudiar y descartar antes de diagnóstico de la EA:

- Exclusión de otro tipo de demencias.
- Ictus cerebrales recientes (menos de seis meses) u otras enfermedades cerebrovasculares.
- Trastornos del sistema nervioso central que provoquen deterioro cognitivo (enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia de presión normal o tumor cerebral).
- Depresión mayor.
- Carencia de vitamina B12, ácido fólico, niacina o descompensación de hormona tiroidea, que pueden provocar demencia.

## INTRODUCCIÓN

- Otras enfermedades como neurosífilis o SIDA.
- Intoxicaciones.

### 1.12.2.3 Test de valoración neurológica

La valoración neurológica del paciente se realiza mediante test cognitivos, funcionales y conductuales. Estas pruebas de estado mental evalúan memoria, orientación, comprensión, atención, concentración, capacidad para resolver problemas simples y otras habilidades de pensamiento. Estos test son esenciales para establecer un diagnóstico, categorizar la fase de la enfermedad en la que se encuentra, monitorizar su progresión y evaluar el mejor tratamiento (Jutten, R. 2017). Los marcadores cognitivos predicen como la pérdida de memoria y otras alteraciones del lenguaje y el aprendizaje en las fases iniciales de la enfermedad evolucionan hasta la EA (Sarazin, M. 2007; Frisoni, G. 2010).

Los test de valoración neurológica deben ser rápidos, validados y precisos. Existen muchos test para el diagnóstico de EA y clasificación de la fase de la enfermedad. En este apartado veremos aquellas pruebas que hemos usado en nuestro estudio, mientras en el estudio *“Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”* analizaremos estos test cognitivos como objetivos primarios y secundarios en ensayos clínicos en EA.

Los test de valoración neurológica pueden ser cognitivos, los más usados son *Mini-mental state examination* (MMSE), *Alzheimer disease assessment scale–cognitive* (ADAS-cog), *Addenbrooke’s Cognitive Examination Revised* (ACE-R), *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease* (CERAD), *CDT-Sunderland*, *Memory Alteration Test* (M@T), la evaluación cognitiva de Montreal (MoCA), *Quick Mild Cognitive Impairment* (Qmci), o *Clock-Drawing Test* (CDT). Los

test funcionales más usados son el índice de Barthel o índice de Maryland y el *Alzheimer's Disease Cooperative Study Activities of Daily Living* (ADCS-ADL). El test conductual por excelencia es el NPI y sus variantes, el más usado es el NPI-Q. Otros test de utilidad serían los de coste-efectividad; *Resource Utilization in Dementia (RUD-Life)* o los test de calidad de vida, el más extendido es el *Quality of Life-Alzheimer's Disease* (QOL-AD). También encontramos test de sobrecarga del cuidador, como el *Caregiver-administered NPI* (CGA-NPI) o el Zarit-Burden. Existen test mixtos, como el *Informant Questionnaire for Cognitive Decline in the Elderly*, IQCODE (cognitivo y funcional). Las escalas *Functional Assessment Staging* (FAST), la *Global Deterioration Scale* (GDS) y la *Clinical Dementia Rating* (CDR) vistas en el capítulo 1.8, son herramientas de estadiaje de gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad.

De todos estos test neurológicos, el Mini Mental State Examination (MMSE) es la prueba más usada con fines diagnósticos (Nieuwenhuis-Mark, R. 2010), mientras el *Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive* (ADAS-Cog) es el más utilizado tanto en la valoración de los tratamientos como el *endpoint* primario cognitivo más usado a nivel mundial en los EECC en enfermedad de Alzheimer (Schneider, L. 2009b).

Pasemos a explicar a continuación aquellos que usaremos en nuestro estudio:

### **1.12.2.3.1 Pruebas cognitivas**

**1.12.2.3.1.1 MMSE:** El *Mini-Mental State Examination* (MMSE) es una herramienta para evaluar las funciones cognitivas en general. Esta prueba permite detectar la afectación de capacidades cognitivas en pacientes con alteraciones neurológicas (Folstein, M.F 1975). No solo nos provee de un recurso diagnóstico, sino que también nos permite monitorizar el deterioro intelectual a través del

## INTRODUCCIÓN

tiempo en un mismo paciente. El test está validado y ha demostrado su capacidad para evaluar cuantitativamente la gravedad del deterioro cognitivo a lo largo del tiempo (Tombaugh, T. 1992). Es un test rápido, estandarizado (Molloy, D. 1991) y de fácil traducción, de hecho está disponible en más de 70 lenguas (Steis, M. 2009).

El test MMSE integra treinta preguntas de las cuales diez son de orientación, cinco de tiempo y cinco de espacio. Las siguientes tres preguntas son sobre registro de nueva información, consiste en repetir tres palabras que el entrevistador dice al paciente. Después hay cinco preguntas de cálculo, que son cinco restas seriadas de tres en tres empezando desde treinta, o en su defecto, deletrear una palabra al revés. Acto seguido, el entrevistador evalúa el recuerdo diferido del paciente preguntándole por las tres palabras que le dijo en el apartado de “Nueva información” (3 puntos). En la última parte, se evalúa el lenguaje, el paciente tiene que nombrar dos objetos (2 puntos), comprensión (obedecer una orden del entrevistador (1 punto), leer un texto y obedecer la orden (1 punto), escribir una frase con sujeto y predicado (1 punto) y copiar dos pentágonos intersectados que el entrevistador le ha enseñado previamente (1 punto). El resultado obtenido está en un rango de 0 a 30, siendo 30 el valor normal de estado intelectual y los valores más bajos se relacionan con deterioro cognitivo o demencia. Podemos ver el resultado del test en la tabla 1.10.

Valor de MMSE	Resultado
27-30	Sin deterioro
25-26	Deterioro leve
10-24	Demencia leve
6-9	Demencia moderada
<6	Demencia severa

**Tabla 1.10 Valores de MMSE.** Un valor entre 27 y 30 significa que no hay deterioro cognitivo, mientras una reducción hasta 25 -26 implica deterioro leve.

Crum describe dos variables importantes que influyen sobre los resultados del test, la edad y la educación (**tabla 1.11**). En el caso de la edad, la menor puntuación se debe a cambios cognitivos propios de la edad. El test podría dar falsos positivos en personas más ancianas. En el caso de la educación, los años en los que el paciente ha estado escolarizado son importantes ya que reducen el número de falsos positivos entre las personas con menor educación y el número de falsos negativos entre pacientes con más años de escolaridad, mejorando la sensibilidad del test (Crum, R. 1993).

Edad en años	18-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	>84
<b>Estudios elementales</b>	22	25	25	23	23	23	23	22	23	22	22	21	20	19
<b>Estudios primarios</b>	27	27	26	26	27	26	27	26	26	26	25	25	25	23
<b>Estudios medios</b>	29	29	29	28	28	28	28	28	28	28	27	27	25	26
<b>Estudios superiores</b>	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	28	28	27	27

**Tabla 1.11. Tabla de Crum para el ajuste de MMSE por edad y estudios.** Edad y estudios del paciente son dos variables que influyen en los resultados del test MMSE. Se debe ajustar el resultado por edad y educación. (Fuente Crum, R. 1993).

La especificidad del test es estudiada por Cummings, quien reporta individuos con esquizofrenia o depresión con deterioro en el test MMSE. Al ser un test con muchos ítems verbales y solo uno no verbal (dibujo de los pentágonos entrecruzados), los pacientes con afasia sin deterioro cognitivo también pueden obtener bajos resultados. (Cummings, J. 1993).

Una revisión Cochrane sugiere que MMSE no debe usarse como prueba única e independiente en el diagnóstico de EA, sino junto con otras pruebas cognitivas

## INTRODUCCIÓN

para aumentar especificidad y sensibilidad del proceso diagnóstico (Arevalo-Rodriguez, I. 2015). Otra revisión Cochrane aconseja interpretar los resultados en un contexto más amplio del paciente (no solo edad y estudios), teniendo en cuenta variables como personalidad, comportamiento y control en el domicilio y en la vida cotidiana (Creavin, S. 2016).

**1.12.2.3.1.2 T@M:** el test de alteración de memoria es una prueba cognitiva de cribado con alto valor discriminatorio para deterioro cognitivo leve de tipo amnésico y enfermedad de Alzheimer leve (Rami, L. 2007). En principio se crea para ser usado en atención primaria. Mediante un test sencillo y rápido, el médico de medicina general puede derivar a su paciente al neurólogo o al geriatra (Rami, L. 2010). De acuerdo a sus autores, el símbolo @ representa una vista coronal del hipocampo.

Se basa en la teoría de la memoria de consolidación, que afirma que la memoria episódica requiere del lóbulo temporal medio (MTL) para la consolidación, almacenándose luego en los circuitos neocorticales como parte del sistema de memoria semántica (Squire, L. 2004).

El test consta de 50 preguntas divididas en cinco partes, siendo la primera de memoria inmediata, el entrevistador repite unas palabras o unas oraciones al paciente, preguntándole después cuestiones relacionadas con las palabras empleadas (10 puntos). La segunda parte es de orientación temporal, con un valor de 5 puntos. La memoria remota semántica se evalúa mediante 15 preguntas, esta memoria se refiere a los conocimientos de carácter general sobre el mundo y sobre el propio paciente que ha ido aprendiendo a lo largo de su vida, como por ejemplo cuál es el quinto mes del año o cuántas horas hay en dos días. En la parte de memoria de evocación libre, el entrevistador preguntará al paciente si

recuerda las palabras y las oraciones que vieron en el apartado de memoria inmediata. En el último apartado, se evalúa la memoria de evocación con pistas, el entrevistador mediante preguntas intenta hacer recordar al paciente las palabras y oraciones del primer apartado.

La puntuación total del test es de 50 puntos (**tabla 1.12**), siendo 50 la puntuación máxima, empezando el deterioro cognitivo leve por debajo de 37, y la enfermedad de Alzheimer leve por debajo de 31. La puntuación ha de darse de forma global, pero también ha de indicarse la puntuación obtenida en cada uno de los diferentes apartados.

Valor de T@M	Resultado
38-50	Valoración normal
32-37	Deterioro cognitivo leve de tipo amnésico
≤ 31	Enfermedad de Alzheimer

**Tabla 1.12. Valoración de test T@M.** Un resultado entre 38 y 50 supone una valoración normal, mientras el punto de corte está en 37 para el deterioro cognitivo leve amnésico y en 31 para la enfermedad de Alzheimer.

**1.12.2.3.1.3 ADAS-cog:** la escala cognitiva de evaluación para la enfermedad de Alzheimer (en inglés *Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive*, ADAS-cog) es la prueba cognitiva más utilizada en la práctica clínica internacional (Schneider, L. 2009b). Esta prueba evalúa la memoria, el lenguaje y la orientación (Rosen, W. 1984). Además de ser una herramienta útil para el diagnóstico también nos informa de la evolución clínica de la enfermedad. ADAS-cog se divide en once pruebas para evaluar memoria, comprensión, orientación (temporal y espacial) y

## INTRODUCCIÓN

lenguaje espontáneo. Tiene una puntuación total de 70, siendo 70 el grado máximo de demencia y 0 el grado de no deterioro. El test ADAS-cog tiene 3 apartados dedicados a memoria (27 puntos), cinco apartados dedicados a lenguaje (25 puntos), dos a praxis (10 puntos) y uno a orientación (8 puntos).

Los apartados de memoria son recuerdo de palabras, el paciente debe recordar 10 palabras escritas en tarjetas independientes, reconocimiento de palabras (reconocer 12 palabras que había leído frente 12 distractores y el recuerdo de las instrucciones de la prueba de memoria, variante del apartado anterior.

Los apartados de lenguaje son la denominación de objetos y dedos, la capacidad en el lenguaje hablado donde se evalúa la calidad del habla y la claridad expresiva, la comprensión del lenguaje hablado, es decir, la capacidad del entrevistado para comprender el lenguaje y la dificultad en encontrar las palabras adecuadas, lo que lleva al paciente a compensar esta falta con la utilización de circunloquios o frases explicativas.

Los apartados de praxis evalúan la praxis constructiva y la praxis ideatoria. Mientras la primera prueba consiste en hacer copiar al paciente cuatro figuras geométricas, la segunda consiste en que el paciente prepare un sobre, con su nombre y dirección para ser enviado por correo. La orientación espacial y temporal permite cierto error tanto en el tiempo como en el espacio, por ejemplo, puede equivocarse de fecha por un día o de estación por dos semanas.

En una revisión reciente se afirma que ADAS-Cog es capaz de proporcionar una medida de la gravedad de la enfermedad en los síndromes de pre-demencia, presentando una óptima especificidad y sensibilidad (Kueper, J. 2018).

### 1.12.2.3.2 Pruebas conductuales

**1.12.2.3.2.1 NPI:** el *Neuropsychiatric Inventory* evalúa síntomas neuropsiquiátricos (SNP) (Cummings, J. 1994). Es el test para evaluar trastornos neuropsiquiátricos más usado en el mundo (Rush, A. 2008).

El test NPI evaluaba en principio 10 trastornos neuropsiquiátricos: delirios, alucinaciones, agitación, depresión/disforia, ansiedad, euforia/jubilo, apatía/indiferencia, desinhibición, irritabilidad/labilidad, conducta motora sin finalidad, pero en 1997 se incorporan otros dos síntomas; alteraciones del sueño y del apetito/alimentación (Cummings, J. 1997). Para evaluar cada síntoma por separado se debe multiplicar la frecuencia por la gravedad. La frecuencia recibe una puntuación de 0 (infrecuente) a 4 (con mucha frecuencia), y la gravedad se valora con una puntuación de 1 (leve) a 3 (muy grave).

Diferentes versiones se han usado de NPI, la más común en España es NPI-Q (Kaufer, D. 2000). En esta escala el cuidador informa de la severidad de los 12 síntomas en una escala de 0 a 3, con un máximo de puntuación de 36. Una puntuación alta implica mayor severidad en los trastornos neuropsiquiátricos. Otra escala muy usada es la *Caregiver-administered NPI* (CGA-NPI) (Kang, S., 2004) donde el cuidador valora su angustia en una escala de 0 a 5.

### 1.12.2.3.3 Pruebas funcionales

**1.12.2.3.3.1 Índice de Barthel:** es una escala que mide la capacidad del paciente para realizar diez actividades básicas de la vida diaria como pueden ser comer, vestirse, ir al baño, deambular o lavarse. Llamado también índice de Maryland debido a que fue creado por los doctores Mahoney y Barthel, quienes trabajaban en varios hospitales de enfermedades crónicas en el estado de Maryland

## INTRODUCCIÓN

(Mahoney, F. 1955) ha llegado a nuestros días en la versión revisada por Collin (Collin, C. 1998). Aunque este adaptó la versión de Yarkony para valorar la funcionalidad de personas que habían sufrido accidentes cerebrovasculares (Yarkony, G. 1988), el actual test ha demostrado ser una buena herramienta para valorar cualquier tipo de discapacidad.

Se asigna a cada paciente una puntuación según su grado de dependencia, teniendo en cuenta el tiempo requerido para llevarlo a cabo y la necesidad de asistencia. Las actividades se valoran de forma diferente, pudiendo variar entre 0, 5, 10 o 15 puntos según su importancia individual de realizar las actividades básicas de la vida diaria (por ejemplo, mientras la deambulación o subir y bajar escaleras tienen una puntuación máxima de 15, arreglarse solo cuenta 5 puntos). Consiste en asignar a cada paciente una puntuación en función de su grado de dependencia, asignando un valor a cada actividad según el tiempo requerido para su realización y la necesidad de asistencia para llevarla a cabo. La puntuación global del test varía entre 0 (completamente dependiente) y 100 puntos (completamente independiente) (**tabla 1.13**)

Resultado	Grado de dependencia
≤ 20	Total
20-35	Grave
40-55	Moderado
≥ 60	Leve
100	Independiente

**Tabla 1.13. Grado de dependencia según resultados de test de Barthel**

### 1.12.2.3.4 Pruebas cognitivo-funcionales

#### 1.12.2.3.4.1 Test del informador

El test del informador para deterioro cognitivo en mayores (*Informant Questionnaire for Cognitive Decline in the Elderly*, IQCODE, abreviado comúnmente como *Test del Informador*, es un test de 26 ítems que recoge la información aportada por el cuidador o un familiar muy cercano sobre la evolución en los últimos 10 años de la información solicitada, por ejemplo, capacidad de reconocer caras y nombres de familiares y conocidos, capacidad de aprender a manejar aparatos nuevos, manejar dinero o asuntos financieros. (Jorm, A. 1988). Cada pregunta se puntúa de 1 a 5: 1 (ha mejorado mucho), 2 (ha mejorado algo), 3 (permanece sin cambios), 4 (ha empeorado algo), 5 (ha empeorado mucho). El rango de puntuación del test es de 26 a 130 puntos, siendo 130 el punto de máximo deterioro, por debajo de 78 se considera que no existe deterioro cognitivo.

### 1.12.3 Biomarcadores

Los biomarcadores son marcadores biológicos objetivos subrogados que apoyan al diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer incluso antes de que su clínica haya hecho presencia. Los biomarcadores pueden aportar suficiente precisión al diagnóstico clínico de EA para acercarse a un nivel de precisión similar al diagnóstico *post mortem* (Sperling, R. 2010).

La especificidad y sensibilidad de las técnicas de diagnóstico de EA varían. Mientras el diagnóstico clínico tiene una especificidad y sensibilidad alrededor del 60-70% (Beach, T. 2012), estos valores aumentan tanto en diagnóstico a través de

## INTRODUCCIÓN

biomarcadores en LCR (80-90%) como en neuroimagen (80-90%) (Gaugler, J. 2013).

### **1.12.3.1 Biomarcadores en LCR**

Es una técnica invasiva que consiste en extraer una muestra de LCR mediante una punción lumbar. Niveles bajos de  $\beta A_{42}$  reflejan una gran concentración de placas de amiloide, altos niveles de TAU se correlacionan con un grado alto de neurodegeneración y un nivel alto de pTAU (TAU fosforilada) significa niveles altos de ovillos neurofibrilares.

A pesar de que existen estudios que correlacionan los biomarcadores en LCR con una disminución cognitiva, sobretodo relacionada con la memoria (Fagan, A. 2007), una reciente revisión de Cochrane concluye que el diagnóstico de EA por biomarcadores en LCR poseen mejor sensibilidad que especificidad, por lo que puede ser más útil para descartar la EA que para diagnosticarla. (Ritchie, C. 2017).

La técnica de punción lumbar es una técnica hospitalaria no exenta de riesgos e inconvenientes, el más común de ellos es el dolor. Pueden darse casos de infecciones, sangrado, hematoma subdural o cefaleas post-punción lumbar. Una reacción adversa grave, pero infrecuente, es el hematoma subdural (Vos, P. 1991).

### **1.12.3.2 Biomarcadores por neuroimagen**

El desarrollo de técnicas de imagen ha supuesto un aumento en la precisión diagnóstica en EA (Clark, C. 2012) además de tener una clara ventaja sobre los otros biomarcadores en LCR, son técnicas no invasivas. Estas técnicas pueden ser por resonancia magnética o por tomografía de emisión de positrones. Son los biomarcadores que muestran la neurodegeneración.

- Resonancia magnética (RM): las imágenes por resonancia magnética evidencian una atrofia en el lóbulo temporal. La pérdida de volumen cerebral, sobretodo en hipocampo, córtex entorrinal y amígdala, es observada por cambios cualitativos visuales.

- La tomografía de emisión de positrones (PET) es una técnica de medicina nuclear no invasiva. Está aprobado su uso como diagnóstico diferencial tanto por la FDA como por la EMEA. Veremos a continuación alguna de sus variantes:

$\beta$ A-PET (tomografía de emisión de positrones de amiloide), diferentes radiofármacos pueden ser utilizados para la detección de las placas de  $\beta$ A. El primero en ser usado fue el  $^{11}\text{C}$ -PIB o compuesto b de Pittsburg. Diferentes estudios otorgan una baja sensibilidad y especificidad, dando un número elevado de falsos negativos (Shimada, H. 2011) y positivos (Pike, K. 2007).  $^{18}\text{F}$ -Florbetapir tiene una vida media mucho más larga que el compuesto anterior y ha logrado demostrar más especificidad que otras técnicas de detección de biomarcadores en LCR (Mattsson, N. 2015). A pesar de todo, varias revisiones Cochrane, debido a la heterogeneidad de sus estudios y su alto coste piden que se demuestre su exactitud y estandarizar el proceso de la modalidad diagnóstica con TEP con  $^{18}\text{F}$ -FDG antes de utilizarlo ampliamente (Smailagic N. 2015; Martínez G. 2017).

La tomografía computerizada por emisión de fotones (SPECT) mide el flujo sanguíneo cerebral. Se ha revelado como una herramienta útil en el diagnóstico diferencial de los diferentes tipos de demencia.

Por su parte, la tomografía por emisión de positrones con fluorodexosiglucosa (FDG-PET) mide el consumo de glucosa en diferentes áreas cerebrales evidenciando una disfunción sináptica mediante el hipometabolismo cortical. Es la

## INTRODUCCIÓN

técnica más usada en el diagnóstico de EA. Es útil en el diagnóstico diferencial de EA y demencia frontotemporal (Mosconi, L. 2006).

TAU-PET es una técnica de tomografía por emisión de fotones que mide la distribución de TAU en regiones específicas del cerebro (Johnson, K. 2016).

En España ha sido aprobado un documento de consenso por la SEN y avalado científicamente por la Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (SEMNUM), la Sociedad Española de Geriátrica y Gerontología (SEGG), la Sociedad Española de Psiquiatría (SEP) y la Sociedad Española de Psicogeriatría (SEPG) (García-Ribas, G. 2017) sobre el uso de FDG-PET y  $\beta$ A-PET, técnicas complementarias en el diagnóstico por neuroimagen. Se recomienda el uso de estas técnicas en pacientes donde existe alta sospecha de EA sin llegar a satisfacer los criterios de demencia por EA probable.

### **1.12.3.3 Marcadores genéticos**

Los marcadores genéticos no solo ayudan en el diagnóstico de aquellos pacientes que ya sufren la enfermedad, también predice quién puede sufrir la enfermedad en el futuro. Dado que la EA familiar y la esporádica presentan la misma clínica y el mismo fenotipo, solo pueden ser diferenciadas por test genéticos moleculares. Las mutaciones autosómicas en EA dan un diagnóstico definitivo de la enfermedad.

EA familiar: como hemos visto anteriormente, PSEN1, PSEN2 y APP son los tres genes identificados en la EA familiar. Suelen identificarse en sangre, recomendándose en principio el estudio del gen PSEN1, donde se dan la mayor parte de las mutaciones. En EA familiar, el hallazgo de una mutación genética en PSEN1, PSEN2 o APP permite realizar con una fiabilidad del 100% un diagnóstico

de EA familiar, ya que no se ha descrito ningún paciente con demencia y una mutación en alguno de estos tres genes, en que la demencia se debería a otra causa diferente a la EA (Robles, A. 2002).

EA esporádica: ApoE4 representa el factor de riesgo más importante para la enfermedad de Alzheimer esporádica (Corder, E. 1993). La presencia de uno o dos alelos e4 en el gen que codifica la apolipoproteína E apoya el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer.

Los estudios de asociación del genoma entero (*genome wide association studies*, en inglés GWAS) han permitido que se logren grandes avances en el estudio genético de la EA (Bertram, L. 2009). Se han detectado polimorfismos en otros genes relacionados con la enfermedad de Alzheimer como ABCA7, CLU, CR1, CD33, CD2AP, EPHA1, BIN1, PICALM, MS4A, CASS4, CELF1, DSG2, FERMT2, HLA-DRB5-DBR1, INPP5D, MEF2C, NME8, PTK2B, SLC24H4-RIN3, SORL1 y ZCWPW1 (ver revisión en Bird, T. 2018).

### **1.12.3.3 Biomarcadores en fluidos biológicos**

A pesar de que se está trabajando en la obtención, validación y homogeneidad de criterios de uso para otros biomarcadores en LCR como la sinucleína (Korff, A. 2013) o TDP43 (Chang, X. 2015) estos no suponen la mejor alternativa. Los futuros biomarcadores utilizados en la práctica clínica habitual deberán ser baratos, rápidos, no invasivos y fácilmente identificables.

Los biomarcadores en fluidos biológicos (sangre, plasma u orina) cumplen todos los requisitos anteriores, son de fácil determinación, no son procesos invasivos, son rápidos y sobretodo más económicos que una punción lumbar, una resonancia magnética o un PET. El deterioro de la BHE es uno de los factores que

## INTRODUCCIÓN

puede explicar la presencia de biomarcadores en suero, plasma y orina (Bowman, G. 2007). Como ya avanzábamos en el capítulo de mecanismos moleculares de la enfermedad de Alzheimer, los biomarcadores de estrés oxidativo en fluidos periféricos podrían jugar un papel importante en la detección precoz de la EA. Los marcadores de peroxidación lipídica (Bradley-Whitman, M. 2015) como F2-isoprostano, malondialdehído (MDA) o acroleína (ACR) podrían verse alterados en pacientes que ya presentan deterioro cognitivo leve. Los biomarcadores de inflamación en tejidos periféricos también representan una oportunidad en el diagnóstico de la EA, las citoquinas como IL-6, TNF $\alpha$ , el factor de crecimiento TGF $\beta$ , la quimioquina MCP-1 o la leptina están elevados en pacientes con EA en comparación con grupo control.

La leptina es una proteína producida por el tejido adiposo relacionada con el control de la ingesta de alimentos y el gasto energético. Se ha relacionado este biomarcador en sangre con otros biomarcadores, se ha asociado la presencia del biomarcador leptina con la presencia de  $\beta$ A en LCR y con el grosor de la corteza entorrinal derecha en neuroimagen (Kiddle, S. 2012).

La proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) es una quimioquina relacionada con el transporte de células del sistema inmune con un papel importante en la inflamación en EA. Altas concentraciones de MCP-1 en plasma se han asociado a una mayor severidad de la enfermedad y a un deterioro cognitivo más rápido (Lee, W. 2018).

Los factores de necrosis tumoral (TNF) juegan un papel importante en la inflamación en la enfermedad de Alzheimer. Este biomarcador se ha revelado como un marcador fiable de EA en plasma (Britschgi, M. 2009).

Otros estudios han fijado su atención en la detección en plasma de anticuerpos contra diferentes moléculas asociadas a la enfermedad de Alzheimer, como son  $\beta$ A (Toledo, J. 2011; Koyama, A. 2011), TAU (Pascual, G. 2017) o neurotransmisores como NMDA (Doss, S. 2014) y serotonina (Gruden, M.2007).

Es especialmente interesante la tesis de Paloma Monllor, del grupo de investigación del Dr. Viña, donde diseña un estudio de biomarcadores en plasma con alta especificidad, compuesto por clusterina, RAGE, RCAN1 y PKR (Monllor Taltavull, P. 2019).

### **1.12.4 Continuum de la enfermedad de Alzheimer**

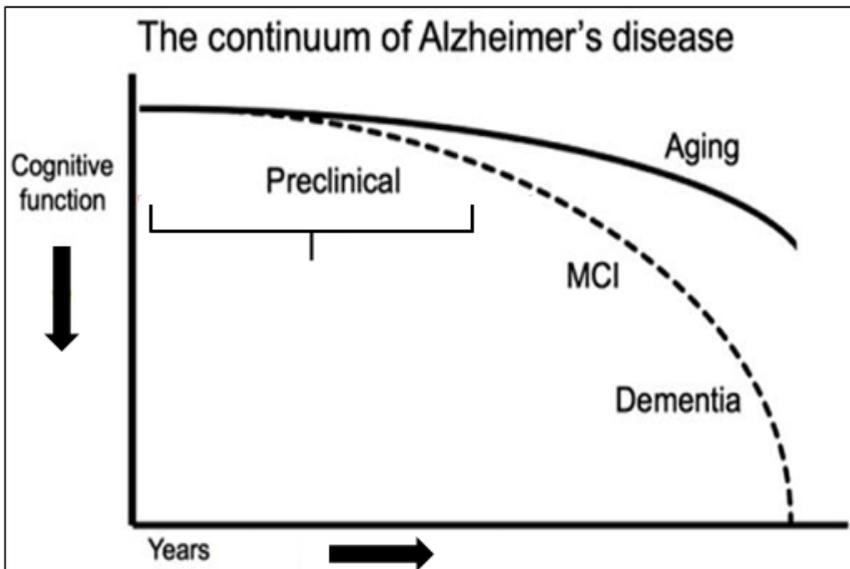
El *International Working Group for New Research Criteria for the Diagnosis of Alzheimer's Disease* (IWG) propone una alternativa al diagnóstico (Dubois, B. 2007). La novedad que introduce es la detección precoz de la enfermedad en estadios muy iniciales. Dentro de las actualizaciones del IWG, es especialmente interesante el reciente artículo de Clifford R. Jack (2018) donde da una vuelta de tuerca a las guías de 2011 con los nuevos hallazgos de la enfermedad: "El término "enfermedad de Alzheimer" se refiere a un agregado de cambios neuropatológicos y por lo tanto, se define *in vivo* por biomarcadores y por examen *post mortem*, no por síntomas clínicos" (Jack, C. 2018). Este autor define tres cambios neuropatológicos: la acumulación de  $\beta$ A, la presencia de TAU hiperfosforilada y la neurodegeneración, en lo que el autor llama la "triada ATN" (por sus siglas en inglés, *amyloid, TAU and neurodegeneration*) (Jack, C. 2018). En la **tabla 1.14** podemos ver la propuesta según perfil y categoría de biomarcador para el diagnóstico de EA. La presencia de  $\beta$ A y TAU es indispensable para el diagnóstico de la enfermedad, el que aparezca o no neurodegeneración será un marcador de la etapa en la que se encuentra el paciente.

## INTRODUCCIÓN

Perfil de biomarcador	Categoría del biomarcador	
A- T- (N)-	Biomarcadores normales, no presencia de EA	
A+ T- (N)-	Cambios patológicos debido a EA	<i>Continuum</i> de EA
A+ T+ (N)-	Cambios patológicos debido a EA	
A+ T+ (N)+	Cambios patológicos debido a EA	
A+ T- (N)+	Cambios patológicos no compatibles con EA	
A- T- (N)+	Cambios patológicos no compatibles con EA	
A- T+ (N)+	Cambios patológicos no compatibles con EA	
<p>A: <math>\beta</math>A en LCR, PET amiloide  T: TAU hiperfosforilado LCR, TAU PET  (N): Neurodegeneración o daño neuronal, medido por MRI, FDG PET y TAU total LCR</p>		

**Tabla 1.14. Perfiles y categoría de biomarcadores en EA propuesto por IWG.** El Dr. Clifford R. Jack propone el diagnóstico de la enfermedad según tres hallazgos patológicos,  $\beta$ A (A), TAU (T) y neurodegeneración (N). (Fuente: Jack, C. 2018).

Los cambios cognitivos ocurren a lo largo de un periodo de tiempo extenso (Monsell, S. 2014) y el aumento de los valores de los biomarcadores también es un proceso continuo que empieza antes que los síntomas (Villemagne, V. 2013; Schindler, S. 2015). Por tanto, se considera a la enfermedad de Alzheimer como un *continuum*, y no como tres etapas completamente diferentes (Dubois, B. 2016). Para entender un poco mejor el concepto de *continuum* recurrimos al modelo de trayectoria de EA de Sperling (**fig. 1.36**).



**Figura 1.36. Modelo de la trayectoria clínica de EA de Sperling** (Fuente Sperling, R. 2011). Vemos la variación de la función cognitiva según la edad del paciente. Hay una reducción de esta función fisiológica (por la edad) y otra reducción más acusada producida por EA. Durante la etapa preclínica, ambas disminuciones son casi paralelas, pero se pronuncia más la reducción cognitiva en pacientes con EA hasta llegar al deterioro cognitivo leve y finalmente la demencia. Como ya habíamos dicho, el DCL (en inglés *mild cognitive impairment*, MCI) supone el punto de inflexión entre el envejecimiento fisiológico y la demencia (Petersen R. 1999).

En la **figura 1.37** podemos ver la evolución de los biomarcadores según la etapa de la enfermedad (según la definición de las guías NIA-AA de 2011). Durante los estadios más tempranos de la fase preclínica podemos detectar acúmulos de  $\beta A$ , tanto en LCR como detectado por PET, este produce una pérdida de la sinapsis que se aprecia en la próxima etapa, al igual que la presencia de daño neuronal mediado por TAU. El deterioro cognitivo leve es una fase donde ya existe un daño importante neuronal provocado por  $\beta A$  y TAU, estabilizándose los valores de estos,

## INTRODUCCIÓN

y en la fase de demencia, es la función clínica la que sufre un deterioro más pronunciado (Jack, C. 2010; Sperling, R. 2011).

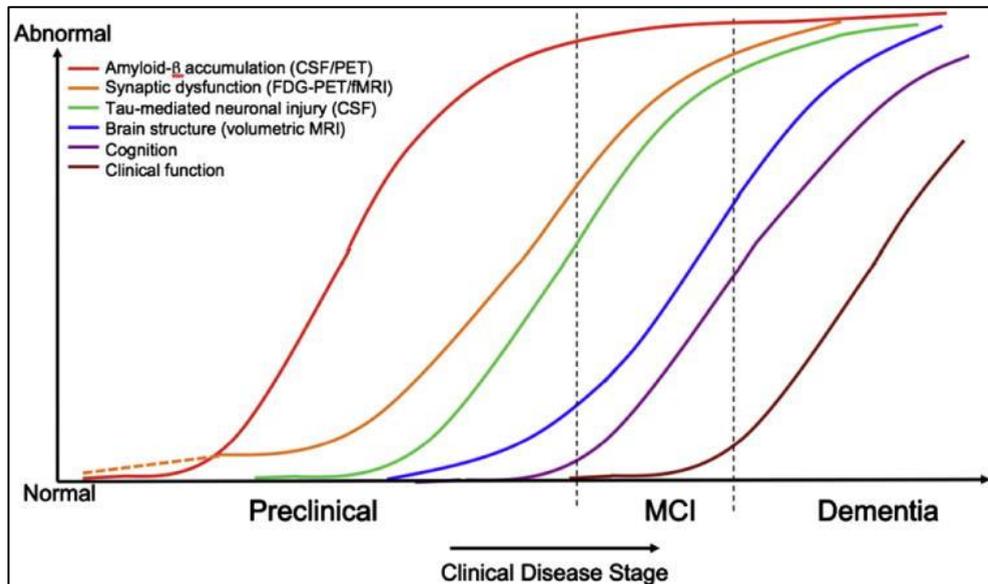


Figura 1.37. Modelo de biomarcadores dinámicos en las distintas etapas de la enfermedad de Alzheimer según la definición de las guías NIA-AA. (Fuente: Jack, C. 2010; Sperling, R. 2011).

### 1.13 Tratamiento de enfermedad de Alzheimer

El tratamiento actual de la EA tiene como meta la estabilización o el enlentecimiento de la progresión de la enfermedad, la reducción de los síntomas neuropsiquiátricos, la mejora en la calidad de vida y la reducción en la carga del cuidador (Atri, A. 2019).

### **1.13.1 Tratamientos autorizados por Agencia Europea de Medicamentos**

A pesar de ser una enfermedad de alta prevalencia, se ha demostrado que la enfermedad de Alzheimer no es una consecuencia inevitable del envejecimiento. Desde ese momento ha sido foco de atención tanto desde el punto de vista médico como social. Como hemos comentado en el apartado introductorio, la alta prevalencia e incidencia de la enfermedad, con los costes sanitarios y sociales que esta conlleva, al ser una enfermedad invalidante, ha situado a la EA en lo más alto del ranking de inversión en investigación, junto a otras enfermedades de alto impacto social y científico como puede ser el cáncer de mama.

A pesar de que la etiología de la enfermedad de Alzheimer no ha sido completamente descrita, sí estamos seguros de los cambios neuropatológicos que caracterizan a la enfermedad, entre ellos el déficit de acetilcolina-transferasa (enzima sintetizadora de acetilcolina) en el neocórtex y el hipocampo (DeKosky, D. 1992), y la pérdida neuronal y degeneración progresiva de grupos específicos de neuronas en determinados núcleos diencefálicos desde los que se originan la mayoría de fibras colinérgicas destinadas a la amígdala, hipocampo y neocórtex (Whitehouse, P. 1982).

La investigación en el campo de la EA sufre dos importantes lastres:

- El desconocimiento exacto de la etiología.
- Las dificultades de diagnóstico, unido al retraso de este. En los primeros estadios de la enfermedad, se achacan los problemas de memoria a la edad. El paciente acude a consulta, o es llevado por sus familiares, cuando la enfermedad es demasiado evidente.

## INTRODUCCIÓN

La terapéutica ha hecho un esfuerzo por comprender la fisiopatología de esta enfermedad y ha realizado aproximaciones más exitosas en las fases preclínicas que en su vertiente traslacional. Las fases preclínicas están más dirigidas a la búsqueda de fármacos o preparados que retrasen la progresión de la enfermedad.

Una de las teorías descritas para el origen de la EA es la *“hipótesis del déficit colinérgico”*. Según esta teoría, la pérdida de neuronas colinérgicas conllevaría déficits de la memoria y dificultad en el aprendizaje. Hasta ahora están aprobados los inhibidores de la acetilcolinesterasa y un antagonista del receptor del ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) como tratamientos sintomáticos de la EA en los Estados Unidos, en Canadá y en Europa. Los inhibidores de la colinesterasa (ICE), donepezilo, galantamina y rivastigmina, retrasan la degradación de la acetilcolina liberada en las hendiduras sinápticas disminuyendo la hidrólisis de la acetilcolina liberada por las neuronas presinápticas, reforzando así la neurotransmisión colinérgica (Flórez, J. 2014).

**1.13.1.1. Tacrina (fig. 1.38):** la tacrina (clorhidrato 1,2,3,4-tetrahydro-9-acridinamina monohidrocloro monohidrato) fue la punta de lanza de los inhibidores de la acetilcolinesterasa y por tanto deudor directo de la hipótesis colinérgica. Su hepatotoxicidad y la necesidad de constantes analíticas hepáticas para asegurar el correcto funcionamiento hepático, unido a la aparición de nuevas moléculas en el arsenal terapéutico contra la EA, empujó a la retirada paulatina de este fármaco (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, CGCOF 2014)

**1.13.1.2 Donepezilo (fig. 1.38):** es un colinérgico derivado piperidínico, inhibidor central reversible y selectivo de la colinesterasa cerebral, enzima encargada de la hidrólisis de la acetilcolina, lo que se traduce en un incremento de los niveles de

esta. A diferencia de la tacrina, es un fármaco bien tolerado, con apenas reacciones adversas gastrointestinales. Está indicado en el tratamiento de la demencia de tipo Alzheimer leve o moderadamente grave. (CIMA-AEMPS, 2019). No hay evidencias de que demore el curso de la enfermedad, por lo que al retirar el fármaco es probable que el deterioro sea rápido.

El fármaco ha demostrado eficacia en diferentes metanálisis y revisiones en el tratamiento de síntomas provocados por la EA, así como en la mejora cognitiva (Dooley, M. 2000; Birks, J. 2006; Burke, D. 2012).

**1.13.1.3 Rivastigmina (fig. 1.38):** es un agonista colinérgico de acción indirecta, con estructura carbámica, que aumenta la semivida y los efectos de la acetilcolina al inhibir de forma covalente y reversible a la acetilcolinesterasa. También inhibe a la butirilcolinesterasa. Los efectos adversos son principalmente gastrointestinales y suelen aparecer a dosis altas. Está autorizado en el tratamiento de la EA leve o moderadamente grave (CIMA-AEMPS, 2019). Posee efectos beneficiosos sobre los síntomas cognitivos. Puede dosificarse en parches, lo que disminuye los efectos adversos del fármaco y aumenta la adherencia, ya que la posología es un parche en la espalda una vez al día, mientras la forma oral implica tomar un comprimido cada doce horas. Esta formulación es beneficiosa para aquellos pacientes que tragan con dificultad o que no son cumplidores a la hora de tomar la medicación. Rivastigmina ha demostrado una mejora en la cognición y es una buena opción para el tratamiento sintomático de la EA (Onor, M. 2007; Birks, J. 2015).

**1.13.1.4. Galantamina (fig. 1.38):** es una molécula parasimpaticomimética, alcaloide terciario inhibidor selectivo, competitivo y reversible de la acetilcolinesterasa. Además, la galantamina estimula la acción intrínseca de la acetilcolina sobre los receptores nicotínicos, probablemente mediante la fijación a

## INTRODUCCIÓN

un lugar alostérico del receptor. Existen evidencias de su eficacia en la mejora de la función global, test cognitivos y conducta en pacientes con enfermedad leve o moderada. Aparte de los típicos problemas colinérgicos (sobre todo gastrointestinales), la galantamina tiene efecto vagotónico sobre la frecuencia cardíaca. La AEMPS sólo autoriza su uso en demencia tipo Alzheimer, realizándose un seguimiento regular de los pacientes para evitar la aparición de efectos adversos cardiovasculares (CIMA-AEMPS, 2019).

La galantamina mantiene los niveles de cognición a medio plazo, y mejora síntomas de la enfermedad de Alzheimer y actividades de la vida diaria (Scott, L. 2000; Olin, J. 2002).

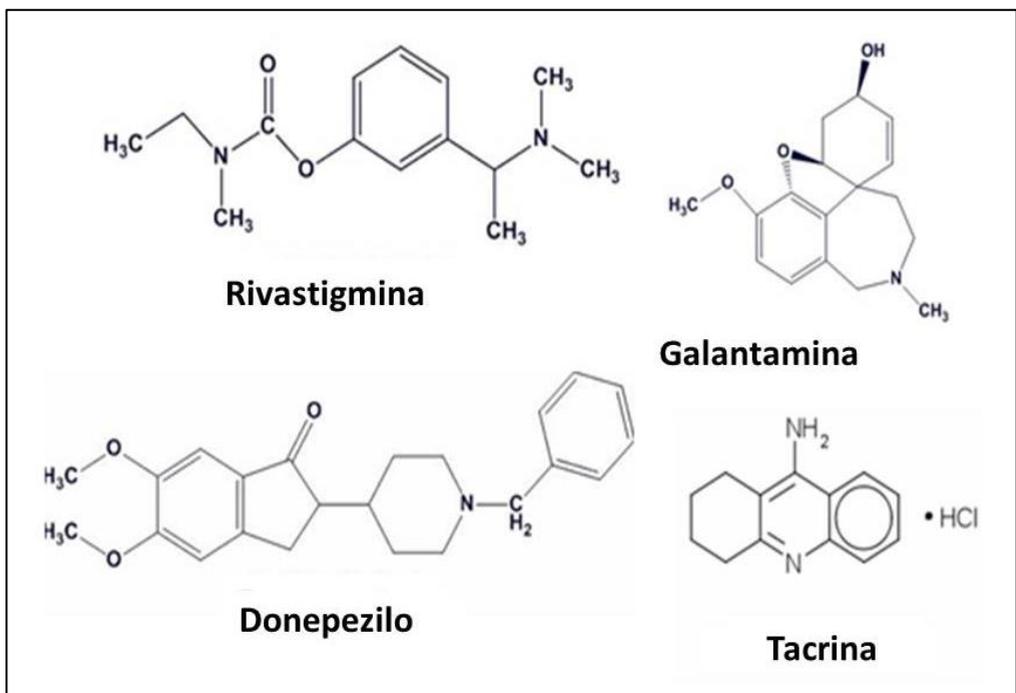


Figura 1.38. Fármacos anticolinérgicos aprobados por la AEMPS

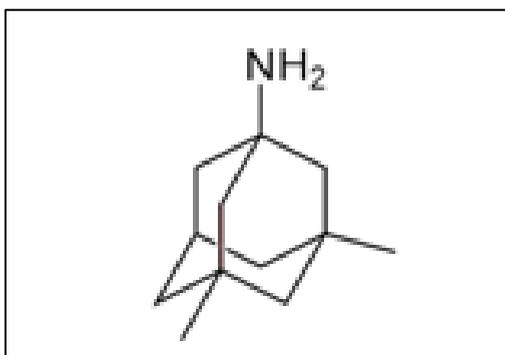
Los inhibidores de la colinesterasa aprobados por las autoridades sanitarias son eficaces para la enfermedad de Alzheimer leve a moderada. A pesar de haber resultado una estrategia más acertada que sus parientes, los fármacos precursores de la acetilcolina, como son la lecitina y la citicolina (que veremos en el próximo apartado), tienen eficacia clínica escasa, limitándose a ser una medida paliativa aplicable solo en las fases iniciales de la enfermedad, en el tratamiento de los síntomas neuropsiquiátricos.

Los tres inhibidores de la colinesterasa que hemos visto son eficaces para la EA leve a moderada. No es posible identificar a los pacientes que responderán al tratamiento antes del mismo. A nivel clínico sólo influyen levemente en el deterioro cognitivo, y no en el funcional ni en el emocional. Esto podría explicarse por el hecho de que el déficit colinérgico va seguido del déficit de otros neurotransmisores, aparte de la destrucción neuronal y del depósito de proteínas anormales. No existen diferencias entre ellos en cuanto a eficacia, donepezilo ofrece un perfil de seguridad más adecuado (Birks, J. 2008).

**1.13.1.5 Memantina (fig. 1.39):** es un antagonista no competitivo, dependiente de voltaje y de moderada afinidad de los receptores NMDA del ácido glutámico, y actúa previniendo la excesiva entrada de calcio en el interior neuronal. La memantina es un modulador del receptor NMDA, que permite mantener la funcionalidad del receptor y su respuesta hipercalcemiantes intracelular dentro de los niveles fisiológicos, previniendo una respuesta excesiva ante un nivel alto de ácido glutámico. Este fármaco está indicado en el tratamiento de pacientes con EA moderada o grave. Las reacciones adversas más frecuentes son digestivas, hepáticas (aumento de transaminasas), cardiovasculares (hipertensión arterial) y neurológicas (vértigo, cefalea, y somnolencia). La memantina, antagonista NMDA aunque indicada en EA moderada o grave, presenta frecuentes y graves

## INTRODUCCIÓN

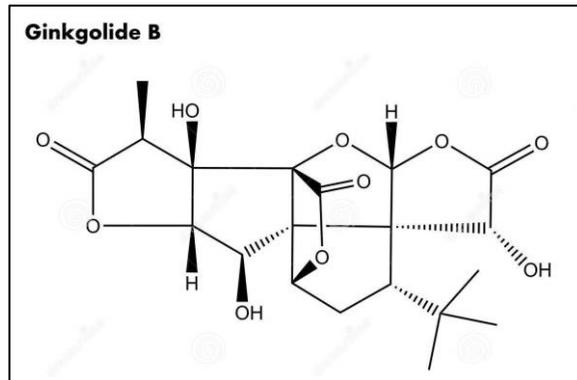
reacciones adversas al medicamento (RAM) (CIMA-AEMPS, 2019). Memantina es el único fármaco aprobado hasta la actualidad que ha demostrado mejora cognitiva y del estatus global del paciente en el tratamiento sintomático de la EA moderada a grave (Robinson, D. 2006).



**Figura 1.39. Molécula de memantina**

La terapia combinada de fármaco anticolinérgico y antagonista NMDA, especialmente donepezilo y memantina, ha mostrado beneficio en el tratamiento de la EA moderada a grave en cuanto a cognición, síntomas neuropsicológicos y actividades de la vida diaria (Howard, R. 2012; Matsunaga, S. 2015).

**1.13.1.6 *Ginkgo biloba* (fig. 1.40):** se ha usado durante siglos en la medicina tradicional china. Sigue siendo uno de los compuestos naturales más usados en la actualidad en todo el mundo. EGb761<sup>®</sup> es un extracto seco de las hojas de *ginkgo biloba* que contiene entre un 22-27% de glucósidos flavonoides, un 5-7% de lactonas terpénicas y trazas de ácidos ginkgólicos (Kandiah, N, 2019).



**Figura 1.40. Molécula de *Ginkgo biloba***

Es una molécula de difícil clasificación farmacéutica. Mientras en algunos países es considerado un suplemento nutricional, en otros, como España, China o Alemania se considera fármaco. En nuestro país, la indicación aprobada depende de la dosis. En una dosis de 120 mg diario está indicado en el “*tratamiento sintomático de alteraciones en la microcirculación cerebral (como vértigos y tinnitus) o de los síntomas asociados a insuficiencia circulatoria en las extremidades (tales como calambres y sensación de frío en las piernas)*”. A dosis de 240 mg diarios, “*mejoría del deterioro cognitivo asociado a la edad*”. (CIMA-AEMPS, 2019).

*Ginkgo biloba* ha demostrado una mejora significativa de la función cognitiva, mejora en los síntomas neuropsiquiátricos y calidad de vida en pacientes con demencia leve a moderada. Esta molécula funciona como *scavenger* de radicales libres, mejorando la función mitocondrial, modula la serotonina en varias áreas cerebrales (recordemos el uso de los fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina en modelos animales, que aumentaban el aclaramiento de  $\beta A$  (Cirrito, J. 2011)), disminuye la formación de las fibrillas de  $\beta A$  (Hoyer, S. 1999; Wu, Y. 2006). Además disminuye la viscosidad de la sangre, mejora la microperfusión sanguínea y tiene beneficios en la circulación sanguínea cerebral,

## INTRODUCCIÓN

lo que redundará en una mejora de las enfermedades cerebrovasculares (Rodríguez, M 2007). Recordemos como las lesiones vasculares no solo aumentan el riesgo de padecer demencia, sino también exacerban la enfermedad (Thal, D. 2003) y que aproximadamente la mitad de población muy anciana sufren demencias mixtas, donde las dolencias vasculares juegan un papel muy importante en la enfermedad (Schneider, J. 2009a). Tiene un perfil de seguridad adecuado, aunque se han descrito reacciones adversas de sangrado, el balance beneficio-riesgo está a favor del uso del fármaco (Kellermann, A. 2011).

### **1.13.2 Tratamientos en estudio: Nuevas oportunidades en el tratamiento de EA**

Es irónico el título de este apartado, ya que hablaremos de “viejas” moléculas usadas en otras indicaciones, lo que llamamos reposicionamiento de fármacos (por ejemplo, AINEs y estatinas), bien defenestradas en su uso habitual (como es el caso de la citicolina) e incluso retirados del mercado (rosiglitazona), que podrían retrasar el avance de la enfermedad.

Hasta ahora hemos visto los fármacos que potencian las facultades cognitivas que pierde paulatinamente el paciente. Entremos en otro subconjunto virtual de fármacos o principios activos naturales que conseguirán retrasar la progresión de la enfermedad.

Recordemos de nuevo la importancia de un diagnóstico a tiempo en la EA. Pues bien, pacientes con deterioro cognitivo leve, que incluso estén lejos teóricamente de presentar criterios diagnósticos de demencia, podrían estar considerados firmes candidatos a presentar en el tiempo un estadio precoz de demencia, ya que se estima que alrededor del 12% de pacientes con deterioro cognitivo leve progresarán a EA (Sramek, J. 2000). Por esta causa, hablaremos de la importancia de buscar fármacos que puedan prevenir o enlentecer la evolución de esta

situación clínica. Dentro de este grupo, como veremos en el siguiente apartado, situaremos a nuestro fármaco en investigación, la genisteína.

**1.13.2.1. Acetilcolina:** Las primeras estrategias consistieron en fármacos precursores de la acetilcolina, como la lecitina o la citicolina. La citicolina es un precursor esencial para la síntesis de fosfaditilcolina, componente de la bicapa lipídica de la membrana celular. La citicolina es una molécula orgánica compleja compuesta de colina, citidina, ribosa y pirofosfato. La citidina y la colina son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y llegan al Sistema Nervioso Central (SNC), donde son incorporadas a la fracción fosfolipídica de las membranas y microsoma para el mantenimiento y regeneración de la bicapa lipídica (Secades, J. 1995). Tras años y años de “*cocktails neuroprotectores*”, estos fármacos no demostraron eficacia terapéutica en fases clínicas de investigación (Secades, JJ. 2012). A pesar de que la mayoría de estudios con citicolina se han llevado a cabo en ictus, también se ha probado sin demasiado éxito en enfermedad de Alzheimer (Alvarez, X. 1999). Las últimas investigaciones apuntan al uso de este fármaco en demencias vasculares (Gareri, P. 2015).

A pesar de la no evidencia científica con el tratamiento con citicolina en demencia, existe un extendido uso de este fármaco *off-label* en el ámbito de la Comunidad Valenciana. (GAIA, 2013), la citicolina está indicada en el tratamiento de los trastornos neurológicos y cognitivos asociados a los accidentes cerebrovasculares y a los traumatismos craneales (CIMA-AEMPS, 2019). Sin embargo, según datos de consumo de fármacos en la Comunidad Valenciana en 2013 el 97% de pacientes no tienen un diagnóstico relacionado con la aprobación indicada de citicolina, entre otros se pauta para demencia senil, enfermedad de Alzheimer, pérdida de memoria, estados de ansiedad, vértigos, mareos, etc. (SIA-GAIA, 2013).

## INTRODUCCIÓN

**1.13.2.2. Antiinflamatorios no esteroideos:** Se comprobó en estudios retrospectivos, que aquellos pacientes que habían sido tratados con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) eran menos propensos a padecer EA (Breitner, J. 1994). Se ha comprobado que tanto la ciclooxigenasa-1 (COX-1) como la ciclooxigenasa-2 (COX-2) potencian la generación del  $\beta$ A mediante la actividad de la  $\gamma$ -secretasa (Qin, W. 2003). Varios estudios con modelos animales de EA han demostrado que la administración continuada (durante al menos 6 meses) de AINEs reduce los niveles de  $\beta$ A, disminuyen el tamaño de las placas (Blasko, I. 2001), pero metanálisis han demostrado que no existe evidencia científica que apoye su utilidad, además de los serios efectos adversos de los AINEs a largo plazo (Tabet, N. 2003).

Se ha demostrado que los AINEs no protegen frente a la demencia vascular, de ahí la importancia de un correcto diagnóstico (In 't Veld, B. 2001). En el mismo estudio se demuestra que existe una protección mayor de AINEs en individuos portadores al menos de un alelo ApoE4 que aquellos que no lo poseen (In 't Veld, B. 2001).

Los AINEs no demuestran ninguna eficacia cuando la enfermedad ya está avanzada (Imbimbo, B. 2010). El campo de la investigación de los antiinflamatorios en la enfermedad de Alzheimer parece solo abierto a los ensayos clínicos para la prevención de la enfermedad.

**1.13.2.3. Estatinas:** Los estudios relacionados con estatinas buscan, al igual que los AINEs, potenciar la vía no amiloidogénica en el procesamiento de la APP mediante la interacción con las secretasas (Tang, B. 2005). Las estatinas bloquean la capacidad de interferon- $\gamma$  de activar los linfocitos T, por lo que podría reducirse el comportamiento inflamatorio que tanto repercute en la EA. Además, se ha

demostrado que la vasoconstricción que el péptido  $\beta$ A induce mediante la activación de vías proinflamatorias puede abolirse mediante el tratamiento con estatinas (Sidera, C. 2005).

También resulta interesante la línea de investigación que defiende la posible influencia de las estatinas sobre el procesamiento de la proteína APP en concreto inhibiendo las  $\beta$ -secretasas, previniendo la formación de  $\beta$ A (Pedrini, S. 2005).

Las estatinas, están en el punto de mira de las agencias reguladoras (Fda.gov. 2012) por el riesgo de diabetes, posibilidad de daño muscular y otras RAM. No se recomienda el uso de estatinas como prevención de la enfermedad de Alzheimer (Appleton, J. 2017).

**1.13.2.4. Rosiglitazona:** agonista PPAR $\gamma$ , tiazolidindiona aprobada en el tratamiento de segunda línea de la *diabetes mellitus* tipo 2 en pacientes no controlados con los tratamientos de primera línea o intolerantes a los mismos. Retirado por la FDA y la EMEA en 2012 ya que la evaluación de la relación beneficio-riesgo concluía que los potenciales riesgos de tipo cardiovasculares de este fármaco superaba sus posibles beneficios (AEMPS: Comunicación sobre riesgos de medicamentos para profesionales sanitarios, 2010). Dos factores han llevado al fracaso a los ensayos clínicos con glitazonas, ambos relacionados con la barrera hematoencefálica, la resistencia a fármacos provocada por la glicoproteína-P y no tener en cuenta las mezclas racémicas activas y si estas traspasan la BHE (Chang, K. 2015).

**1.13.2.5 Resveratrol:** compuesto natural que en modelos animales ha dado buenos resultados en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Disminuye la presencia de metaloproteinasas en LCR, modula la neuroinflamación e induce el sistema inmune (Moussa, C. 2017). La discusión sobre la baja biodisponibilidad

## INTRODUCCIÓN

oral del resveratrol es antigua (Walle, T. 2004) pero nuevas fórmulas farmacéuticas, como la encapsulación en nanopartículas puede mejorar su absorción (Peñalva, R. 2018).

**1.13.2.6 Fármacos biológicos:** El uso de inmunoterapia pasiva con anticuerpos monoclonales (en inglés *monoclonal antibodies*, mabs) contra el péptido  $\beta$ A ha conseguido excelentes resultados en fases preclínicas y en fases de investigación en humanos temprana, pero han fracasado en fases más avanzadas de la investigación. Los anticuerpos monoclonales no constituyen la panacea, pero su ventaja respecto a otros tratamientos, como puede ser el reconocimiento de epítomos específicos y la disminución de toxicidad que esto acarrea, hacen de estos fármacos un foco de atención en la lucha contra la EA. La terapia inmunológica, más concretamente los anticuerpos monoclonales resultan ser una esperanza factible a corto-medio plazo, pero se encontrará con todos los requisitos científicos propios de los fármacos biológicos: desarrollo de la molécula, producción a gran escala, buenas prácticas de fabricación, farmacovigilancia y planes de gestión de riesgo, que retrasan su aparición en el mercado y aumentan considerablemente su precio. Los ensayos clínicos con solanezumab, gantenerumab o crenezumab han sido parados, pero estas moléculas no deben ser aún defenestradas, nuevos ensayos clínicos evaluarán estos fármacos en fases prodrómicas de la enfermedad. Los resultados de estos ensayos clínicos en fases tempranas y resultados de los actuales EECC fallidos deberán tenerse en cuenta a la hora de analizar el papel de los mabs en la terapéutica de la EA (Van Dyck, C. 2018).

1.13.2.6.1 Bapineuzumab: primer anticuerpo monoclonal en EECC de EA (Salloway, S. 2009) cuyo *target* era el aumento del aclaramiento de  $\beta$ A en su isoforma oligomérica. A pesar de haber demostrado reducir las placas de  $\beta$ A en

cerebro y mejorar la memoria de ratones transgénicos (Bard, F. 2000), los resultados en fase III no fueron buenos, seguramente porque la acumulación de  $\beta$ A empieza mucho antes del inicio de los síntomas y el inicio del tratamiento anti-amiloide empieza demasiado tarde para alterar el curso de la enfermedad (Sperling, R. 2011b). Importantes efectos adversos fueron descritos con el uso de este anticuerpo, se detectaron alteraciones en las pruebas de RM; edema cerebral o ARIA-E (en inglés *Amyloid-related imaging abnormalities-Edema*) y microhemorragias cerebrales (ARIA-H (en inglés *Amyloid-related imaging abnormalities- microHaemorrhages*)) (Pfeifer, M. 2002).

1.13.2.6.2 Solanezumab: es un anticuerpo monoclonal humanizado cuyo mecanismo de acción es el aclaramiento de  $\beta$ A, mediante su unión a los monómeros de este. Los ensayos en fase III con solanezumab no mostraron beneficio significativo frente a placebo (Honig, L. 2018).

1.13.2.6.3 Crenezumab: es un anticuerpo monoclonal IgG1 que atraviesa la BHE y tiene gran afinidad por los oligómeros de  $\beta$ A. Si bien sigue en EECC en EA familiar (en pacientes con mutación PSEN1) (Tariot, P. 2018), recientemente se han parado los estudios en fase III en EA esporádica (Roche.com. 2019).

1.13.2.6.4 Gantenerumab: es un anticuerpo monoclonal completamente humano con gran afinidad por  $\beta$ A agregado y elimina las placas de A $\beta$  mediante fagocitosis mediada por el receptor Fc (Bard, F. 2000). Se han parado los ensayos clínicos en fase III con gantenerumab por falta de eficacia en la dosis elegida, pero se sospecha que a dosis más altas el fármaco podría presentar una mejor eficacia (Ostrowitzki, S. 2017).

1.13.2.6.5 Aducanumab: anticuerpo monoclonal dirigido contra la agregación de  $\beta$ A, ha tenido éxito en los ensayos clínicos en fase III en pacientes en fase

## INTRODUCCIÓN

prodrómica o leve de la enfermedad (Sevigny, J. 2016). El estudio PRIME contempla un estudio de extensión del aducanumab a largo plazo (112 meses) (Clinicaltrials.gov. 2019). Los resultados parciales (48 meses) han sido presentados en el congreso *11th Clinical Trials on Alzheimer's Disease* en Barcelona con efectos positivos (Von Rosenstiel, P. 2018). El principal efecto adverso ha sido ARIA-E en un porcentaje alto de pacientes, pero en un 61% de ellos fue asintomático y en el resto se resolvió el efecto adverso en menos de 12 semanas y no se ha producido ningún abandono por este motivo.

Me gustaría hacer una reflexión en este punto sobre el tratamiento contra la enfermedad de Alzheimer como medicina preventiva. Partamos de varias premisas, la primera, la detección de la enfermedad, decíamos que existen biomarcadores detectables incluso décadas antes de que la enfermedad se haga patente. Por otra parte, hemos afirmado varias veces en esta tesis que la principal teoría que explica el fallo de los fármacos en EA es que el tratamiento empieza demasiado tarde, cuando el daño neuronal ya es irreversible. Permítame el lector establecer una analogía con el alirocumab, anticuerpo monoclonal que actúa inhibiendo PCSK9, provocando una disminución de los niveles de colesterol en sangre que reduce la morbilidad y mortalidad si se administra antes o después de un infarto de miocardio, pero su efecto es mínimo si se administra tras un fallo cardíaco congestivo, cuando el daño del miocardio es irreversible (Catapano, A. 2013). Extrapolemos esta reflexión a los fármacos en investigación contra la EA. ¿Cómo puede un fármaco recuperar las funciones cognitivas de un paciente si este ya ha perdido en las fases de deterioro cognitivo medio el 50% de las neuronas en el lóbulo temporal medio? (Gómez-Isla, T. 1996). Sigamos con la analogía, el alirocumab es un *long term mab*, es decir, la duración del tratamiento de este anticuerpo monoclonal es a largo plazo donde el balance beneficio-riesgo

dictará la conveniencia o no de cronificar este tratamiento. El aducanumab se encuentra en esta encrucijada, quizás nos veamos en la necesidad de cronificar su uso (no dudamos que la farmacotecnia encontrará formas farmacéuticas de más fácil administración, pasando de ser de uso hospitalario a uso ambulatorio o incluso domiciliario).

**1.13.2.8 Inmunoterapia activa:** la inmunoterapia activa en EA data de 1999, cuando se realizan con éxito las primeras vacunas en ratones ancianos (Schenk, D. 1999), pero empieza su andadura en humanos con la molécula AN-1792, una vacuna contra el péptido  $\beta$ A que si bien demostró aumentar el aclaramiento de las placas amiloides y reducir pTAU, no demostró mejora cognitiva (Robinson, S. 2004). Actualmente moléculas como CAD106 o Lu AF20513 siguen en fases clínicas de investigación.

**1.13.2.9 Otras inmunoterapias:** han sido sin mucho éxito la avanzadilla de los anticuerpos monoclonales, como la IGIV, inmunoglobulina intravenosa humana purificada que contiene anticuerpos del tipo de la inmunoglobulina G (IgG) humana obtenida a partir de plasma de donantes sanos. La IGIV produce efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios que pueden ser relevantes para el tratamiento de la EA. Se ha demostrado que los sueros humanos de donantes normales contienen anticuerpos contra el péptido  $\beta$ A y que estos anticuerpos son neuroprotectores *in vitro*. Además, estos anticuerpos se unen a los agregados de  $\beta$ A, estimulando la disolución de las fibrillas de  $\beta$ A y potenciando la fagocitosis de los depósitos de amiloide *in vitro*, que está mediada por la microglía. A pesar de haber fracasado en su primer intento de establecerse en la terapia anti-Alzheimer (Puli, L. 2014) los resultados del estudio AMBAR, donde se combina IGIV con plasmaféresis son más que esperanzadores (Boada, M. 2017). La hipótesis de este estudio es que  $\beta$ A circula en plasma ligado a la albúmina. Si se realiza un recambio

## INTRODUCCIÓN

de plasma por albúmina mediante plasmaféresis, se consigue un aclaramiento del péptido  $\beta$ A.

### **1.13.2.10 Inhibidores de $\gamma$ -secretasa:**

1.13.2.10.1 Semagacestat, inhibidor de la  $\gamma$ -secretasa, a pesar de que en estudios en fase I y II había demostrado una importante disminución del péptido  $\beta$ A, los estudios en fase III fueron parados antes de su finalización ya que comparado con placebo, semagacestat no solo no mejoraba el estatus cognitivo, sino que a altas dosis había una disminución en los test funcionales y además provocó reacciones adversas importantes como cáncer de piel e infecciones (Doody, R. 2013).

**1.13.2.11 Inhibidores tirosin kinasa (TKI):** Los TKI son moléculas pequeñas, perfectas para la absorción oral, pero son muy inespecíficos, bloquean tantas vías de la señalización celular que da como resultado la alteración de un gran número de procesos fisiológicos (Gotink, K.J. 2010).

1.13.2.11.1 Tideglusib: inhibidor de tirosin kinasa (TKI), derivado de la 1,2,4-tiadiazolidina-3,5-diona es un inhibidor irreversible de la enzima Glucógeno Sintasa Kinasa 3 (GSK-3). GSK-3 es una serina/treonina protein kinasa implicada en múltiples procesos celulares y posiblemente involucrada en el proceso degenerativo provocado por la EA. GSK-3 fosforila la proteína TAU por múltiples sitios *in vitro* y expresa ovillos neuronales fibrilares en ratones transgénicos (Alonso, M. 2004). Los estudios en fase II muestran seguridad de la molécula, pero no beneficio clínico, nuevos estudios a largo plazo y en enfermedad más incipiente están en marcha (Lovestone, S. 2015).

### **1.13.3 Terapia propuesta por Grupo de Investigación en Envejecimiento y Ejercicio Físico del Departamento de Fisiología de UV.**

#### **1.13.3.1 Tratamiento con genisteína:**

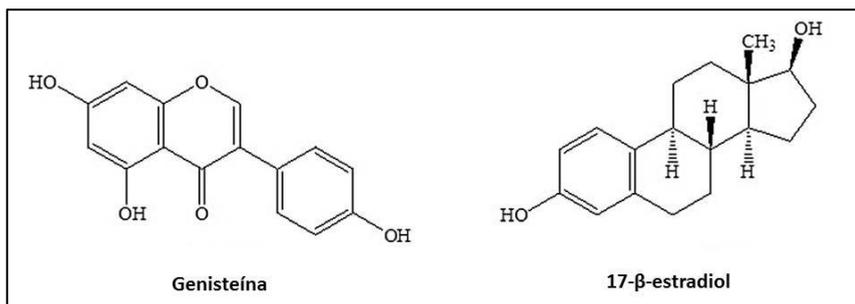
Las isoflavonas son unos compuestos que tienen en común la presencia de una estructura derivada de la 3-fenil-benzopirán-4-ona. Al igual que las flavonas presentan un encadenamiento Ar-C<sub>3</sub>-Ar, pero se diferencian de estas en que son de tipo 1,2-difenil-propano, en vez de 1,3-difenil-propano.

Las isoflavonas aparecen sobre todo en especies de la familia de las *Fabaceae*, como son la soja (*Glycine max*) o el trébol rojo (*Trifolium pretense*). Las principales isoflavonas aisladas en estas especies vegetales son la genisteína, la daidzeína y la gliciteína y sus derivados glucosilados y metoxilados. Entre estos derivados se han descrito la genisteína y la biochanina A (precursores de la genisteína) y la daidzina y la formononetina (precursores de la daidzeína). (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014)

La actividad farmacológica de las isoflavonas es:

- a) Acción farmacológica: presentan actividad agonista estrogénica debida a su interacción con los receptores del 17- $\beta$ -estradiol por su similitud estructural con este (**fig. 1.41**).

## INTRODUCCIÓN

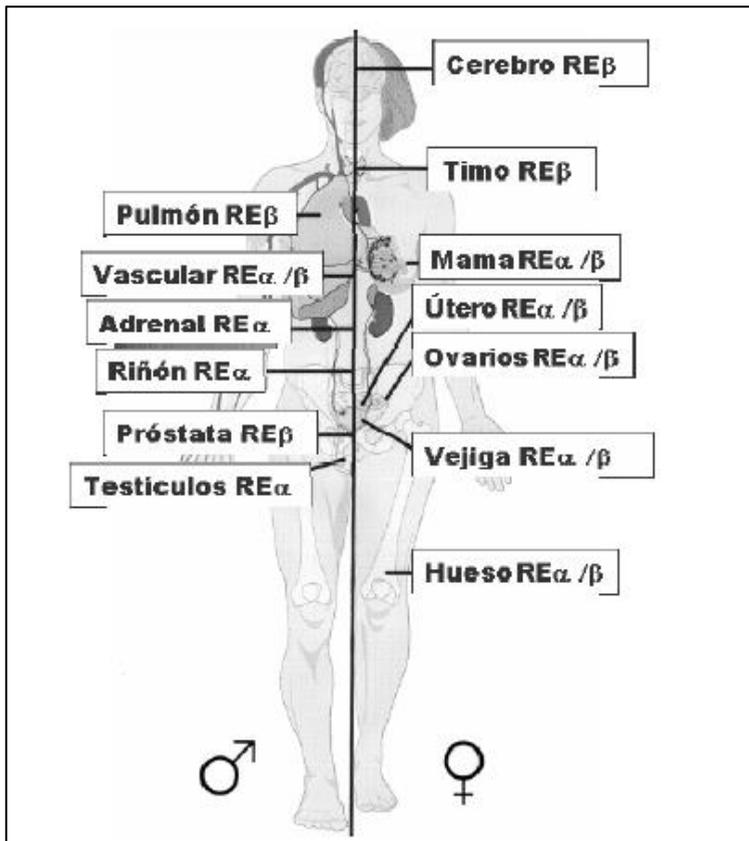


**Figura 1.41. Moléculas de 17-β-estradiol y genisteína**

- b) Protector antiaterogénico: los fitoestrógenos han demostrado poder protector sobre el sistema cardiovascular, disminuyendo el riesgo de padecer aterosclerosis en mujeres menopáusicas. Este efecto puede deberse a dos factores: 1) el efecto hipolipemiante, ya que los fitoestrógenos mejoran el perfil lipídico por sus efectos estrogénicos, y 2) efecto antioxidante: los fitoestrógenos reducen el estrés oxidativo y mejoran parámetros relacionados con el envejecimiento (Borras, C. 2006).

Pero centrémonos en la genisteína, tratamiento usado en nuestro trabajo. El mecanismo de acción de la genisteína es debido a su similar estructura química del 17-β-estradiol tal y como veíamos en la **figura 1.41**. La genisteína tiene más selectividad por los receptores estrogénicos β (ER-β) que por los ER-α (siendo esta selectividad de 7 a 30 veces mayor). A diferencia de la genisteína, el estradiol presenta afinidades similares por ambos receptores (Fitzpatrick, L. 2003). Esto explica el hecho de que la genisteína haya presentado más efecto en tejidos más ricos en ER-β como sistema nervioso central. Se ha demostrado tal y como podemos ver en la **figura 1.42** que existe una distribución heterogénea de los receptores estrogénicos entre hombres y mujeres, y además dentro de cada género existe una redistribución diferente según los órganos (Setchell, K. 1999).

Aunque las moléculas de estradiol y genisteína no sean exactamente iguales, y quizás la disposición estructural conformacional del estradiol no haga presagiar que la genisteína se unirá de igual forma a receptores estrogénicos, el complejo resultante es funcionalmente equivalente al formado por el estradiol. Para que esto ocurra, el rango de concentración de genisteína debe ser  $10^4$  veces mayor que para la concentración de estradiol (Navarro, M. 2005).



**Figura 1.42.** Distribución de receptores estrogénicos en hombres y mujeres (Fuente: Setchell, K. 1999).)

## INTRODUCCIÓN

Las isoflavonas pueden tener capacidad antiestrogénica o estrogénica según la concentración de estrógenos, a concentraciones bajas de estrógenos actuarían como agonistas estrogénicos y a concentraciones elevadas su acción sería antagonista estrogénico (HWang, C. 2006).

En resumen, podemos decir que genisteína presenta varios mecanismos de acción protectora frente las placas de  $\beta$ A, los más importantes:

1) Por una parte, es una isoflavona vegetal que actúa como antioxidante frente a la formación de radicales libres por la mitocondria y protege de la toxicidad frente el péptido  $\beta$ A, ya que estimula receptores estrogénicos de membrana, activando una cascada de señalización que a nivel de DNA activaría la expresión de enzimas antioxidantes como la manganeso-superóxido dismutasa (Viña, J. 2007)

2) El hecho de que la genisteína incremente también la expresión de PPAR $\gamma$  (Dang, Z. 2002) juega un importante papel, ya que PPAR $\gamma$  aumenta la expresión de apoE por parte de los astrocitos, lo que incrementa el aclaramiento cerebral del péptido  $\beta$ A, pudiendo contribuir al retraso de la enfermedad (Valles, S. 2010; Bonet-Costa, V. 2016).

### **1.13.3.2 *¿De dónde venimos, a dónde vamos? (de los cultivos celulares al *first in humans*)***

En este apartado haremos un breve resumen de cómo hemos llegado a nuestro estudio de genisteína en humanos, empezando por las terapias hormonales de los años 70 y su impacto en cognición, pasando por los cultivos celulares y los experimentos animales, hasta llegar al primer estudio en humanos enfermos de Alzheimer.

### **Terapia estrogénica y función cognitiva**

Los efectos de la terapia estrogénica en función cognitiva son conocidos desde hace muchos años, diferentes estudios han relacionado la terapia estrogénica con la depresión, los trastornos cognitivos o pérdida de memoria (ver revisión en Fillit, H. 1986). Muchos estudios retrospectivos han demostrado una correlación inversa entre terapia hormonal sustitutiva e incidencia de EA (ver revisión en Vegeto, E. 2008).

Los estrógenos promueven el crecimiento y la supervivencia de neuronas colinérgicas y podrían disminuir el depósito amiloideo. Todo ello se traduciría en una disminución del riesgo relativo de desarrollar la EA y retraso del inicio de la enfermedad. Las acciones que ejercen a nivel cerebral son (Burns, A. 1996):

- Estímulo de precursores colinérgicos: acetilcolina transferasa, acetilcolinesterasa y receptores muscarínicos, serotoninérgicos y de otras monoaminas.
- Prevención de la atrofia neuronal en regiones del hipocampo.
- Actuación como cofactores de los factores de crecimiento neuronal.
- Estímulo del flujo sanguíneo cerebral, incrementando la perfusión cerebral asociada a una mejor función cognitiva.
- Revierte las alteraciones neuronales causadas por glucocorticoides.

El *Women's Health Initiative Memory Study* (WHIMS) concluye que la terapia hormonal tiene efectos negativos en la cognición en mujeres mayores de 65 años (Espeland, M. 2004). Sin embargo, estos datos fueron rebatidos al analizarse la edad de inicio de la terapia hormonal. En el ensayo clínico se incluyeron pacientes

## INTRODUCCIÓN

en las que había empezado la menopausia mucho antes de la toma de estrógenos. Estas pacientes, al recibir terapia hormonal sustitutiva (THS) tenían más riesgos que beneficios. Los efectos beneficiosos de los estrógenos se manifiestan cuando el tratamiento se iniciaba de forma temprana después de la menopausia (Resnick, S. 2006). En cuanto a la relación entre estrógenos y ApoE 4, un estudio en más de 1000 pacientes concluye que la utilización de estrógenos durante la menopausia se asocia a una disminución del riesgo de Alzheimer en mujeres heterocigóticas para ApoE4 y en mujeres con otros genotipos ApoE, pero no para mujeres homocigóticas para ApoE4 (Tang, M. 1996).

### **Estudios *in vitro***

p38 es una MAPK (proteína quinasas activadas por mitógenos) activadora de fosfatasas de TAU, que provoca la hiperfosforilación de la misma, lo que supone un aumento del estrés oxidativo y del daño neuronal (Reynolds, C. 2002). Se demostró en estudios *in vitro* que el tratamiento con oestradiol o genisteína protege del estrés oxidativo, evitando la muerte neuronal inducida por  $\beta$ A y a la vez inhibe la activación de p38, lo que disminuye la hiperfosforilación de TAU (Vallés, S. 2008).

La activación de la microglía, es decir, el mecanismo patológico que conduce a la pérdida de su capacidad neuroprotectora, da lugar al inicio de la cascada proinflamatoria, que supondrá la liberación de gran cantidad de factores inflamatorios que afectara a todo el sistema nervioso: citoquinas como IL-1b, IL-6 o TNF- $\beta$  (Lue, L. 2001). La ciclooxigenasa-2 (COX2) es una prostaglandina mediadora de la inflamación, mientras que la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) es una enzima que contribuye a la patogénesis de la EA (Nathan, C. 2005). Otro de los trabajos del grupo del profesor Viña confirma que en cultivos celulares

estradiol o genisteína aumentan los niveles de PPAR $\gamma$ , previniendo el aumento de IL 1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , además de prevenir la expresión de COX2 e iNOS producida por el péptido amiloide (Vallés, S. 2010).

### **Estudios preclínicos en animales**

Aunque los estudios de Mandrekar-Colucci no son con terapia estrogénica o genisteína, demuestra por primera vez en estudios preclínicos que los activadores de PPAR $\gamma$  inducen la expresión de genes como ApoE o ABCA1 que promueven el aclaramiento de  $\beta$ A por la microglía y los astrocitos. El aclaramiento de  $\beta$ A soluble es llevado a cabo gracias a la estimulación de la proteólisis dependiente de ApoE (Jiang, Q. 2008), mientras el aclaramiento de los depósitos de  $\beta$ A se realizan gracias a la fagocitosis mediada por la microglía (Mandrekar-Colucci, S 2012).

Las propiedades estrogénicas de genisteína y su capacidad de atenuar el estrés oxidativo de la genisteína mejora el deterioro cognitivo en ratas provocado por  $\beta$ A (Bagheri, M. 2011). Por otra parte, la genisteína también inhibe la formación de agregados de  $\beta$ A además de disminuir la astrogliosis (Bagheri, M. 2012).

Los estudios preclínicos del grupo de investigación del Dr. Viña se realizan con cuatro ramas, una rama con genisteína más bexaroteno, otra con genisteína, una tercera con bexaroteno y un cuarto brazo control. La tesis del Dr. Vicent Bonet da los primeros resultados positivos en estudios animales, con la reducción de  $\beta$ A en cerebro y una tendencia en la eliminación de placas amiloideas en el grupo de animales tratados con genisteína (Bonet-Costa, V. 2014). Estudios posteriores confirman que existe una mejora cognitiva en ratones, además de una disminución de la activación de la microglía, que se traduce en una reducción de la inflamación. A través de PET se detecta una disminución del número de placas y el tamaño de estas placas de  $\beta$ A en cerebro. Estos resultados son positivos en

## INTRODUCCIÓN

todos los grupos de tratamiento, tanto genisteína o bexaroteno en monoterapia, como la combinación de ambos (Bonet-Costa, V. 2016). Estos estudios resultan definitivos para impulsar el estudio de genisteína en humanos. Por el perfil de seguridad de bexaroteno, el estudio en humanos se reduce al tratamiento con genisteína. En el capítulo 4.3.1 (Justificación del estudio) estudiaremos con más detenimiento la decisión de no incluir el bexaroteno en el “first in humans”.

### **1.14 Investigación traslacional en enfermedad de Alzheimer (del laboratorio a la consulta)**

La investigación biomédica se divide en investigación primaria e investigación secundaria. La investigación primaria se divide a su vez en investigación básica, investigación clínica e investigación epidemiológica. Por su parte, la investigación secundaria se compone de metanálisis y revisiones (Röhrig, B. 2009).

#### **1.14.1 Investigación básica**

La investigación básica (o investigación experimental) incluye la experimentación animal (ensayos clínicos en fase 0 y estudios clínicos en animales), estudios con células o tejidos *in vitro*, estudios genéticos y estudios de búsqueda de fármacos. También incluimos en este grupo la búsqueda de nuevos procedimientos analíticos (como puede ser la determinación de ciertos anticuerpos, enzimas, marcadores o genes, los procedimientos de imagen o la secuenciación genética o el desarrollo de nuevos modelos bioestadísticos). La investigación básica es aquella que se desarrolla en los laboratorios de nuestras universidades y en los

laboratorios de las *biotech* que trabajan en la búsqueda e identificación de nuevas moléculas.

## 1.14.2 Investigación clínica

La investigación clínica es aquella dirigida a pacientes humanos con el fin de estudiar o demostrar los efectos clínicos o farmacológicos de un fármaco, establecer efectos adversos u obtener datos sobre los procesos ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) con el fin de obtener evidencias de la eficacia y seguridad del fármaco en estudio. La investigación clínica se divide en experimental y observacional (fig. 1.43).

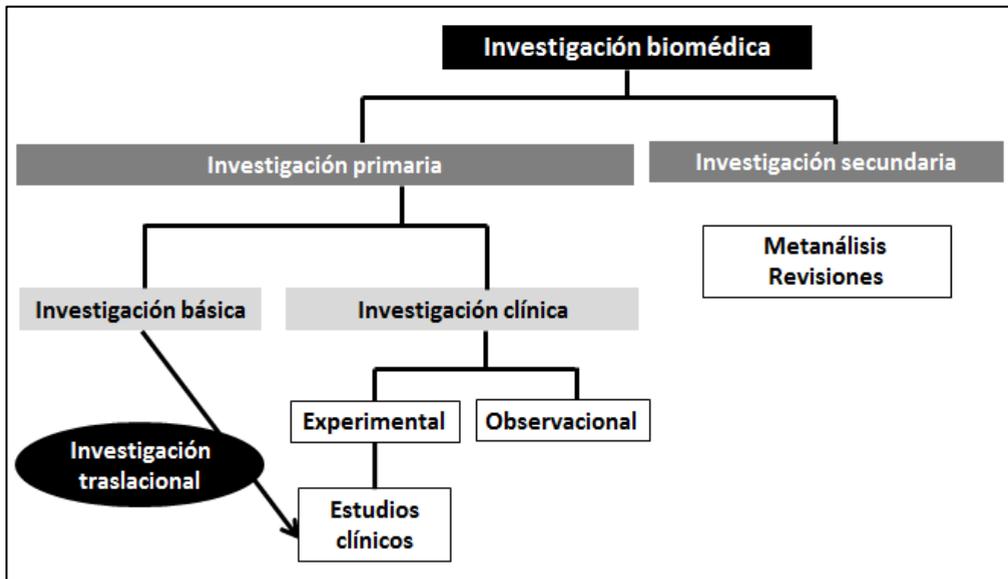


Figura 1.43. Tipos de investigación biomédica y transición entre investigación básica e investigación clínica (investigación traslacional)

La clínica experimental está constituida por los ensayos clínicos en sus cuatro fases clínicas (de fase I a fase IV). Por su parte, en la clínica observacional los investigadores son meros observadores de los acontecimientos, sin que medie

## INTRODUCCIÓN

intervención médica ni alteración de la práctica clínica habitual. La clínica observacional está compuesta por estudios descriptivos y analíticos, mientras los primeros se limitan a constatar y/o medir la presencia de un fenómeno dentro de una población, los estudios analíticos buscan una causalidad que relacione un factor de riesgo con el fenómeno descrito. La clínica observacional está compuesta por estudios de cohortes, estudios transversales y los estudios caso control (Rubio, D. 2010).

Dicho de otra manera, la investigación clínica experimental es intervencional, mientras la investigación clínica observacional es no intervencional.

### **1.14.3 Investigación traslacional**

Definimos la investigación traslacional como la aplicación de los conocimientos básicos adquiridos en el laboratorio de investigación básica y en los ensayos preclínicos al desarrollo de ensayos clínicos en humanos y a la práctica clínica, con el objeto de mejorar la asistencia médica (Westfall, J. 2007).

### **1.14.4 Medicina basada en la evidencia**

La medicina basada en la evidencia (en inglés *evidence-based medicine*, EBM) consiste en encontrar evidencia científica y usar esa evidencia para tomar decisiones clínicas (Burns, P. 2011). Este término fue acuñado en 1991 por el canadiense Gordon Guyatt para explicar cómo resolver cuestiones médicas usando nuevas estrategias, que incluían búsquedas bibliográficas, la evaluación crítica de las mismas y la aplicación del resultado de una investigación a un paciente en concreto, en definitiva, establece cómo extraer evidencia clínica nueva y sólida de la gran cantidad de literatura biomédica para que los profesionales de la medicina puedan aplicarla en sus propios pacientes (Guyatt, G. 1991).

Muchas han sido las clasificaciones de la evidencia científica, las más usadas a nivel mundial son la *US Preventive Services Task Force* (USPSTF) (Harris, R. 2001), *Centre for Evidence-Based Medicine* (CEBM) de la Universidad de Oxford (CEBM. 2019) o la *Scottish Intercollegiate Guidelines Network* (SIGN) (**tabla 1.15** y **tabla 1.16**) (Sign.ac.uk. 2019).

Niveles de evidencia SIGN	
Nivel de evidencia	Tipo de estudio
1++	Metanálisis de gran calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con muy bajo riesgo de sesgos.
1+	Metanálisis bien realizados, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con bajo riesgo de sesgos.
1-	Metanálisis, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con alto riesgo de sesgos.
2++	Revisiones sistemáticas de alta calidad de estudios de cohortes o de casos y controles, o Estudios de cohortes o de casos y controles de alta calidad, con muy bajo riesgo de confusión, sesgos o azar y una alta probabilidad de que la relación sea causal.
2+	Estudios de cohortes o de casos y controles bien realizados, con bajo riesgo de confusión, sesgos o azar y una moderada probabilidad de que la relación sea causal.
2-	Estudios de cohortes o de casos y controles con alto riesgo de confusión, sesgos o azar y una significativa probabilidad de que la relación no sea causal.
3	Estudios no analíticos (observaciones clínicas y series de casos).
4	Opiniones de expertos.

**Tabla 1.15. Niveles de evidencia SIGN.** (Adaptado de Harbour, R. 2001)

## INTRODUCCIÓN

Grados de recomendación SIGN	
Grado de recomendación	Nivel de evidencia
A	Al menos un metaanálisis, revisión sistemática o ensayo clínico aleatorizado calificado como 1++ y directamente aplicable a la población objeto, o  Una revisión sistemática de ensayos clínicos aleatorizados o un cuerpo de evidencia consistente principalmente en estudios calificados como 1+ directamente aplicables a la población objeto y que demuestren globalmente consistencia de los resultados.
B	Un cuerpo de evidencia que incluya estudios calificados como 2++ directamente aplicables a la población objeto y que demuestren globalmente consistencia de los resultados, o  Extrapolación de estudios calificados como 1++ o 1+.
C	Un cuerpo de evidencia que incluya estudios calificados como 2+ directamente aplicables a la población objeto y que demuestren globalmente consistencia de los resultados, o  Extrapolación de estudios calificados como 2++.
D	Niveles de evidencia 3 o 4, o  Extrapolación de estudios calificados como 2+.

**Tabla 1.16. Grados de recomendación SIGN.** (Adaptado de Harbour, R. 2001)

### 1.14.5 El ensayo clínico

El ensayo clínico se convierte en el eje vertebrador de las clases de evidencia científica, constituyendo una herramienta clave para el avance en medicina y el descubrimiento de nuevos fármacos.

### 1.14.5.1 Definiendo ensayo clínico y estudio clínico

Definimos estudio clínico como “toda investigación relativa a personas destinada a descubrir o comprobar los efectos clínicos, farmacológicos o demás efectos farmacodinámicos de uno o más medicamentos, identificando durante el proceso sus posibles reacciones adversas y estudiando su farmacocinética, con el objetivo de determinar la seguridad y/o eficacia de dichos medicamentos “(Real Decreto 1090/2015). Así mismo, definimos ensayo clínico como “un estudio clínico donde se asigna de antemano al sujeto de ensayo a una estrategia terapéutica determinada, que no forma parte de la práctica clínica habitual aprobada” (Real Decreto 1090/2015). Los ensayos clínicos permiten descubrir tratamientos más eficaces y seguros, que los medicamentos sean autorizados por las diferentes agencias de medicamentos, comparar el uso de fármacos ya autorizados y establecer los estándares de tratamiento además de generar inversión y crear puestos de trabajo: en la industria, en los centros de investigación y en organizaciones sanitarias.

Un estudio clínico experimental requiere de una intervención, pero solo podemos definir ensayo clínico como aquel estudio clínico donde la intervención es farmacológica. En el resto de estudios clínicos, la intervención puede ser nutricional, estar basada en el estilo de vida, en el aumento de ejercicio físico, soporte psicológico, etc., pero no puede ser un fármaco.

### 1.14.5.2 Ensayos clínicos según la fase de investigación

■ Fase 0 (o preclínica): es la fase de búsqueda de moléculas y desarrollo de las mismas, pueden ser estudios *in silico*, es decir, mediante simulaciones

## INTRODUCCIÓN

informáticas (Viceconti, M. 2016), *in vitro* (en células o tejidos) o *in vivo* (modelos animales).

■ Fase I: son los primeros estudios en humanos después de haberse realizado los estudios preclínicos en animales. Suelen realizarse en alrededor de 25-100 pacientes. El objetivo de estos estudios es obtener datos sobre farmacodinamia y farmacocinética. Además se obtiene un primer perfil de seguridad y tolerabilidad. Es fundamental la búsqueda de la DMT (dosis máxima tolerada), para ello se realizan estudios de cohortes, normalmente de 3 pacientes cada una, donde se van incrementando en esta cohorte la dosis recibida, hasta encontrar beneficio clínico y determinar la DMT. En cuanto al diseño son EECC abiertos, no controlados con placebo y estudios de cohortes.

■ Fase II: en 100-500 pacientes. El objetivo es conocer la eficacia, relación dosis-respuesta, primeros datos de seguridad y tolerabilidad. Además buscan ampliar conocimientos sobre farmacocinética y farmacodinamia. Son ensayos aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo. Suelen ser estudios piloto.

■ Fase III: en 1000-5000 pacientes. El objetivo es determinar la eficacia y seguridad en condiciones de uso habitual y con respecto a alternativas terapéuticas. Además detecta reacciones adversas poco frecuentes (menos de 1/1000 casos). Suelen ser ensayos aleatorizados, doble ciego y comparados con placebo. En este grupo incluimos los estudios pivotaes, es decir, aquellos que consiguen la aprobación de un fármaco en una determinada indicación.

■ Fase IV: Son los estudios en grandes grupos de población una vez el fármaco ha obtenido la aprobación en una determinada indicación. Se realizan en condiciones de uso habitual del fármaco a estudiar. El objetivo es recabar datos de farmacovigilancia, efectividad y seguridad así como buscar nuevas indicaciones. El diseño de estos EECC es aleatorizado, abierto y con rama control.

### **1.14.5.3 Ensayo clínico según el ámbito de estudio**

Consideramos ensayo clínico de ámbito nacional aquel que solo se realiza en centros de un único país, mientras ensayo clínico internacional es aquel que se realiza en dos o más países.

### **1.14.5.4 Ensayo clínico unicéntrico vs. multicéntrico**

Definimos ensayo clínico multicéntrico como aquel realizado en más de un centro de investigación, llevado a cabo por más de un investigador de acuerdo con un único protocolo (Ich.org. 2019).

### **1.14.5.5 Ensayo clínico comercial vs. académico**

El promotor es el individuo, empresa, institución u organización responsable del inicio y la gestión de un ensayo clínico y de asegurar que se dispone de la financiación necesaria para llevarlo a cabo. El promotor del estudio puede ser un laboratorio farmacéutico, hablamos en este caso de ensayo clínico comercial o de la industria. El ensayo clínico recibe el nombre de académico si el promotor es una universidad, hospital, sociedad científica, fundación, organismo gubernamental, una asociación de pacientes o un centro de investigación (Ravinetto, R. 2015).

Los ensayos clínicos de la industria tienen como fin el desarrollar nuevos fármacos sin perder nunca de vista el objetivo mercantil de la compañía que desarrolla estos estudios, mientras los estudios académicos están dirigidos a comprender los mecanismos de la enfermedad, promover la medicina basada en la evidencia y mejorar la salud pública (Laterre, P. 2015).

## INTRODUCCIÓN

Por la naturaleza de nuestro estudio, nos parece importante definir las características de los ensayos clínicos académicos, al hecho de ser promovidas por una universidad, fundación, organización gubernamental u otra entidad sin ánimo de lucro, debemos añadir que la propiedad de los datos de la investigación pertenece al promotor. El promotor es el responsable del diseño, la realización, el reclutamiento, la recogida de datos y la comunicación de los resultados, y además “estos estudios no pueden formar parte de un programa de desarrollo para una autorización de comercialización de un producto” (Real Decreto 1090/2015).

En ocasiones, puede haber más de un promotor en un ensayo clínico, pudiendo ser todos los promotores pertenecientes a la industria, ser varias instituciones académicas las que unen su fuerza, o siendo la industria y diferentes grupos de investigación los que se unen para conseguir mejores resultados en las investigaciones, estos son los llamados promotores mixtos.

Algunos ejemplos de promotores independientes serían GECSSEN (Grupo de Estudios de Cefaleas de la Sociedad Española de Neurología), GEICAM (Grupo Español de Cáncer de Mama), GETH (Grupo Español de Trasplante Hematopoyético), o los propios institutos de investigación como INCLIVA, Instituto de investigación Sanitaria La Fe o FISABIO.

**1.14.5.6 Estudio clínico intervencional vs. observacional:** Los ensayos clínicos pueden ser intervencionales u observacionales (donde no se realiza ninguna intervención). Definimos intervención como un proceso o acción eje del ensayo clínico. Las intervenciones incluyen medicamentos, dispositivos médicos, procedimientos, vacunas y otros productos en fase de investigación o ya disponibles. Las intervenciones también pueden incluir enfoques no invasivos,

como dieta, ejercicio, soporte psicológico, educación, etc. (Clinicaltrials.gov. (2019).

Los estudios observacionales, también llamados estudios epidemiológicos (Thiese, M. 2014), son aquellos donde no se produce ninguna intervención sobre el sujeto de estudio, el investigador llega a una conclusión a través de la relación entre diferentes variables preestablecidas y los resultados obtenidos.

**1.14.5.7 Ensayo clínico randomizado vs. no randomizado:** Se define ensayo randomizado o aleatorizado como aquel que tras fijar las condiciones de inclusión/exclusión, se asigna aleatoriamente, de forma que el paciente tenga las mismas probabilidades de ser incluido en un grupo u otro. La aleatorización no es siempre 1:1, otros muchos factores pueden ser tenidos en cuenta a la hora de aleatorizar. La estratificación puede realizarse por edad, sexo, raza, estado funcional, tratamientos recibidos anteriormente, presencia de biomarcadores, etc. Este tipo de ensayo ofrece varias ventajas; existen menos riesgo de sesgos en los resultados, confiere a la investigación un carácter experimental y por último, las poblaciones estudiadas serán iguales en las variables que se conocen y las que se desconocen (Keränen, T. 2015). En el protocolo deben estar explicados los mecanismos de distribución aleatoria (*spss*® u otros programas) y la probabilidad de estar recibiendo placebo o no.

**1.14.5.8 Ensayo clínicos no controlado vs. controlado:** ensayo clínico controlado es aquel que compara el grupo de estudio frente a otro que se utiliza de control (que ha recibido placebo u otro tratamiento eficaz e indicado por la legislación sanitaria) (Martínez Nieto, C. 2017). Los ensayos clínicos controlados pueden ser de dos tipos, comparados con placebo o comparados con grupo control. El placebo es una sustancia sin acción terapéutica que puede, o no, tener un efecto

## INTRODUCCIÓN

positivo en un paciente mediante la reducción de los síntomas como resultado de la percepción de los pacientes de estar recibiendo una intervención terapéutica (Finniss, D. 2010). La finalidad de usar el placebo en ensayos clínicos es permitir, gracias al enmascaramiento, una valoración no sesgada del efecto real de la intervención. El enmascaramiento es el proceso por el cual conseguimos que tanto fármaco activo como placebo tengan la misma apariencia, tanto en su envase exterior, como en la forma farmacéutica, además de conferirle, por ejemplo, en formas orales, igual forma, color y características organolépticas. Gracias al enmascaramiento conseguiremos contrarrestar la subjetividad. Por su parte, el grupo control nos dice que hubiera pasado si el paciente no hubiera recibido la intervención. No solo hablamos de eficacia, también de seguridad.

**1.14.5.9 Ensayo clínico ciego, doble ciego y triple ciego:** ensayo clínico ciego es aquel en que el paciente no conoce si el tratamiento que está recibiendo es el experimental o el control. Hablamos de EECC doble ciego cuando ni paciente ni investigador conocen en qué rama de tratamiento está el paciente, es una medida para eliminar la subjetividad del investigador, y que conocer esta información pueda influir en las posteriores decisiones clínicas del galeno. Se considera un EECC triple ciego, cuando paciente, investigador y analista de datos desconocen la rama de tratamiento. De nuevo el enmascaramiento del tratamiento juega un papel fundamental en la metodología del EECC, ya que el diseño ciego del estudio requiere enmascarar el tratamiento.

**1.14.5.10 Ensayo clínico paralelo vs. cruzado:** en un EECC paralelo, cada una de las ramas del estudio recibe un solo tratamiento, mientras en los EECC cruzados cada grupo de pacientes recibe una determinada intervención, y en un punto determinado del estudio, existe un intercambio de tratamientos, los que reciben el tratamiento experimental pasan a recibir el control y viceversa.

### **1.14.6 Registro de ensayos clínicos**

En 1986 surge la idea de registrar todos los ensayos clínicos y estudios clínicos (Weber, W. 2015). Nace Clinicaltrials.gov, base de datos perteneciente al *National Institutes of Health (NIH)*, que forma parte de forma parte del *Departamento de Salud y Servicios Humanos* de Estados Unidos. Actualmente tiene registrados más de 280.000 estudios en más de 250 países (Clinicaltrials.gov. 2018). Es la base de datos de referencia en EECC a nivel mundial.

El Registro Español de estudios clínicos (REeC) (Reec.aemps.es. 2019) es una base de datos pública, libre y gratuita perteneciente a la Agencia Española de Medicamentos y productos sanitarios (AEMPS). El germen de esta base de datos la encontramos en el artículo 62 de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1090/2015 por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos: “Los ensayos clínicos autorizados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios formarán parte de un registro nacional de ensayos clínicos público y libre que será accesible en las condiciones que reglamentariamente se determine.” (Real Decreto 1090/2015). En esta base de datos están registrados todos los ensayos clínicos con medicamentos autorizados en España desde el 1 de enero de 2013. Además, también se debe incluir en este registro toda la información sobre estudios observacionales con medicamentos de forma obligatoria. Voluntariamente, se puede registrar cualquier tipo de investigación clínica llevada a cabo en España. Actualmente hay registrados casi 4800 estudios clínicos en España (Reec.aemps.es. 2019).

## INTRODUCCIÓN

EudraCT (*European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials*) (Eudract.ema.europa.eu. 2019) es una base de datos europea de ensayos clínicos con medicamentos en investigación en los que participe, al menos, un hospital, centro sanitario, entidad docente, etc., de la Unión Europea. El registro en esta base de datos es obligatorio desde el 1 de mayo de 2004. El sitio web de EU Clinical Trials Register (Clinicaltrialsregister.eu. 2019) se lanzó para proporcionar al público la información contenida en la base de datos EudraCT. Este registro está regulado en los artículos 80 y 81 del Reglamento (UE) nº 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sobre los ensayos clínicos de medicamentos de uso humano (Eur-lex.europa.eu. 2019).

La información que aparece en estas tres bases de datos ha de ser aportada por el promotor del ensayo clínico. Este es el responsable tanto de aportar la información necesaria, así como de actualizarla y publicar los resultados obtenidos en los diferentes estudios.

### **1.14.7 Gold standard en ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer**

El *Gold Standard* o estándar de calidad de los EECC en enfermedad de Alzheimer es un ensayo clínico randomizado, doble ciego, paralelo, de dos brazos, controlado con placebo. La población de estudio deben ser pacientes con EA temprana o moderada (Vellas, B. 2007; Millum, J. 2013). El análisis estadístico debe incluir un análisis comparativo de la pendiente de las dos rectas (fármaco en investigación y grupo control (fármaco comparador y/o placebo)) donde la divergencia entre ambas rectas suponga la mejora o empeoramiento en la escala cognitiva o funcional (Schneider, L. 2009b). Realizamos de esta manera un estudio de no inferioridad respecto al grupo control. El curso natural de la enfermedad marcará un declive en las capacidades cognitivas o en la variabilidad del

biomarcador estudiado. Dependiendo de la duración del estudio, este declive será más o menos patente. La comparación con el grupo control reduce el sesgo de disminución de las capacidades por la acción del tiempo y pondera mejor el tratamiento prescrito.

Es importante también realizar un análisis intragrupo, es decir, valorar los resultados sin tener en cuenta el grupo control (placebo) para ver si mejoran o no empeoran los resultados respecto del momento del inicio del estudio.

Los objetivos primarios deben ser relevantes, validados, estandarizados e incluir test cognitivos, funcionales, conductuales y funcionales, además de biomarcadores (biológicos y neuroimagen).

### **1.14.8 Crónica de una muerte anunciada, problemas de la investigación traslacional**

El hecho de no poseer más que cuatro fármacos en todo el mundo que ni siquiera curan la EA, sino que solo atenúan sus efectos, es una muestra más que evidente del fracaso terapéutico que han supuesto los numerosos intentos de la industria y la academia por frenar la EA.

El último fármaco aprobado en EA ha sido la memantina en 2003. En este período, 60 fármacos anticancerígenos han logrado sumarse al arsenal terapéutico aprobado por las grandes agencias del medicamento, y otros muchos están a las puertas de lograrlo (Sun, J. 2017).

La investigación en EA ha dado mucho mejor resultado en investigación preclínica (modelos *in vitro* y animales) que en la vertiente clínica. Podríamos hablar de fracaso en la investigación traslacional, pero no debemos olvidar errores cometidos en las fases clínicas.

## INTRODUCCIÓN

### 1.14.8.1 Modelos animales erróneos

Los modelos animales pretenden analizar los síntomas, las lesiones y las causas de la enfermedad de Alzheimer. La mayor parte de los estudios preclínicos en EA se realizan en ratones, por razones genéticas, patológicas, neurofisiológicas y de respuesta a la terapéutica (Ahmad-Annuar, A. 2003). Aunque la tecnología transgénica ha hecho posible reproducir lesiones neurodegenerativas muy específicas, consiguiendo modelos basados en APP, las presenelinas, TAU o ApoE (basados en EA familiar, mucho menos frecuente en humanos en comparación con EA tardía), e incluso combinando estas mutaciones, la gran limitación de los modelos animales en EA es que no reflejan la enfermedad en toda su complejidad (Duyckaerts, C. 2007).

Los puntos críticos de los ensayos preclínicos son la selección de la especie o cepa, la edad y el sexo (por ejemplo, los ratones hembra doble transgénico APP/PSEN1 presentan depósitos mayores de  $\beta$ A que los machos (Wang, J. 2003). Diseños experimentales heterogéneas también puede afectar los resultados; el tamaño muestral, las condiciones de estabulación, la aleatorización, el enmascaramiento del tratamiento o las variables no homogéneas entre diferentes estudios son fuentes de sesgo en los ensayos en fase 0.

En cuanto al estudio de la neuroinflamación, son necesarios modelos animales que reproduzcan con mayor exactitud la patología humana. No solo encontramos factores de inflamación diferentes entre roedores y humanos, además, estos modelos animales suelen vivir en ambientes asépticos que no reproducen las condiciones de vida humanas, por tanto, no están expuestos a patógenos que conviven con los enfermos de Alzheimer reales (Van Eldik, L. 2016). Otro problema es la edad de los animales en investigación, es difícil reproducir la edad a la cual normalmente se produce la enfermedad de Alzheimer tardía.

### 1.14.8.2 Sesgos en los ensayos clínicos en humanos

Importantes sesgos en la investigación surgen en las fases clínicas de la enfermedad, muchos derivados de los diseños heterogéneos de los ensayos clínicos, que provocan que los resultados sean pocos consistentes, tamaño de muestra, elección de objetivos primarios y secundarios, duración del tratamiento, dosis errónea, factores de inclusión y exclusión, etc.

Recordemos que los ensayos clínicos en fase III de gantenerumab han sido parados por falta de eficacia, pero existe la duda si las dosis utilizadas han sido subterapéuticas (Ostrowitzki, S. 2017).

La duración de los EECC es un punto crítico que compromete los resultados, los estudios a corto plazo no generan la confianza suficiente para pensar que el fármaco ha sido efectivo, sin embargo, los ensayos a largo plazo conllevan un aumento en el abandono de pacientes, tanto por *exitus* y otros eventos adversos que hacen peligrar la integridad del EECC (Miller, G. 2012).

El fallo en el diagnóstico influye en el resultado final del EECC, bien por no haberse diagnosticado correctamente el tipo de demencia, o bien por no haber diferenciado entre EA familiar y EA esporádica. Uno de los ejemplos con lo que nos hemos encontrado durante la revisión bibliográfica de esta tesis, es un estudio que relaciona contaminación y demencia en Reino Unido, los datos oficiales del NHS (*National Health Service*) son ambiguos, se habla de 38% de demencias debido a EA, casi un 30% de demencias vasculares, y más de un 32% de demencias sin tipificar, que hacen imposible discernir entre ciertas características fisiopatológicas de las diferentes demencias, tal y como habíamos visto en el apartado primero de nuestro trabajo (Carey, I. 2018).

De todos los factores que pueden alterar los resultados de los EECC, el más importante en la patología de Alzheimer es el estadio de la enfermedad, el inicio

## INTRODUCCIÓN

del tratamiento se da en fases muy avanzadas de la enfermedad, debemos recordar que el depósito de  $\beta$ A puede darse incluso décadas antes de aparecer el declive cognitivo (Villemagne, V. 2013), cuando este aparece, ya en fases avanzadas de la enfermedad, otros mecanismos diferentes al de las placas amiloides tienen ya un papel importante, como la desregulación de la homeostasis del calcio, la neurodegeneración por TAU o la disfunción mitocondrial (Hyman, B. 2011).

# **Capítulo 2**

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



“Zhivago no recuerda que un día fue médico”

**El Correo**

**(Titular de prensa, 26 de mayo de 2015)**



### **2.1 Subestudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio GENISTEÍNA 2”**

#### **2.1.1 Hipótesis**

Con este estudio pretendemos demostrar que la población de los dos departamentos de salud donde se va a realizar nuestro estudio clínico es homogénea en cuanto a prevalencia de demencia y hábitos de prescripción de fármacos.

#### **2.1.2 Objetivos**

Comparar la prevalencia y los hábitos de prescripción para el tratamiento de la demencia por grupo de edad y sexo entre el Hospital Clínico Universitario de Valencia (hospital de referencia) y el Hospital La Ribera (hospital comarcal), donde se ha realizado el estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2” durante el período 2013-2018, para dilucidar si existen diferencias entre los dos ámbitos.

### **2.2 Subestudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

#### **2.2.1 Hipótesis**

Con este estudio pretendemos demostrar que el estudio clínico que ha diseñado el Grupo de Investigación del Dr. Viña “Efecto de la activación del receptor

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2” cumple con la metodología y los criterios de calidad de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer realizados hasta la fecha en España.

### 2.2.2 Objetivos

Estudiar la metodología y estándares de calidad de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España.

Determinar si la metodología y el diseño del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2” cumple con los estándares de calidad fijados en nuestra investigación.

## **2.3 Estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

### 2.3.1 Hipótesis

La hipótesis de trabajo es que en humanos la genisteína aumenta la expresión de ApoE por parte de astrocitos mediante la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR. El aumento de la expresión de ApoE por parte de los astrocitos aumentará el aclaramiento cerebral de  $\beta$ A, con lo que conseguiremos una mejoría en la cognición de los pacientes con EA.

### **2.3.2 Objetivos**

#### 2.3.2.1 Objetivo principal

El objetivo principal del presente estudio es determinar los efectos agudos del tratamiento con genisteína en pacientes de la enfermedad de Alzheimer.

#### 2.3.2.2 Objetivos específicos

Valoración neurológica de los pacientes al inicio y final del tratamiento para valorar posibles efectos beneficiosos a nivel de cognición, conducta y actividades de la vida diaria:

- Pruebas cognitivas: MMSE, T@M y ADAS-COG
- Pruebas conductuales: NPI-Q
- Pruebas funcionales: Índice de Barthel
- Pruebas cognitivo-funcionales: Test del informador



# **Capítulo 3**

# **METODOLOGÍA**



“El heroísmo del alma –vivir-, el heroísmo del cuerpo -morir-.”

**Marina Tsvietáieva**



### **3.1 Metodología del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina 2”**

Revisión retrospectiva del programa GAIA, donde analizaremos los dos departamentos de Salud donde se ha realizado el estudio *Efecto de la activación del receptor PPARy/RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína.*

GAIA es un programa de gestión integral de la prestación farmacéutica de la Conselleria de Sanitat de la Generalitat Valenciana cuyo objetivo es la gestión clínica y económica para ayudar en la selección farmacoterapéutica más eficaz y a una mejora de la calidad asistencial (San.gva.es. 2019).

El Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV) es un hospital público de referencia con 582 camas, que atiende a casi 350.000 habitantes del Departamento Clínico-Malvarrosa, mientras el Hospital de La Ribera (HLR) es un hospital comarcal público de gestión privada hasta 2018 que atiende a una población de casi 250.000 personas, y cuenta con 301 camas (**tabla 3.1**)

	<b>Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa</b>	<b>Departamento de Salud 11 La Ribera</b>
Población	341.479	249.855
Hospitales	2	1
Centros Atención primaria	59	45
Camas	582 + 30 (*1)	301
Quirófanos	16+6 (*1)	13
Hospital Universitario	Sí	Sí
(*1) Hospital Clínico Universitario y Hospital Malvarrosa		
Fuentes: Clinicomalvarrosa.san.gva.es. (2019); Hospital Universitario de La Ribera. (2019)		

## METODOLOGÍA

**Tabla 3.1** Tabla de indicadores entre departamentos de Salud 5, Clínico-Malvarrosa y Departamento de Salud 11 La Ribera, donde se ha llevado a cabo el estudio *Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína.*

Para la búsqueda hemos tenido en cuenta los siguientes criterios; hemos elegido los departamentos de Salud donde se ha realizado nuestro estudio, buscando los pacientes con farmacoterapia desde 2013 hasta 2018 (desglosado por año, sexo de paciente y por principios activos del grupo terapéutico N06D según el código ATC). El código ATC es el código de clasificación anatómica-terapéutica-química asignado por el *Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology* de la OMS (Whocc.no. 2019).

El grupo terapéutico N06D incluye los subgrupos N06DA y N06DX, El subgrupo N06DA está compuesto por fármacos anticolinérgicos, que incluyen los principios activos donepezilo, galantamina y rivastigmina. El grupo N06DX es un cajón de sastre que incluye la memantina, antagonista NMDA y el extracto natural de *ginkgo biloba*.

Para la comparación de prescripción de fármacos en demencia se usan grupos de edad de cinco años a partir de 40 años, más dos grupos abiertos, el primero de edad menor de cuarenta años (<40 años) y un segundo grupo de edad igual o mayor de 91 años ( $\geq 91$  años).

### **3.2 Metodología del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

Este trabajo es una revisión retrospectiva donde hemos analizado tres bases de datos para identificar los ensayos clínicos en EA en España. El resultado final es a 30 de septiembre de 2018.

#### **3.2.1 Clinicaltrials.gov**

En Clinical trials.gov hemos realizado una búsqueda donde el criterio de búsqueda sea: “todos ensayos abiertos y cerrados, por enfermedad y país (*Alzheimer Disease AND Spain*)”. Se obtiene un total de 128 estudios clínicos. Para comparar las fases de estudio en España con las fases de estudio en el mundo, se realiza una búsqueda donde el único criterio sea “*Alzheimer Disease*” y después se filtró por fase clínica.

#### **3.2.2 EU Clinical Trial register**

En el registro europeo encontramos un total de 131 ensayos clínicos después de realizar una búsqueda por enfermedad y país (*Alzheimer AND Spain*).

#### **3.2.3 REec**

En el Registro Español de ensayos clínicos hemos seleccionado como único criterio de búsqueda “*Alzheimer*” ya que todos los resultados se refieren a estudio clínicos realizados en España. Hemos encontrado un total de 74 resultados.

Después de cotejar los resultados de las tres bases de datos, hemos llegado a la conclusión de que hay registrados 137 ensayos clínicos en España sobre

## METODOLOGÍA

enfermedad de Alzheimer. Hemos obtenido la siguiente información de cada uno de los ensayos clínicos:

- Fase de ensayo clínico
- Ámbito del estudio (nacional o internacional)
- Estudio unicéntrico/multicéntrico
- Situación del estudio (abierto/cerrado)
- Etapa de la enfermedad
- Promotor del ensayo clínico
- Duración del ensayo clínico
- Año de inicio del ensayo clínico
- Tamaño muestral (previsión de reclutamiento)
- Intervención (Intervención/observacional)
- Randomizado/no randomizado
- Comparado con placebo/grupo control
- Tipo de tratamiento (fármaco/nutrición/dispositivo/etc.)
- Tipo de molécula (si el tipo de tratamiento es fármaco)
- Mecanismo molecular (si el tipo de tratamiento es fármaco)
- Objetivo primario del estudio
- Objetivos secundarios del estudio
- Tipo de análisis cognitivo/funcional utilizado
- Difusión (publicado/no publicado)

### **3.3 Metodología “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

#### **3.3.1 Tipo de estudio**

Este estudio ha sido clasificado por la AEMPS como estudio clínico no observacional sin medicamentos. Se trata de un estudio clínico prospectivo, nacional, multicéntrico, doble ciego, con dos grupos paralelos controlado con placebo.

#### **3.3.2 Consideraciones éticas**

El estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína” ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia el 4 de noviembre de 2013 y por el Comité Ético de Investigación del Hospital La Ribera de Alzira el 2 de junio de 2014.

#### **3.3.3 Reclutamiento de pacientes**

Previsión de reclutamiento de 20 pacientes en dos centros sanitarios:

- Pacientes del Servicio de Neurología del Hospital Clínico Universitario de Valencia, Departamento 5 de Salud, Clínico-Malvarrosa. Los investigadores en este centro son el Dr. José Miguel Láinez, jefe de servicio y el Dr. José Miguel Santonja, médico adjunto.
- Pacientes de Servicio de Geriátría del Hospital La Ribera de Alzira. El investigador en este centro es el Dr. Francisco Tarazona.

## METODOLOGÍA

### **3.3.4 Población del estudio**

- Pacientes con deterioro cognitivo ligero sugestivo de Enfermedad de Alzheimer prodrómico, tanto por la clínica como por la valoración neuropsicológica, esto es, afectación de memoria episódica sugestiva de patología en hipocampo que no produzca afectación en la realización de las actividades de la vida diaria del sujeto.
- Pacientes con demencia establecida sugestiva de demencia tipo Alzheimer tanto por la clínica como por la valoración neuropsicológica. Esto es, pacientes con afectación de memoria episódica aislada o asociada a otros déficits cognitivos (lenguaje, praxias, gnosias, etc.) que sufren una afectación funcional en la realización de las actividades de la vida diaria.
- Pacientes que presenten alteraciones en líquido cefalorraquídeo compatible con enfermedad de Alzheimer (disminución de valores de beta-amiloide y elevación de TAU-total y P-TAU).
- Pacientes cuyo genotipo ApoE no sea 4/4. La posesión del alelo  $\epsilon 4$  es el factor de riesgo más importante para desarrollar EA de aparición tardía (Corder, E. 1993). ApoE4 no posee el papel protector del resto de isoformas ApoE en el sistema nervioso. Ya que la hipótesis es que genisteína aumenta la producción de ApoE a través de la activación de PPAR $\gamma$ -RXR, sería contraproducente en pacientes que poseen al menos un alelo  $\epsilon 4$  la administración de genisteína.

### **3.3.5 Criterios de inclusión**

- 3.3.5.1. Paciente con edad superior a 18 años.

3.3.5.2. Pacientes con deterioro cognitivo compatible con Enfermedad de Alzheimer prodrómica o demencia tipo Alzheimer, confirmado por valoración neuropsicológicas.

3.3.5.3. Puntuación en el MMSE mayor de 24.

3.3.5.4. Poseer un cuidador fiable para control de administración de la medicación como la vigilancia de aparición de efectos adversos.

3.3.5.5. Firmar el consentimiento informado (paciente y acompañante/tutor) para participar en el estudio clínico.

### **3.3.6 Criterios de exclusión**

3.3.6.1. Presentar antecedentes de alteración tiroidea con o sin tratamiento. La soja puede interferir en la absorción y metabolismo de la hormona tiroidea sintética en pacientes con hipotiroidismo (Messina, M. 2006).

3.3.6.2. Presentar alteraciones de la inmunidad en analítica.

3.3.6.3. Padecer una neoplasia hormonodependiente.

3.3.6.4. Consumir una dieta alta en isoflavonas o isoflavonas sintéticas.

3.3.6.5. Poseer el genotipo  $\epsilon$  4/4 para la apolipoproteína E.

### **3.3.7 Aleatorización**

Los pacientes se aleatorizan para recibir el tratamiento de genisteína o placebo en una proporción 1:1. Se ha aleatorizado en grupos de cuatro pacientes mediante el programa IBM *SPSS statistics versión 17*. El estudio ha sido ciego para el investigador y para el paciente, siendo abierto para el Servicio de Farmacia del

## METODOLOGÍA

Hospital Clínico de Valencia, quien se ha encargado de la custodia de la hoja de randomización. Los pacientes han sido aleatorizados a:

3.3.7.1 Grupo tratamiento: Genisteína 60 mg, 1 cápsula vía oral cada 12 horas, durante 180 días

3.3.7.2 Grupo control: placebo, 1 cápsula vía oral cada 12h, durante 180 días

### **3.3.8 Enmascaramiento**

La elaboración del producto en investigación genisteína/placebo ha sido realizada según las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) del Servicio de Farmacia de Hospital Clínico Universitario de Valencia. El fármaco en estudio es “Genisteína 60 mg/Placebo 6 frascos de 60 cápsulas”. La medicación en investigación se prepara a partir de Genisteína 60 mg comprimidos marca Zambón. El enmascaramiento se consigue encapsulando los comprimidos en cápsulas tamaño nº 0 de color rojo y rellenando las cápsulas con lactosa. El placebo se fabrica rellenando las mismas cápsulas tamaño nº 0 con lactosa. El producto elaborado pasa el control de calidad de la Unidad de Farmacocinética y Calidad del Servicio de Farmacia del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Para el desenmascaramiento de urgencia por parte del investigador en caso de emergencia, por reacción al medicamento o cualquier otro hallazgo que haga necesario el desenmascaramiento del ciego, el investigador deberá ponerse en contacto con el promotor del estudio. En el archivo de Farmacia se encuentra la Hoja de Aleatorización. El farmacéutico no ciego será el encargado de desvelar el ciego, y comunicarlo al promotor, quién a su vez lo comunicará al investigador. El

investigador deberá documentar tanto en la historia clínica como en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) la fecha y motivo por el cual se ha desvelado el ciego del estudio y las acciones que va a emprender.

### **3.3.9 Procedimientos del estudio**

#### 3.3.9.1 Visita 1: día 0

3.3.9.1.1 Factores de inclusión y exclusión

3.3.9.1.2 Firma de consentimiento informado

3.3.9.1.3 Anamnesis

3.3.9.1.4 Antecedentes

3.3.9.1.5 Historia farmacoterapéutica

3.3.9.1.6 Estudio neuropsicológico

3.3.9.1.7 Solicitud, si precisa, de pruebas diagnósticas que confirmen patología

#### 3.3.9.2 Visita 2:

3.3.9.2.1 Conclusión global del estudio neuropsicológico

3.3.9.2.2 Dispensación de medicación

#### 3.3.9.3 Visita 3: día 90

3.3.9.3.1 Valoración de posibles efectos del tratamiento

3.3.9.3.2 Cálculo del cumplimiento terapéutico

#### 3.3.9.4 Visita 4: día 180

3.3.9.4.1 Valoración de posibles efectos del tratamiento

3.3.9.4.2 Cálculo del cumplimiento

3.3.9.4.3 Valoración neuropsicológica tras finalización de tratamiento

3.3.9.4.4 Conclusión global del estudio neuropsicológico

## METODOLOGÍA

### 3.3.9.4.5 Valoración subjetiva por parte del paciente/acompañante del tratamiento

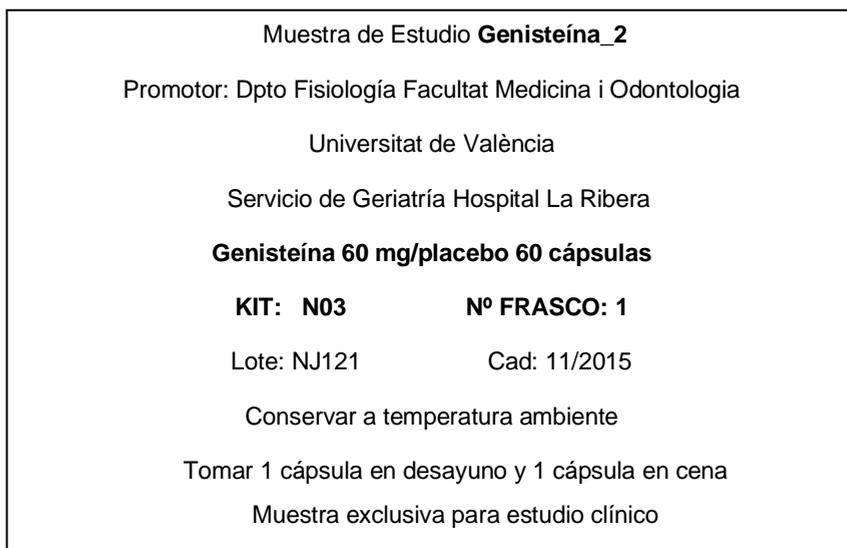
#### **3.3.10 Tratamiento**

Genisteína 60 mg/placebo cada 12 horas durante 180 días. Las cápsulas deben tomarse con o sin comida, por la mañana y por la noche.

#### **3.3.11 Presentación**

Cada kit de medicación de genisteína/placebo es asignado y dispensado para el paciente correspondiente en la visita número dos del estudio, y consta de 6 frascos de genisteína 60 mg/placebo, que contiene 60 cápsulas cada uno. Cada paciente recibe un total de 360 cápsulas para la totalidad del estudio. El paciente y su cuidador son informados de cómo conservar la medicación a temperatura ambiente, en un lugar seco. Una vez finalizado el estudio, deberán devolver los frascos al investigador, tanto si están vacíos, como si aún hay cápsulas de genisteína/placebo.

Todos los tratamientos del estudio han sido etiquetados conforme a lo establecido en las leyes y las reglamentaciones locales (**fig. 3.1**). La etiqueta de cada frasco refleja la siguiente información: protocolo del estudio clínico, número de tratamiento y número de frasco, fármaco, dosis y presentación, lote de fabricación, posología y promotor del estudio clínico. Los frascos deben incluir la leyenda: “Muestra exclusiva para estudio clínico”



**Figura 3.1. Etiqueta de medicación de estudio Genisteína\_2.** Cada paciente recibe un kit que contiene 6 frascos de 60 cápsulas cada frasco, medicación suficiente para seis meses.

**3.3.12 Valoración neurológica:** dos valoraciones, una antes de inicio de tratamiento, y otra tras el tratamiento de seis meses.

**3.3.13 Otras variables**

3.3.13.1 Datos de los pacientes

3.3.13.1.1 Edad

3.3.13.1.2 Sexo

3.3.13.1.3 Estado funcional

3.3.13.1.4 Medicación concomitante, que pudiera tener efecto sinérgico o interacciones con genisteína

3.3.23.1.5 Tiempo desde diagnóstico de la enfermedad

## METODOLOGÍA

### **3.3.14 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se ha usado el programa IBM SPSS statistics 19. Todos los resultados se han expresado como media  $\pm$  desviación estándar. Se ha tomado un intervalo de confianza al 95% ( $p= 0.05$ ) para aceptar que hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los grupos.

Para la descripción de las variables se ha usado la media aritmética, la desviación estándar y porcentajes. Para la comprobación de la normalidad de la población en estudio se ha usado la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Se ha usado la prueba T para comparar 2 medias, ANOVA en el caso de muestras independientes. En los posteriores análisis *post hoc* si las muestras tienen un número de casos diferentes se ha usado la comparación de Scheffe. Si existe el mismo número de casos hemos usado la comparación de Tukey (en el caso de no ser significativa) o la prueba de Games-Howell (en caso de ser significativa).

# **Capítulo 4**

## **RESULTADOS**



"Retorné y observé bajo el sol que la carrera no es para los más veloces, ni la batalla para los más fuertes, ni el pan para los más inteligentes, ni las riquezas para los sabios, ni el favor para los hombres más diestros; sino que el tiempo y el azar ocurren para todos ellos."

**Eclesiastes 9:11**



#### **4.1 Resultados del estudio “Tendencia de prescripción para la demencia en el entorno clínico del estudio GENISTEÍNA 2”**

Los fármacos anticolinesterásicos (donepezilo, rivastigmina y galantamina), un inhibidor NMDA (memantina) y un protector neuronal (extracto EGb761® de *Ginkgo biloba*) están indicados en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

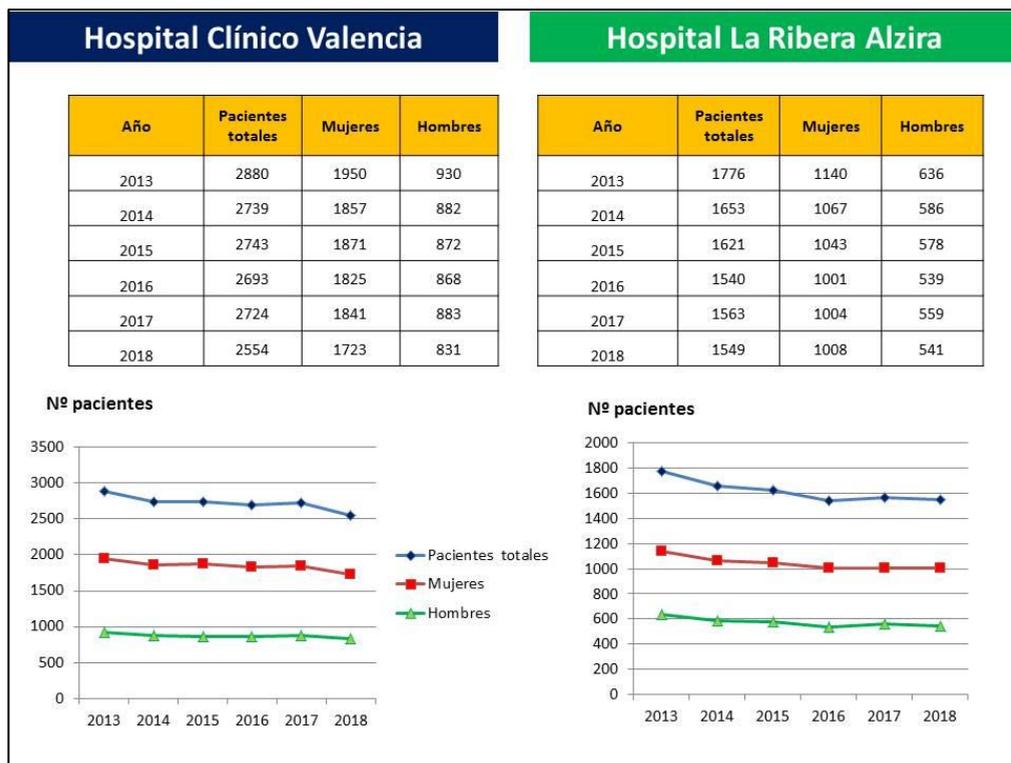
Con este trabajo buscamos datos precisos sobre prescripción de fármacos por grupos de edad y sexo en demencia en HCUV y HLR, hospitales donde se ha realizado el estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /R $\alpha$ R como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2”.

##### **4.1.1 Pacientes tratados de demencia**

Durante el año 2018 un total de 2554 pacientes fueron tratados de demencia en el Hospital Clínico de Valencia y 1549 pacientes en el Hospital La Ribera. La prevalencia de la enfermedad en ambos hospitales es mayor en mujeres que en hombres, además, la proporción entre sexos se mantiene constante en el tiempo (**fig. 4.1**).

Existe una ligera disminución de los pacientes totales que reciben farmacoterapia relacionada con la demencia, en el HCUV hay una disminución gradual en 6 años de más de 300 pacientes durante el período 2013-18 (disminución del 11,67%), mientras que el HLR sufre una disminución de más de 200 pacientes (disminución del 12,78% (**fig. 4.1**)).

## RESULTADOS



**Figura 4.1. Pacientes tratados de demencia en Hospital Clínico de Valencia y Hospital de La Ribera entre 2013 y 2018.**

### 4.1.2 Prescripción por sexo y grupo de edad

Según la distribución de prescripciones de fármacos para la demencia por grupos de edad en HCUV y en HLR existe una baja prevalencia en los grupos de edad más jóvenes. El grupo de edad de máxima prevalencia en ambos departamentos de salud es 81-85 años, seguido por los grupos de edad 76-80 y 86-90 años (**tabla 4.1** y **fig. 4.2**). Según la distribución de prescripciones por sexo, no existen diferencias a edades tempranas (40-65 años), es a partir de los 66 años cuando se ve una mayor prevalencia de mujeres enfermas de demencia que de hombres.

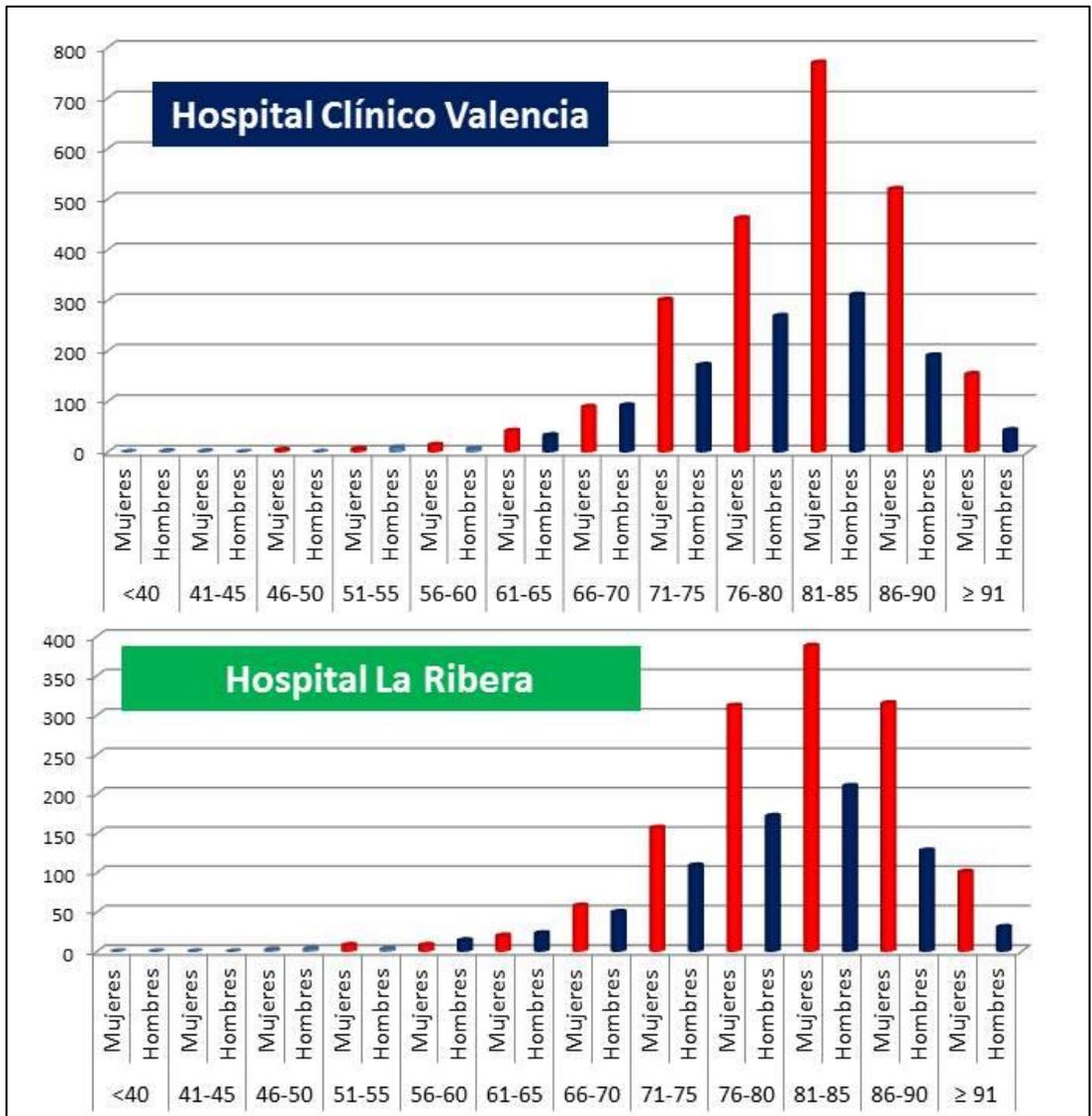


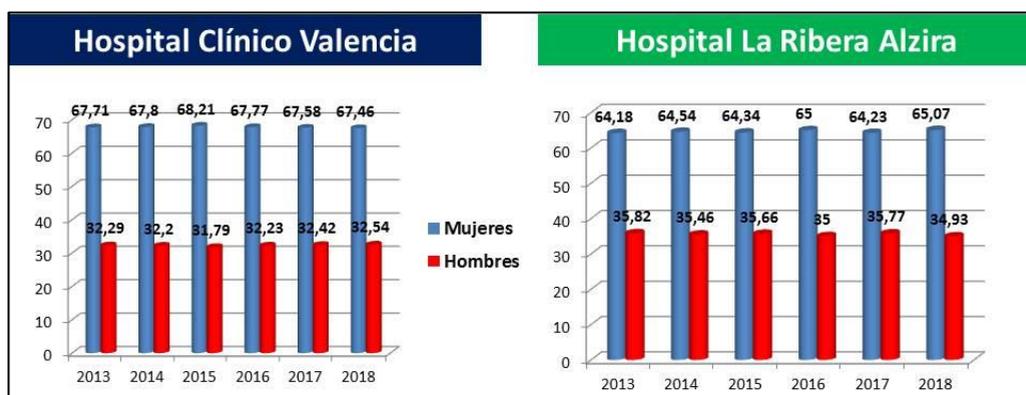
Figura 4.2. Distribución de prescripciones de medicamentos para el tratamiento de la demencia por sexo y grupos de edad en Hospital Clínico y Hospital La Ribera durante 2018

## RESULTADOS

Edad	Hospital Clínico Valencia			Hospital La Ribera		
	Mujeres	Hombres	Total	Mujeres	Hombres	Total
<40	0	1	1	0	0	0
41-45	1	0	1	0	0	0
46-50	4	0	4	2	3	5
51-55	6	9	15	8	3	11
56-60	14	6	20	8	14	22
61-65	42	33	75	20	23	43
66-70	89	92	181	58	50	108
71-75	301	172	473	157	109	266
76-80	462	260	722	312	172	484
81-85	770	311	1081	388	210	598
86-90	520	191	711	315	128	443
≥ 91	154	43	197	101	31	132

**Tabla 4.1. Prescripciones de fármacos para el tratamiento de la demencia por sexo y grupos de edad en Hospital Clínico y Hospital La Ribera durante 2018**

La **figura 4.3** muestra como la proporción entre mujeres y hombres en ambos hospitales se mantiene constante, observando una tendencia mayor de mujeres enfermas de demencia en el Hospital Clínico de Valencia (el rango varía entre 67,46 y 68,21%) frente al Hospital de la Ribera (64,18 al 65,07%).



**Figura 4.3. Porcentaje de pacientes con farmacoterapia para demencia según sexo entre Hospital Clínico de Valencia y Hospital La Ribera durante el período 2013-18**

### **4.1.3 Tendencia de prescripción por hospital y fármaco**

La **figura 4.4** representa el número de prescripciones de los fármacos contra la demencia en ambos departamentos de salud entre los años 2013 y 2018.

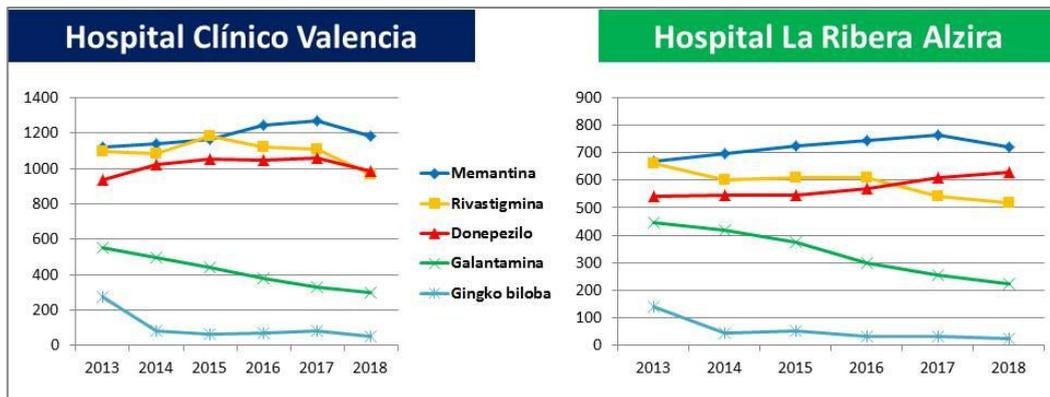
Tanto en HCUV como HLR, *ginkgo biloba* tiene mayor frecuencia de dispensación en 2013 que en el resto de años estudiados (**fig. 4.4**). A lo largo del período 2013-2018 sufren un descenso importante y parecido, en el caso del Hospital Clínico de Valencia la prescripción de *ginkgo biloba* ha disminuido un 81,5%, mientras en Hospital La Ribera el descenso es del 82,9%.

La galantamina es el fármaco que ha sufrido el descenso más brusco en valores absolutos en ambos departamentos (**fig 4.4**). Mientras en el departamento 5 disminuye un total de 253 pacientes (46%), en el departamento 11 la disminución es de 223 pacientes (50%).

Si la galantamina sufre el mayor descenso cuantitativo, la rivastigmina supone el mayor descenso cualitativo (**fig 4.4**). En el 2013 la rivastigmina está muy cerca del fármaco más prescrito en demencia (memantina), llegando a situarse en cabeza en el Hospital Clínico en el 2015. Los últimos tres años, el descenso ha sido más pronunciado, hasta situarse en una discreta tercera posición, por detrás de memantina y donepezilo. En el hospital de Alzira, la línea de tendencia ha sido negativa en todo el período 2013-2018.

La prescripción de memantina y donepezilo han sufrido un ligero aumento en el global del período 2013-2018.

## RESULTADOS



**Figura 4.4. Número de prescripciones del grupo terapéutico ATC N06D (Medicamentos contra demencia), pautadas en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el período 2013-2018.**

La **figura 4.5** representa el número de prescripciones de los fármacos contra la demencia en los departamentos de salud 5 Clínico-Malvarrosa y 11 La Ribera durante el período 2013-2018 según sexo.

Pocas diferencias encontramos en el número de prescripciones de fármacos contra la demencia según sexo en los dos departamentos estudiados durante el período 2013-2018 (**fig. 4.5**). Resulta interesante que en mujeres la tendencia de prescripción durante todo el período 2013-2018 situaba a la memantina como el fármaco más usado, mientras en hombre, la rivastigmina fue el fármaco más usado hasta 2014 para caer después al tercer puesto, por detrás de memantina y donepezilo.

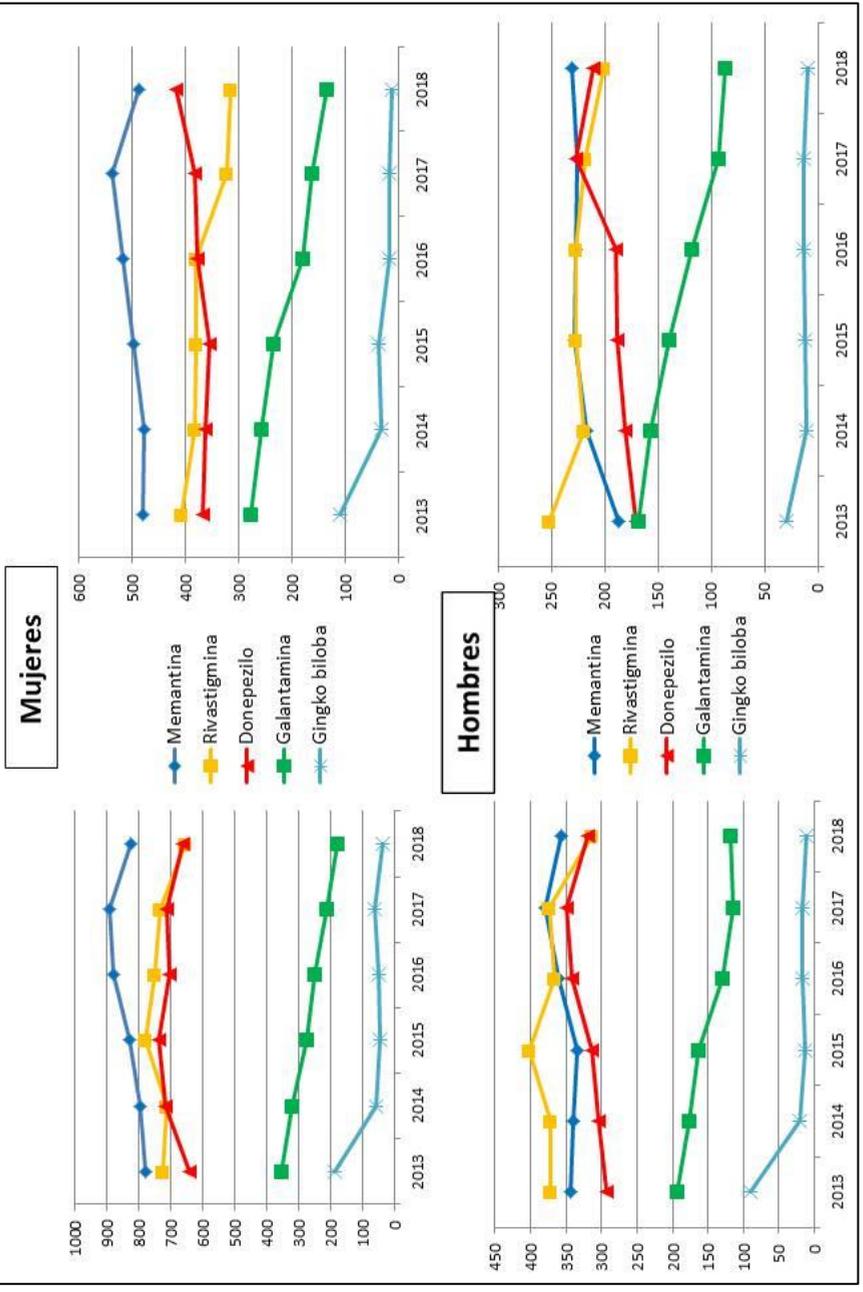
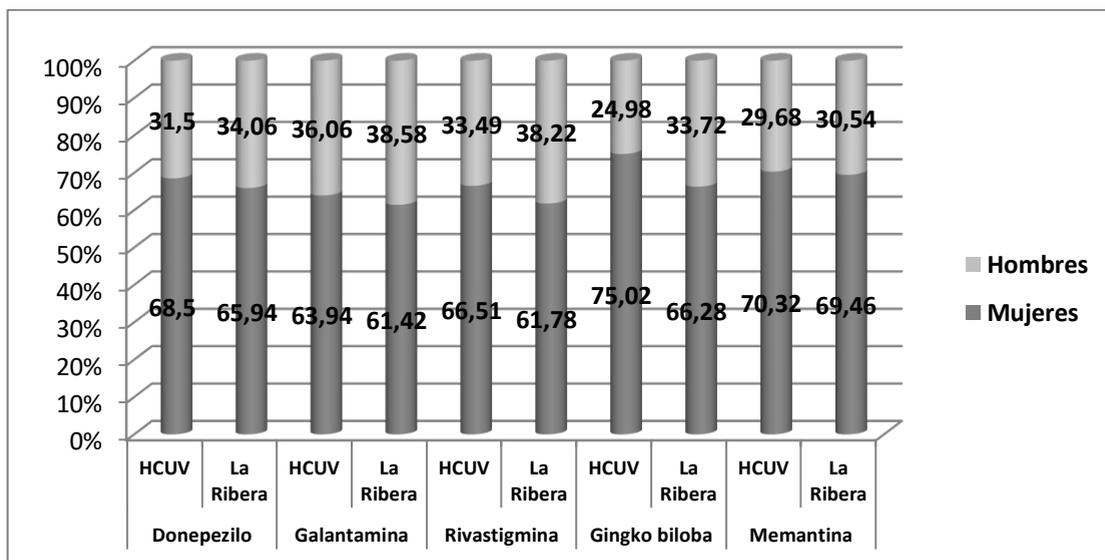


Figura 4.5. Número de prescripciones del grupo terapéutico ATC N06D (Medicamentos contra demencia), pautadas en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el período 2013-2018 según sexo.

## RESULTADOS

La proporción de mujeres y hombres por fármaco y hospital según fármaco no muestra diferencias significativas entre el HCUV y el HLR, tan solo la prescripción de *ginkgo biloba* y la rivastigmina tienen patrones de dispensación un poco diferentes desde el punto de vista del sexo (fig. 4.6).

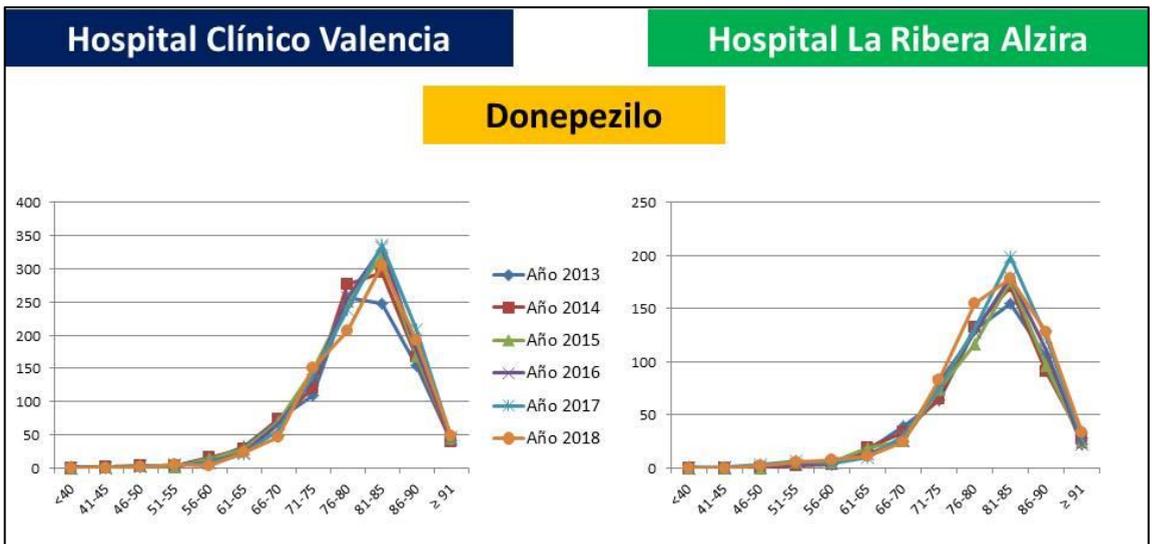


**Figura 4.6** Proporción de fármacos dispensados por sexo en el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y el Departamento de Salud 11 La Ribera durante el período 2013-2018.

**4.1.4 Prescripción por fármaco y grupos de edades**

**Prescripción de donepezilo por hospital y por grupos de edad**

En el departamento del Hospital Clínico, el uso de donepezilo (**fig. 4.7**) está más extendido en pacientes con edad comprendida entre 81 y 85 años, podemos ver incluso que en el grupo de edad anterior (76-80 años) el uso de donepezilo ha disminuido con respecto a los años anteriores. Sin embargo, en el departamento de Alzira a edades más tempranas (entre 71 y 80 años) se ha producido un aumento de la prescripción de donepezilo.



**Figura 4.7. Prescripción de donepezilo por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018**

## RESULTADOS

### Prescripción de galantamina por hospital y por grupos de edad

EN el H. Clínico de Valencia y el Hospital La Ribera, el uso de galantamina (**fig. 4.8**) es muy bajo en todos los grupos de edad, siendo incluso residual en pacientes menores de 65 años. Si bien en el 2013 una alta proporción de pacientes tomaba galantamina, la explicación de la disminución considerable del fármaco la vemos en el grupo de edad entre 76 y 85 años, donde el consumo de galantamina ha sufrido un importante descenso.

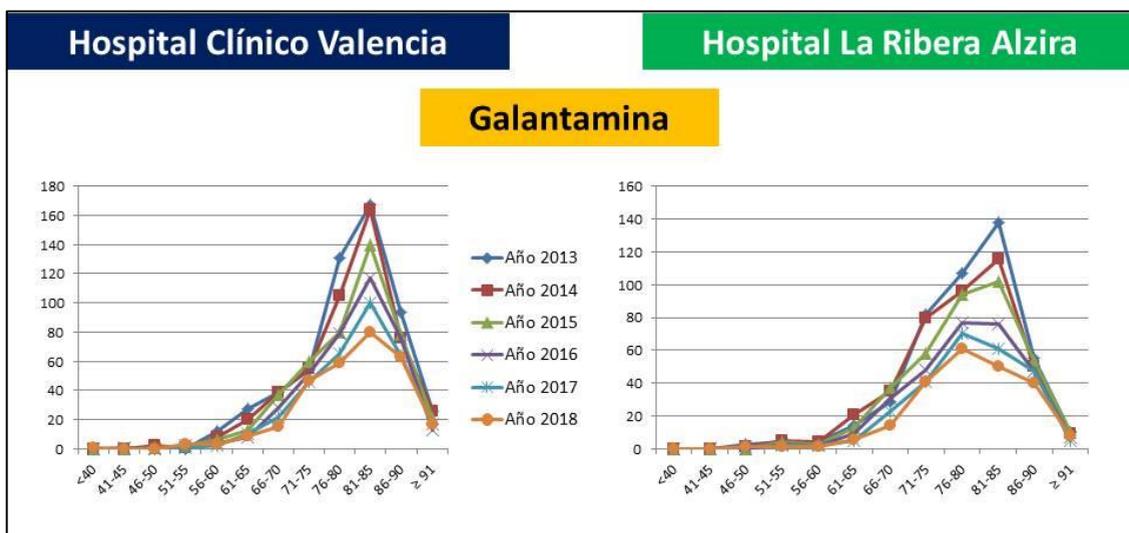
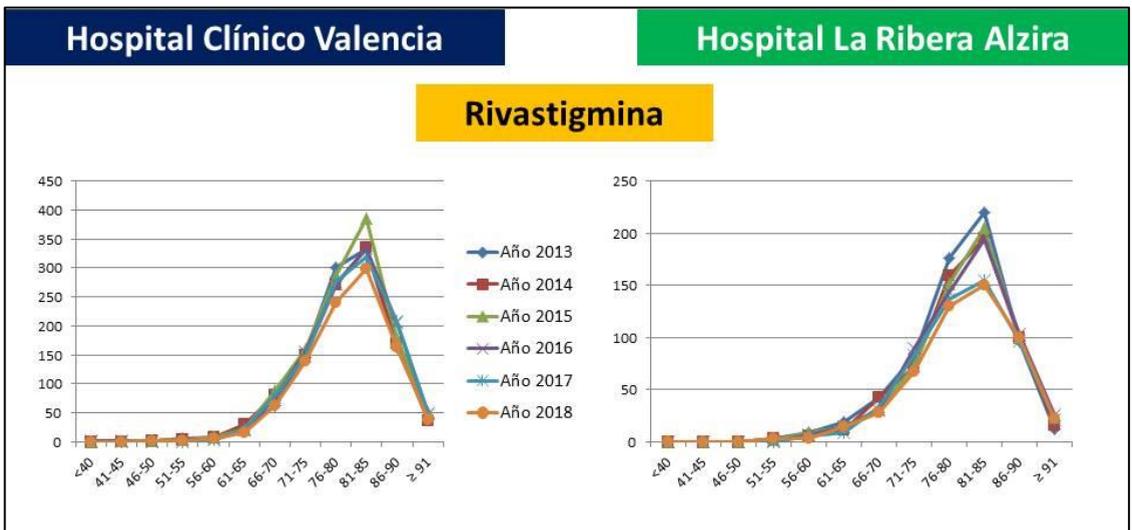


Figura 4.8. Prescripción de galantamina por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018

**Prescripción de rivastigmina por hospital y por grupos de edad**

Como habíamos dicho anteriormente, la rivastigmina no sufre un descenso cuantitativo importante, en el período 2013-2018 el Hospital Clínico sufre una disminución de 129 pacientes (11,7%) mientras en Alzira la disminución es de 143 pacientes (21,7%). Entre los 81 y los 85 años se produce la mayor disminución de pacientes prescritos con rivastigmina (**fig. 4.9**). Esta ligera disminución provoca que sea apartado por el donepezilo como el anticolinesterásico más usado en global en ambos departamentos.



**Figura 4.9. Prescripción de rivastigmina por hospital y por grupos de edad durante el período 2013-2018**

## RESULTADOS

### Prescripción de *ginkgo biloba* por hospital y por grupos de edad

Existe una disminución brusca del uso de *ginkgo biloba* en HCUV y HLR a partir de 2014, sobre todo en los grupos de edad comprendidos entre 76 y 85 años (fig. 4.10).

Durante el año 2013, en ambos departamentos de salud, el año en el cual más prescripciones se realizaron de este fármaco, el uso de este principio activo entre pacientes de menos de 65 años fue escaso, siendo los pacientes entre 71 y 85 años los que más recibieron este fármaco. A partir de los 86 años vuelve a caer el consumo de *Ginkgo biloba*.

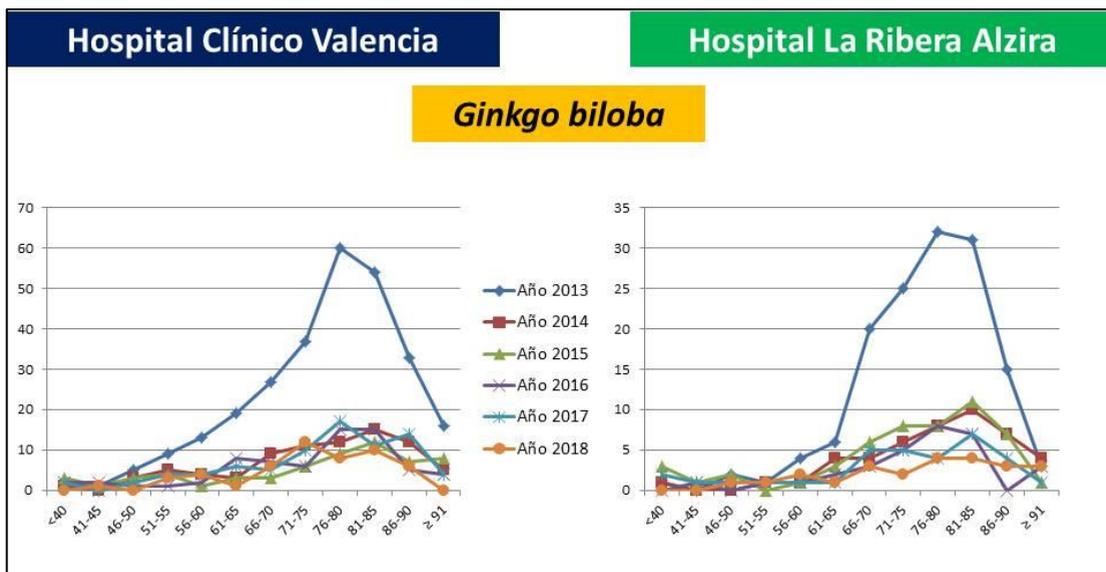
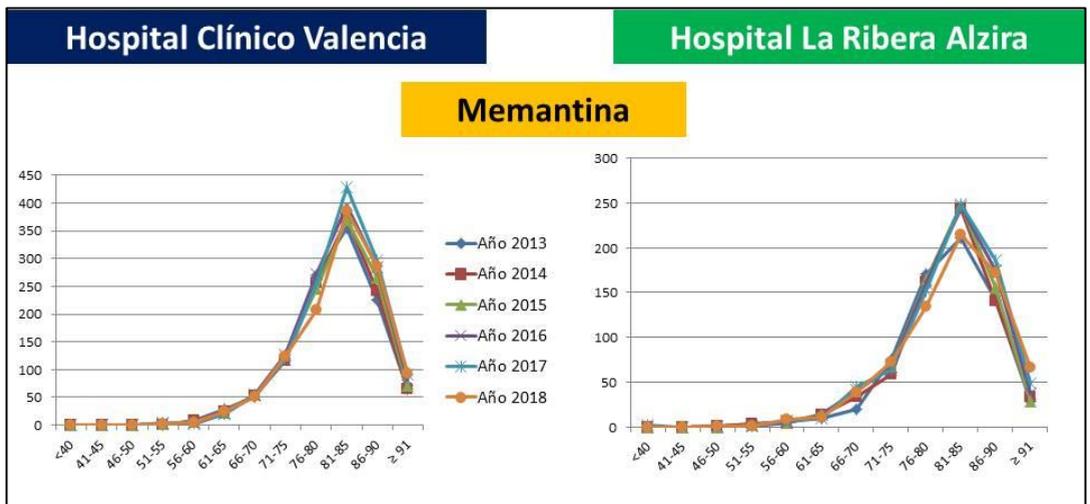


Figura 4.10. Prescripción de *ginkgo biloba* por Departamento de Salud y por grupos de edad durante el período 2013-2018

**Prescripción de memantina por hospital y por grupos de edad**

Este agonista NMDA mantiene en todo el período la primera posición como fármaco contra la demencia en ambos departamentos, pero sí podemos observar a lo largo del período 2013-2018 como la tendencia es a disminuir la prescripción en pacientes menores de 70 años, mientras sube a partir de los 86 años (fig. 4.11). Esto lo podemos corroborar en la figura 4.12, donde podemos ver como en el grupo de edad entre 76 y 80 años, la memantina ocupa el tercer lugar de preferencia de prescripción.

A partir de los 86 años, la prescripción de memantina tiende a crecer (fig. 4.11), ocupando la primera posición incluso en pacientes más ancianos (más de 91 años).



**Figura 4.11. Prescripción de memantina por hospital y por grupos de edad en el período 2013-2018**

## RESULTADOS

### **4.1.5 Comparativa entre prescripción por fármaco y grupo de edad**

A edades más tempranas, correspondiendo con las fases de demencia menos severas, existe una mayor prescripción de fármacos indicados en demencia leve a media, incluso podemos ver como entre los 71 y 80 años, hay más pacientes que reciben rivastigmina que memantina. Sin embargo, a partir de los 81 años, cuando el cuadro de severidad de la demencia se agrava, aumenta considerablemente el uso de memantina **fig. 4.12** en la página siguiente).

A partir de los 85 años cae drásticamente el consumo de rivastigmina, vemos también un descenso de memantina y donepezilo, causado seguramente por la mortalidad a partir de los 85 años y por la comorbilidad de estos fármacos en pacientes nonagenarios y la mayoría polimedicados, pero no es tan pronunciado como el de rivastigmina. Los pacientes más ancianos, corresponderán también a los de mayor grado de demencia, y requerirán una terapia combinada de ambos fármacos (memantina y donepezilo). En el grupo de mayores de 91 años, existe un descenso de consumo muy brusco de todos los fármacos, pero entre los pacientes tratados, la memantina es el fármaco de elección.

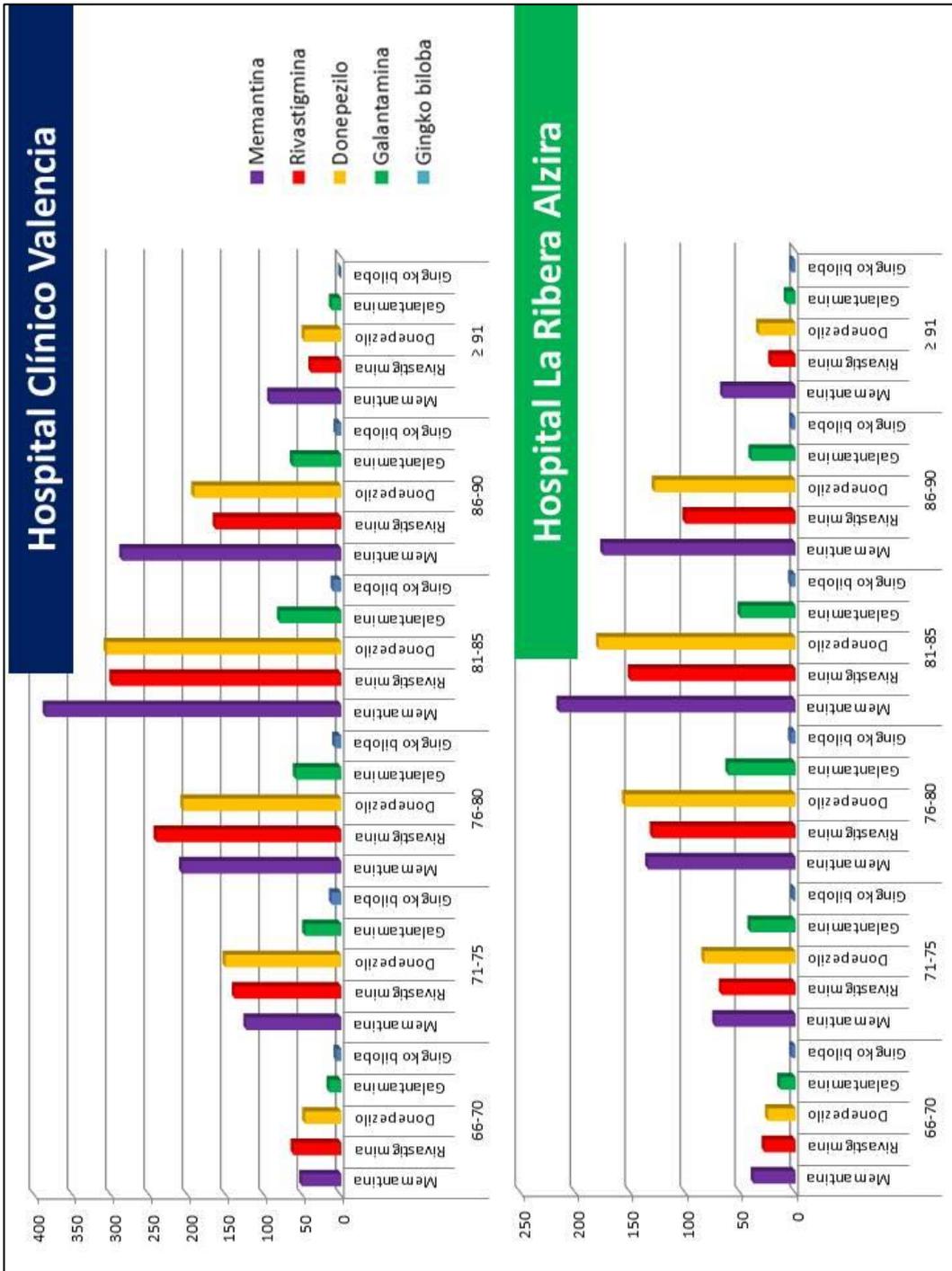


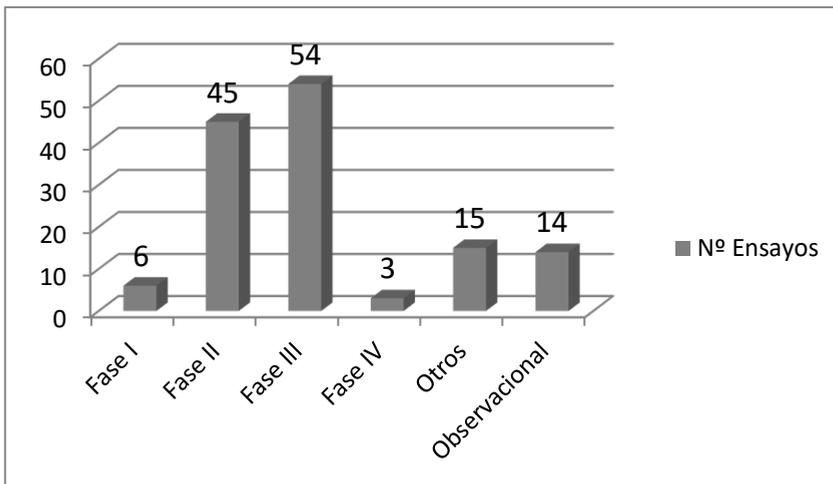
Figura 4.12. Comparativa entre prescripción por fármaco y grupo de edad en el año 2018



## **4.2 Resultados del estudio “Una visión sobre el estado actual los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

### **4.2.1 Fase de ensayos clínicos**

A fecha 30 de Septiembre de 2018 hay registrados 137 ensayos clínicos en España en enfermedad de Alzheimer. En fase I encontramos 6 ensayos, 45 EECC en fase II, 54 estudios en fase III, 3 estudios en fase IV, 14 estudios observacionales y 15 en el apartado “Otros” (incluye estudios clínicos cuyo tratamiento no es un fármaco, pueden ser aquellos en que la intervención es soporte psicológico, producto nutricional, estudio de biomarcadores, etc.) (fig. 4.13).



**Figura 4.13. Número de ensayos clínicos en EA en España según fase de estudio**

Existen diferencias importantes de porcentajes en todas las fases de investigación entre España y el resto del mundo, resaltando el mayor porcentaje de ensayos clínicos en fase I en el resto de mundo que en España (tabla 4.2 y fig. 4.14).

## RESULTADOS

Fase	<i>España</i>		<i>Mundiales</i>	
	Nº ensayos	%	Nº ensayos	%
Fase I	6	4,38	389	19,66
Fase II	45	32,85	463	23,4
Fase III	54	39,42	254	12,83
Fase IV	3	2,19	118	5,96
Otros	15	10,95	414	20,92
Observacionales	14	10,22	341	17,23

Tabla 4.2. EECC según fase clínica en España y en el mundo

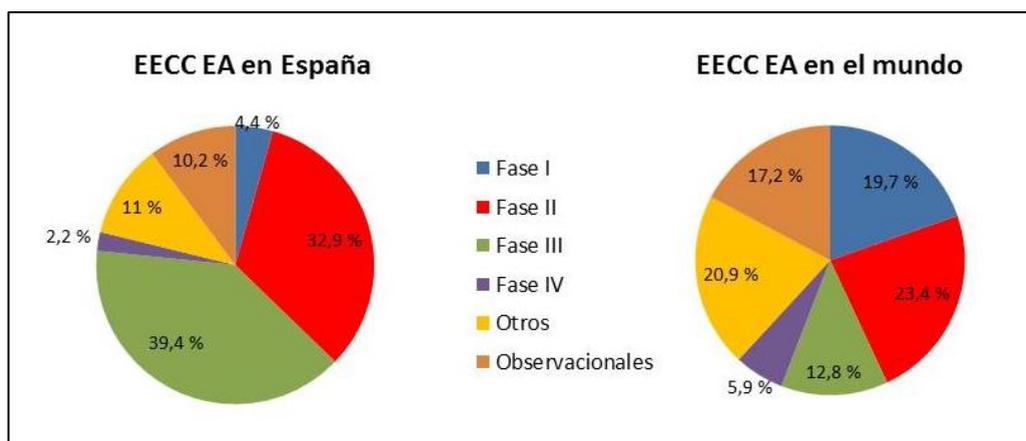
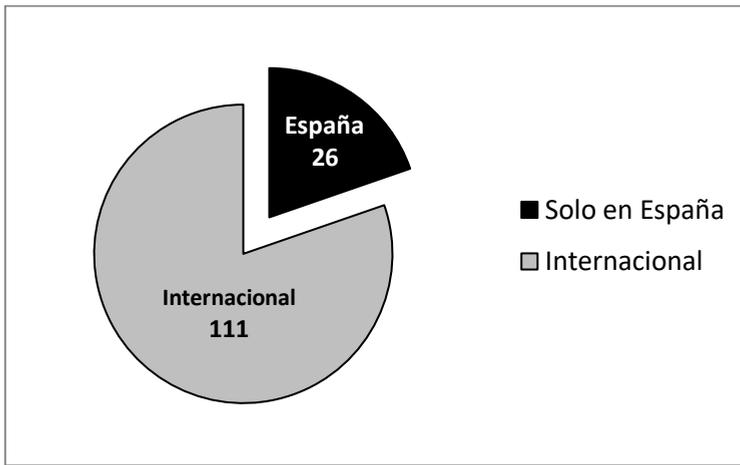


Figura 4.14. Distribución de EECC según fase de estudio en España y en el mundo

**4.2.2 Ámbito nacional/internacional**

De los 137 ensayos clínicos en EA realizados en España, 26 de ellos, es decir, un 18,98% se han realizado íntegramente en España, mientras los 111 restantes, han sido realizados en más países aparte de España (**fig. 4.15**).



**Figura 4.15. Ámbito de los EECC en EA que han tenido lugar en España.** De 137 EECC en EA que se están realizando en España, 26 son nacionales, es decir, solo se realizan en nuestro país, mientras 111 se realizan en otros países.

En la **figura 4.16** compararemos el número de ensayos totales en España frente al de otros países europeos. En el mapa de la izquierda, vemos el número total de ensayos realizados en cada país. España es el cuarto país europeo con más ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer (137), solo por detrás de Francia (283), Reino Unido (140) y Alemania (139) (**fig. 4.16.a**).

En la **figura 4.16.b** podemos ver la distribución de los ensayos clínicos realizados en España en el resto de Europa. Alemania es el país donde más EECC coinciden con los españoles (de 139 EECC totales, 71 también se realizan en España).

## RESULTADOS

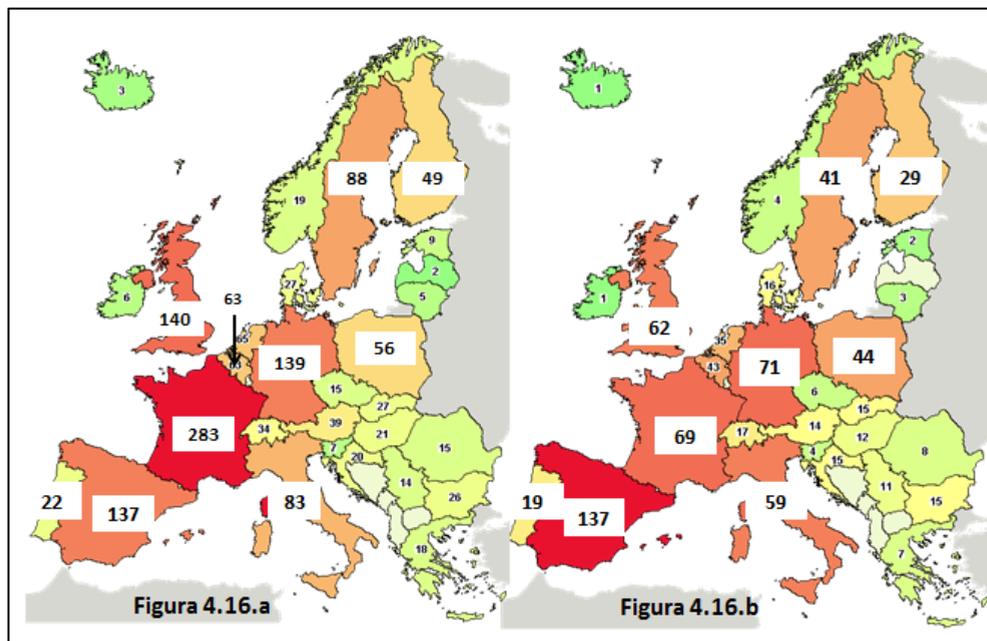


Figura 4.16.a. EECC de EA realizados en Europa. Figura 4.16.b. EECC en restantes países de Europa que también se realizan en España. (Adaptado de Clinicaltrials.gov. 2018).

### 4.2.3 Ensayos clínicos multicéntricos/unicéntricos

De los 137 EECC en EA realizado en España, encontramos 25 estudios unicéntricos (18,25%). De estos 25 estudios, 14 son estudios nacionales únicamente unicéntricos, y los otros 11 son estudios internacionales pero que en España solo han abierto un centro de investigación. De los EECC multicéntricos, 55 se realizan en 2-5 centros, 27 estudios en 6-10 centros, y 30 estudios se realizan en más de 10 centros (21,90% del total de EECC) (**fig. 4.17**).

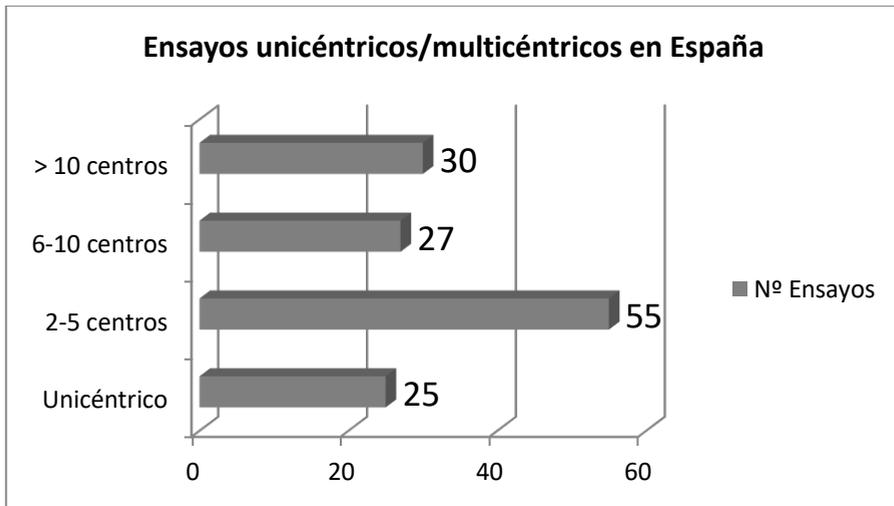


Figura 4.17. Número de EECC en España en EA según el número de centros donde se realiza

En la **figura 4.18** podemos ver la cantidad de centros abiertos en todo el mundo de los estudios llevados a cabo en España. Podemos ver que en 74 estudios (54,01%), España participa en EECC con más de 50 centros en el mundo.

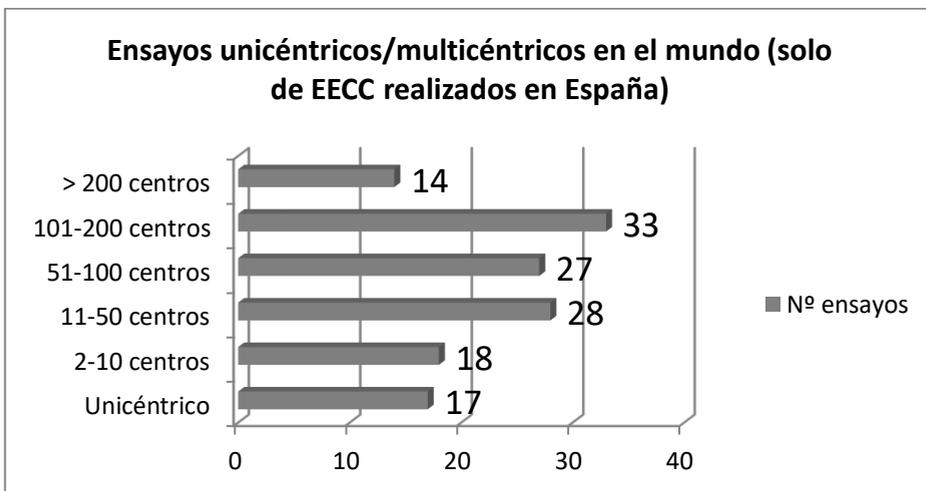


Figura 4.18. Ensayos clínicos unicéntricos/multicéntricos en el mundo (solo estudios en los que ha participado España)

## RESULTADOS

### 4.2.4 Situación actual de los ensayos clínicos (abiertos/cerrados)

De los 137 EECC en EA realizados en España 81 están cerrados (59,12%). Del resto, 50 estudios están abiertos (36,50%) y los 6 restantes están en situación desconocida (fig. 4.19).

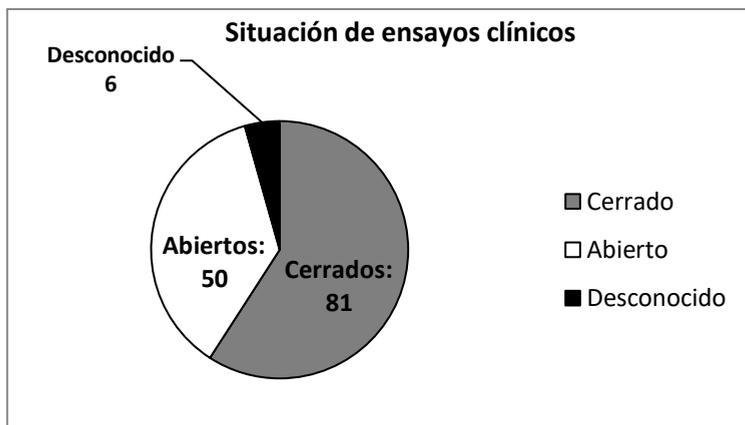


Figura 4.19. Situación de los estudios clínicos de enfermedad de Alzheimer en España

De los 50 ensayos clínicos abiertos, 2 están en fase I, 14 EECC están en fase de investigación II, 21 estudios en fase III, ninguno en fase IV y los otros 13 restantes son estudios clínicos observacionales o sin medicamento que no se clasifican según fase de investigación (fig. 4.20).

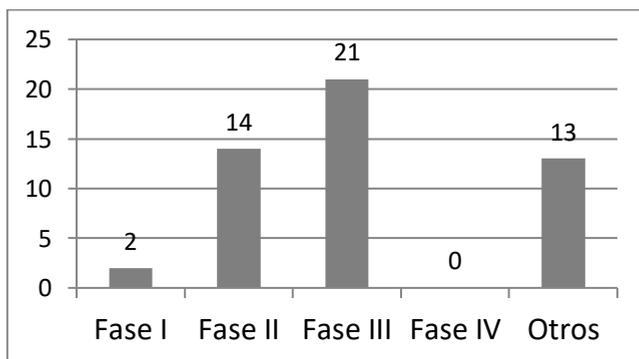
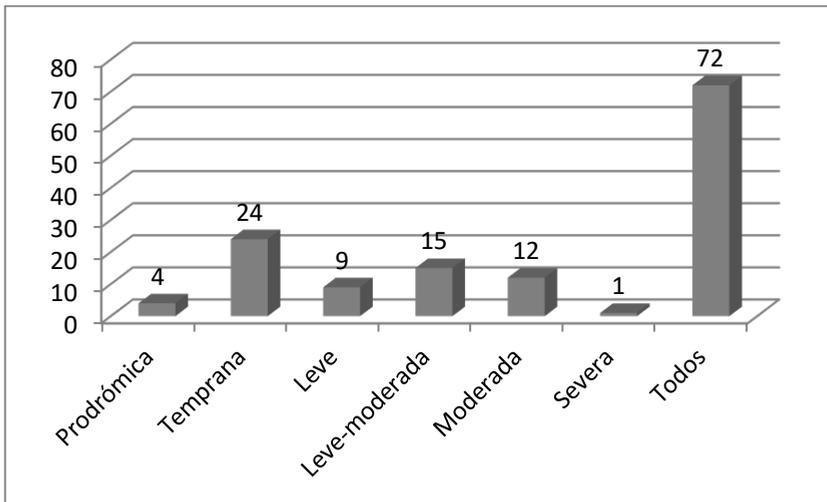


Figura 4.20. Fases clínicas de ensayos clínicos abiertos en España en EA

**4.2.5 Ensayos clínicos según la etapa de la enfermedad de Alzheimer**

Esta clasificación está basada en la descripción de los diferentes protocolos de ensayo clínico analizados. Hemos diferenciado entre aquellos estudios que hablan de fase prodrómica, enfermedad temprana, leve, leve-moderada, moderada, severa, o aquellos estudios que en sus criterios de inclusión hablan de enfermedad de Alzheimer en general, sin distinguir ninguna de sus etapas. De los 137 estudios en EA en España analizados, 4 están en fase prodrómica, 24 en fase temprana, 9 en fase leve, 15 estudios en fase leve-moderada, 12 EECC solo aplican en pacientes en fase moderada, 1 en fase severa y en 72 estudios no se diferencia entre diferentes fases de la enfermedad (fig. 4.21).



**Figura 4.21. Número de ensayos clínicos en EA en España según la etapa de la enfermedad**

## RESULTADOS

### 4.2.6 Promotor de ensayo clínico: académico vs. industria

De los 137 estudios en EA realizados en España, los ensayos clínicos de la industria representan el 78% del total (107 estudios). Un 16% del total de estudios clínicos en EA (22) están esponsorizados por la academia y un 6% son estudios mixtos (8) (fig. 4.22).

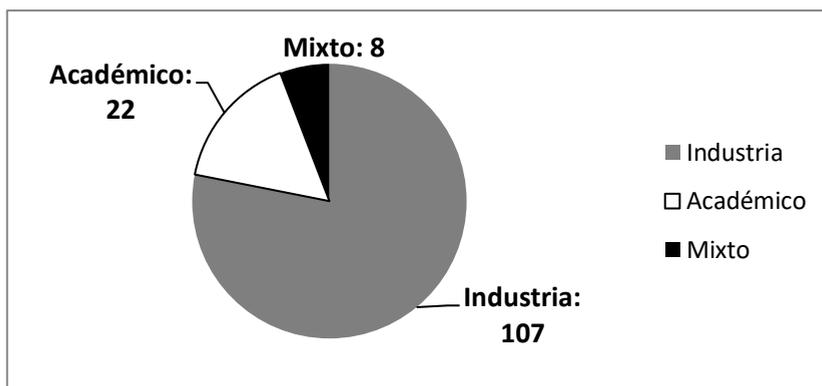


Figura 4.22. Distribución de los ensayos clínicos en EA en España según el promotor

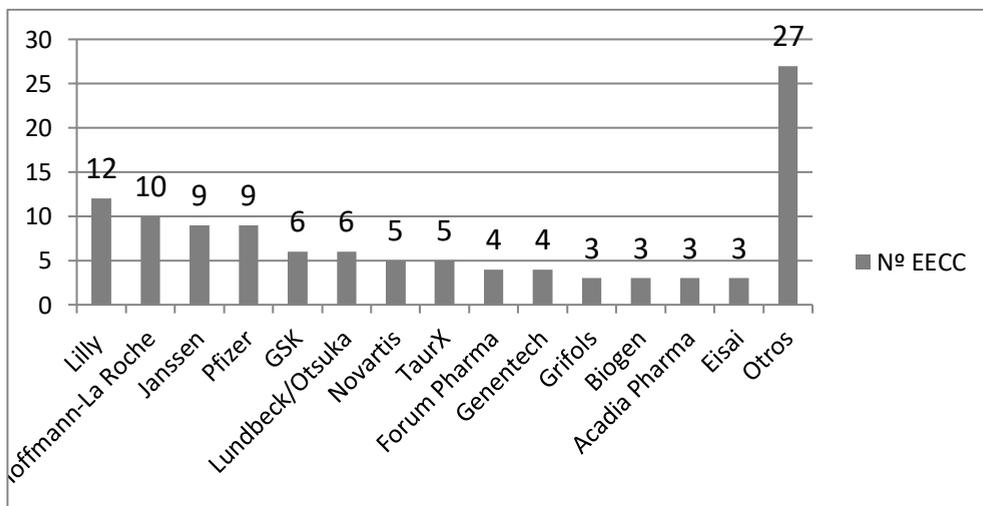
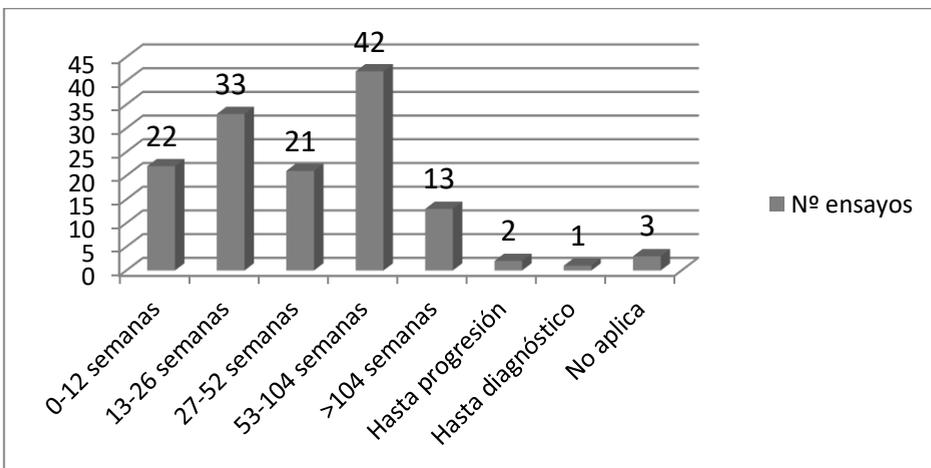


Figura 4.23. Distribución de los ensayos clínicos en EA en España según promotor

En la **figura 4.23** podemos ver un análisis de los 107 ensayos clínicos de la industria en EA realizados en España, resultando Lilly el promotor que más EECC realiza en España (12 estudios), seguido de Roche (10), Janssen y Pfizer (9 cada uno). La primera empresa española en el ranking es Grifols (3 estudios). Podemos ver que la suma de los estudios por promotor es superior a 107. Esto se debe a que un mismo ensayo clínico puede tener más de un promotor.

**4.2.7 Ensayos clínicos según duración del estudio**

De los 137 ensayos clínicos en EA realizados en España, 55 ensayos clínicos tuvieron una duración igual o menor de 6 meses, 21 tuvieron una duración entre 6 meses y 1 año, 42 tuvieron una duración entre 1 año y 2 años y una pequeña proporción duraron más de 2 años. Solo 2 ensayos clínicos fueron diseñados hasta progresión de la enfermedad, 1 fue hasta diagnóstico de la enfermedad, y en 3 ensayos clínicos no aplicaba el tiempo ya que se realizó una única medida sin intervención en el tiempo (**fig. 4.24**). La duración promedio de los 137 estudios analizados fue de 59,03 meses.

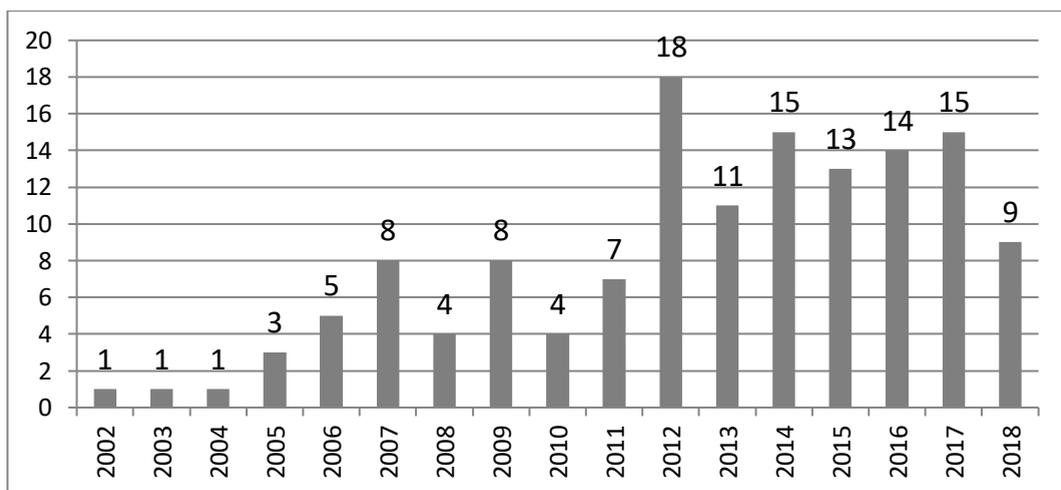


**Figura 4.24. Nº de ensayos clínicos en EA en España según la duración del estudio**

## RESULTADOS

### 4.2.8 Ensayos clínicos iniciados por año

Hasta 2011 se producen un pequeño número de registro de EECC en EA en España al año. 2012 es el año donde se produce un número mayor de estudios (18), manteniéndose durante el siguiente lustro un rango parecido de inicios de EECC (**fig. 4.25**).



**Figura 4.25. Número de ensayos clínicos en EA en España iniciados por año**

### 4.2.9 Ensayos clínicos según previsión de reclutamiento

El siguiente análisis lo hemos realizado con la previsión de reclutamiento global en todo el mundo de los ensayos clínicos en EA que se realizan en España.

De los 137 ensayos clínicos analizados de EA en España, 25 tienen una previsión de reclutamiento de entre 0 a 100 pacientes (18,25%). 21 estudios tienen una previsión de 101 a 200 pacientes globales (15,33%), 36 EECC estiman un reclutamiento entre 201 a 500 pacientes (26,28%), 24 estudios prevén entre 501 y 1000 pacientes (17,52%) y 31 EECC buscan una población superior a los 1000 pacientes (22,63%) (**fig. 4.26**)

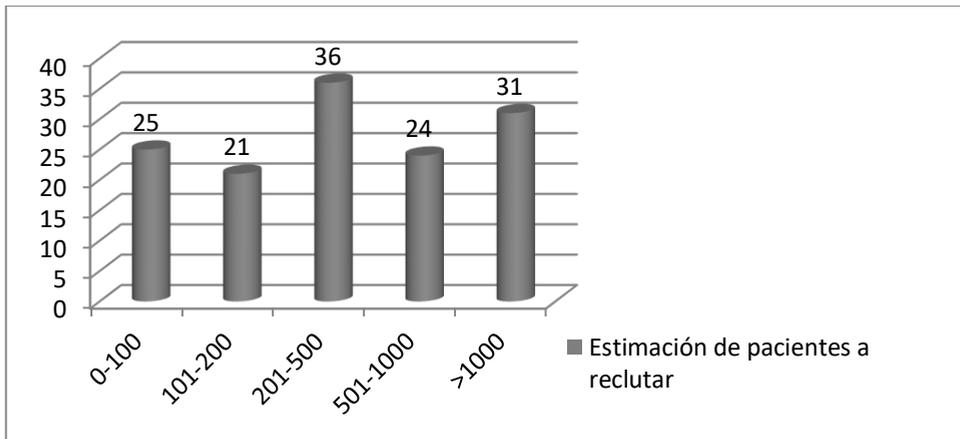


Figura 4.26. Ensayos clínicos en EA en España según previsión de pacientes reclutados en todo en el mundo

#### 4.2.10 Ensayos clínicos según intervención

El 89,78% de los estudios registrados en EA en España son intervencionales (123 estudios). Los 14 estudios restantes son observacionales (fig. 4.27). En el punto 4.2.12 estudiaremos el tipo de intervención.

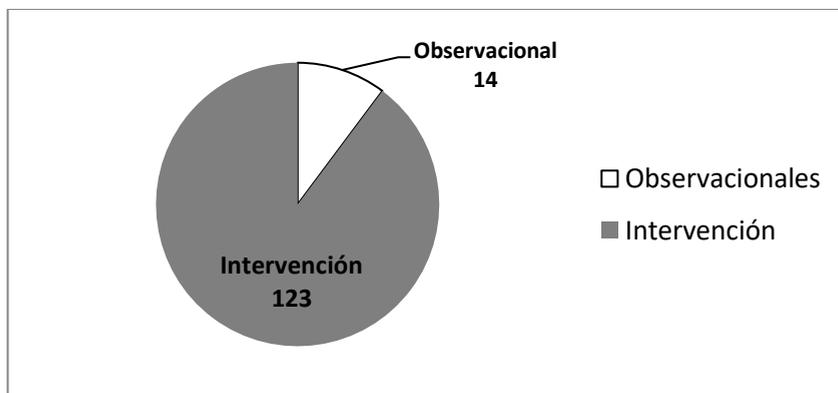


Figura 4.27. Número de ensayos clínicos en EA en España según sean intervencionales u observacionales

## RESULTADOS

### 4.2.11 Ensayo clínicos randomizados/no randomizados

De los 123 ensayos clínicos intervencionales en enfermedad de Alzheimer realizados en España, 43 son no randomizados (o no aleatorizados) y 80 son randomizados (aleatorizados) (fig. 4.28).

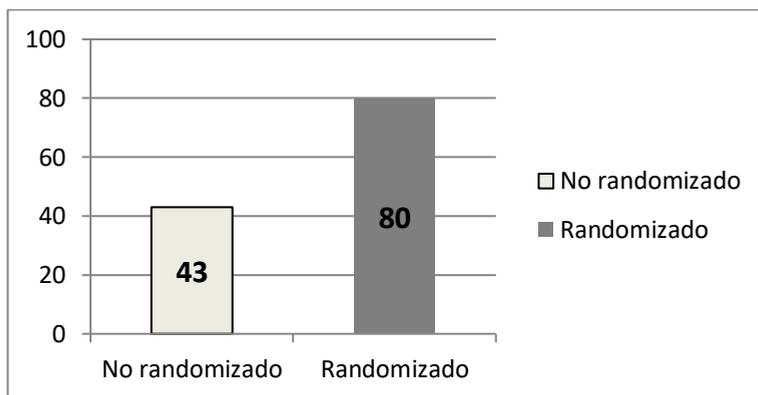


Figura 4.28. Número de ensayos clínicos en EA en España según aleatorización

De los 80 ensayos clínicos randomizados en enfermedad de Alzheimer realizados en España, 75 son comparados con placebo (93,75%), 3 son comparados con una triple rama (brazo experimental, donepezilo o placebo) y dos son comparados con placebo (fig. 4.29).

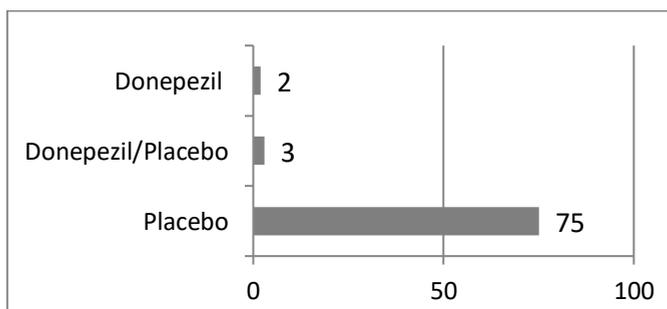
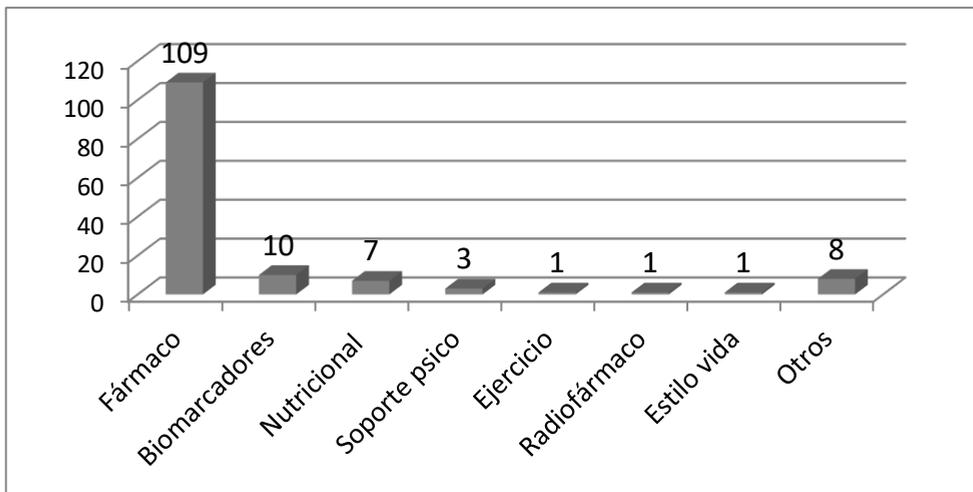


Figura 4.29. Número de ensayos clínicos randomizados en EA en España según el comparador

**4.2.12 Ensayos clínicos según tipo de tratamiento**

Como veíamos en la **figura 4.27**, hemos encontrado en nuestra búsqueda un total de 123 ensayos clínicos con intervención frente a 14 estudios observacionales. Hemos desglosado estos 123 ensayos clínicos según el tipo de intervención. En 109 de los 123 estudios analizados (88,61%) la intervención es un fármaco. Del resto, 10 estudios son de biomarcadores (8,13%), 7 son nutricionales (5,69%) y 3 estudian el soporte psicológico (**fig. 4.30**).



**Figura 4.30. Número de ensayos clínicos en EA en España según el tipo de tratamiento**

En los 109 ensayos clínicos con medicamentos en enfermedad de Alzheimer realizados en España hemos encontrado un total de 57 fármacos. Podemos dividir estos fármacos en: 36 pequeñas moléculas en un total de 67 ensayos clínicos, 17 anticuerpos monoclonales en 38 EECC, 2 moléculas polipeptídicas en 2 ensayos clínicos y 2 TKI en otros 2 ensayos (**fig. 4.31**).

## RESULTADOS

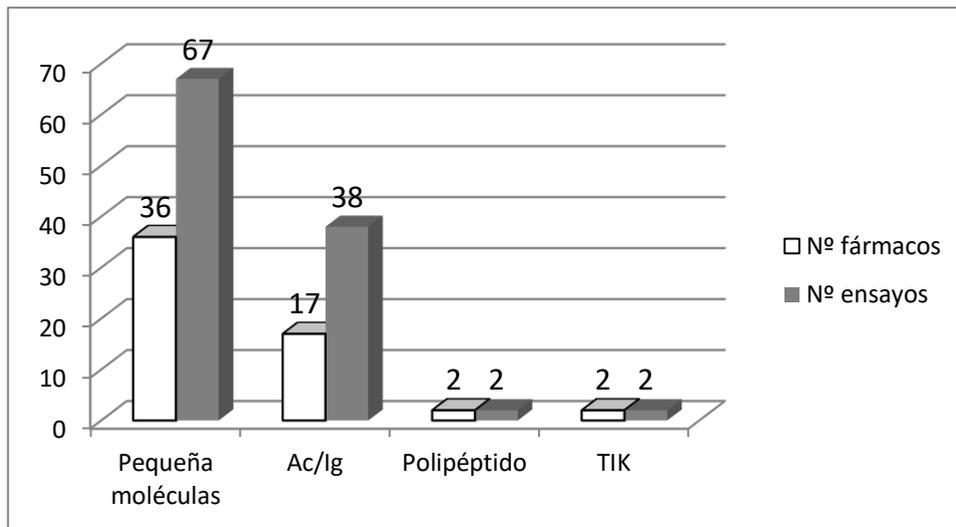


Figura 4.31. Fármacos en investigación en EA en España según clasificación de las moléculas y número de ensayos realizados con cada uno de ellos

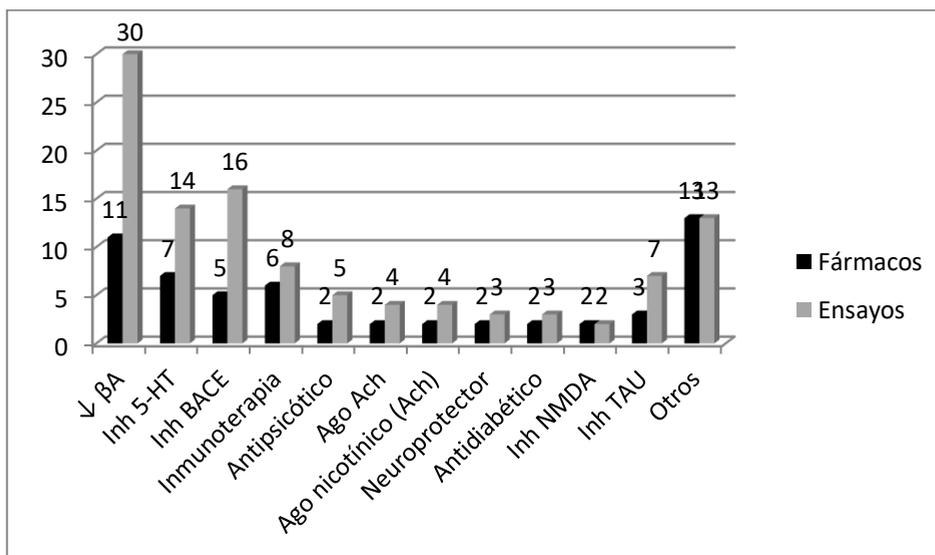
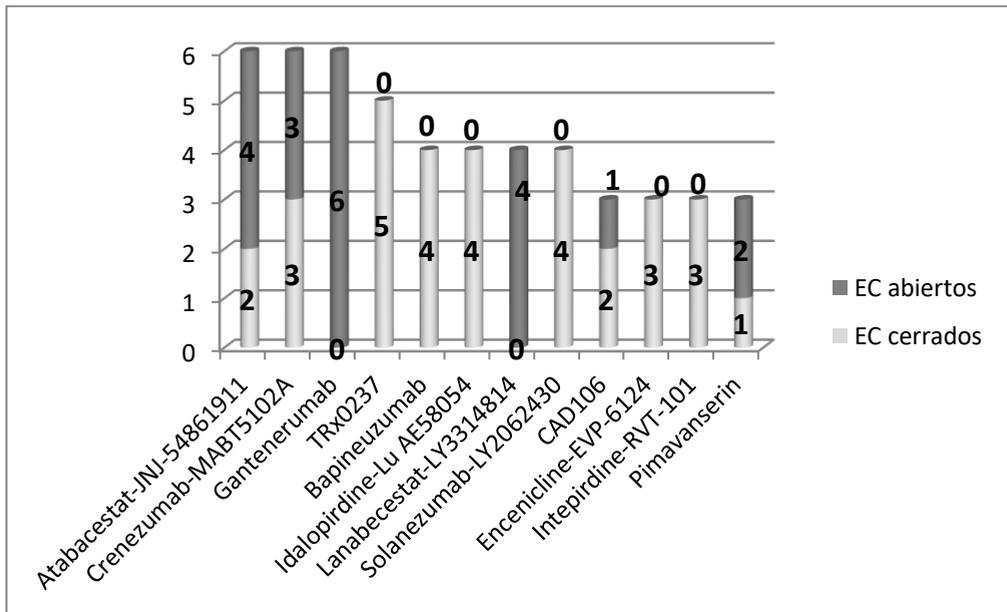


Figura 4.32. Fármacos en investigación según grupo terapéutico en EA en España y número de ensayos clínicos realizados con esas moléculas

De 57 fármacos en investigación usados en enfermedad de Alzheimer en España podemos decir que 11 de ellos tienen como mecanismo de acción la disminución de  $\beta$ A en un total de 30 ensayos clínicos, 7 fármacos son inhibidores de la serotonina e intervienen en 14 EECC, 5 fármacos inhiben BACE (en 16 EECC) y 6 son fármacos inmunológicos en 8 estudios diferentes (**fig. 4.32**).

En la **figura 4.33** podemos ver las moléculas más usadas en enfermedad de Alzheimer en España, tanto en EECC abiertos como cerrados. Gantenerumab (6 EECC abiertos y ninguno cerrado), atabacestat (4 abiertos y 2 cerrados) y crenezumab (3 estudios abiertos y 3 cerrados) son las moléculas más usadas en EECC en EA en España.



**Figura 4.33. Moléculas más usadas en investigación en EA en España.** Ensayos clínicos que a fecha 30 de Septiembre de 2018 están abiertos y cerrados con las moléculas más usadas en investigación de EA

## RESULTADOS

### 4.2.13 Ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios

En los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España el objetivo más usado es la valoración cognitivo-funcional, en 89 EECC se utiliza como objetivo primario y en otros 95 estudios aparece como objetivo secundario (fig. 4.34). La seguridad representa el objetivo primario en 27 de los ensayos clínicos analizados y el objetivo secundario en 2 otros estudios clínicos.

En tercer lugar encontramos la determinación de marcadores en líquido cefalorraquídeo (LCR), en 20 estudios son objetivo primario y en 38 estudios son objetivo secundario. La neuroimagen (RM, PET y SPECT) representa el objetivo primario de 10 estudios y el objetivo secundario de otros 34 estudios.

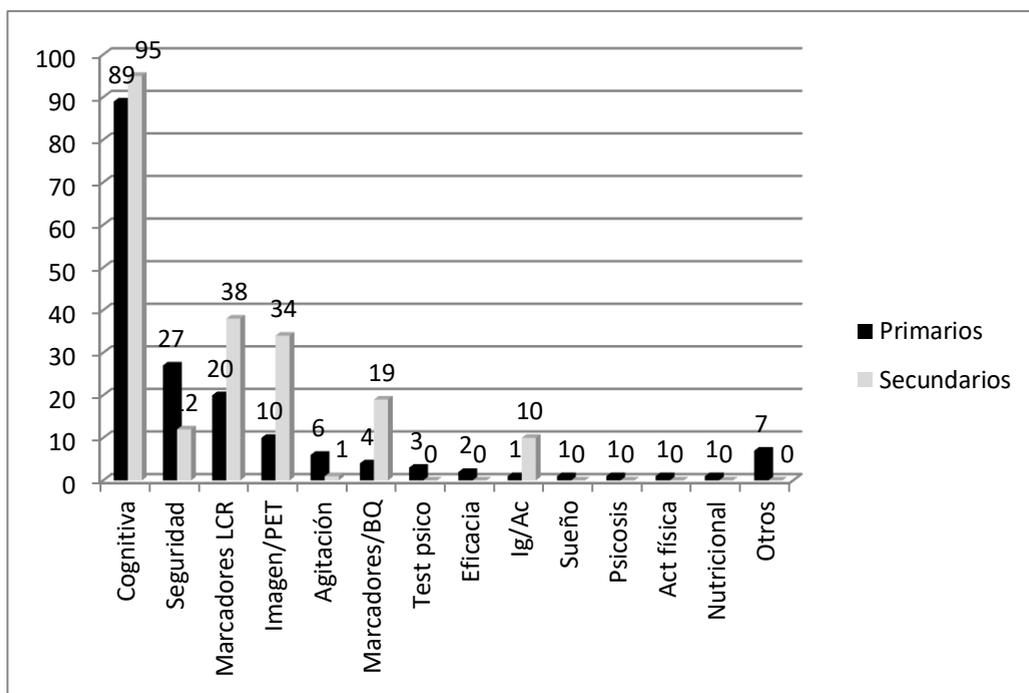
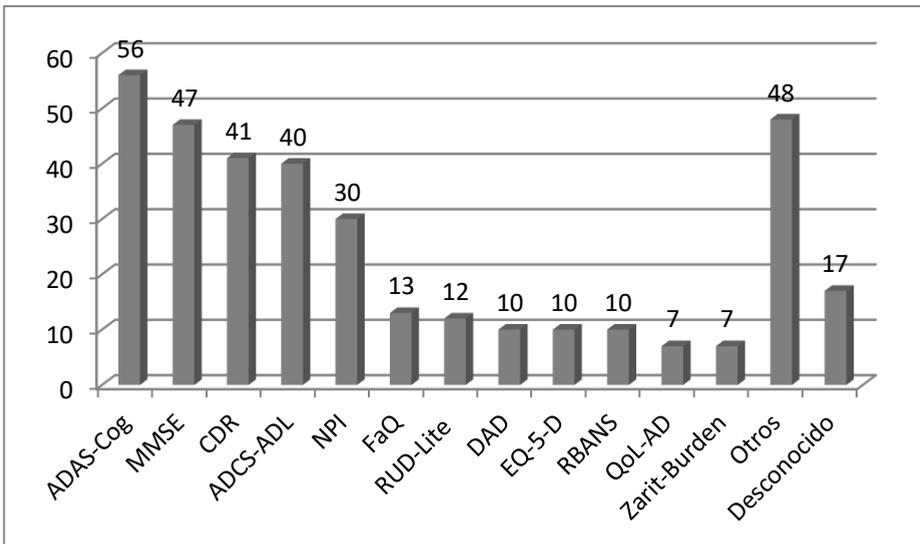


Figura 4.34. Número de ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios en enfermedad de Alzheimer en España

En la **figura 4.35** vemos desglosado los diferentes objetivos primarios y secundarios de tipo neurológico (estos incluyen test funcionales, cognitivos, conductuales y de calidad de vida). El test más usados es el *Alzheimer’s Disease Assessment Scale-cognitive* (ADAS-Cog), presente en 56 de los ensayos clínicos en EA realizados en España.

Este es también el objetivo primario cognitivo más usado a nivel mundial (Schneider, L. 2009b). El segundo test cognitivo más usado en ensayos clínicos en EA en España es el *Mini-Mental State Examination* (MMSE) con un total de 47 estudios. Otros test cognitivos muy usados son el *Clinical Dementia Rating Scale* (CDR), el *Alzheimer’s Disease Cooperative Study - Activities of Daily Living* (ADCS-ADL).

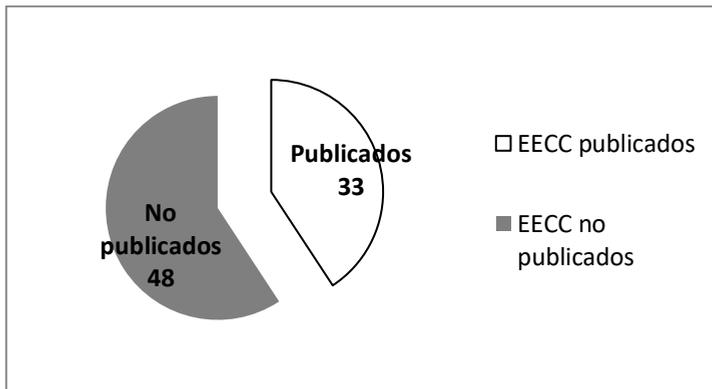


**Figura 4.35. Número de ensayos clínicos según objetivos neurológicos en enfermedad de Alzheimer en España**

## RESULTADOS

### 4.2.14 Difusión de los resultados (publicados/no publicados)

De los 81 ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer cerrados en España el 30 de septiembre de 2018, 48 de ellos no han publicado los resultados en las bases de datos estudiadas (**fig. 4.36**).



**Figura 4.36. Ensayos clínicos cerrados en EA en España según publicación o no de sus resultados**

**4.3 Resultados del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

El estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína” se ha realizado en dos hospitales, el Hospital Clínico Universitario de Valencia, cuyo investigador principal ha sido el Dr. José Miguel Láinez y el Hospital La Ribera de Alzira, siendo el investigador principal el Dr. Francisco Tarazona.

Se han reclutado un total de 9 pacientes en el período 2 de Diciembre de 2014 hasta el 5 Noviembre de 2015 con edades comprendidas entre 55 años y 84 años. Se realizaron un total de 9 *screening*, siendo elegibles para participar en el estudio los 9 pacientes. Todos ellos firmaron el consentimiento informado. El cumplimiento de todos los pacientes fue del 100% (**tabla 4.3** y **tabla 4.4**), por lo que no ha existido pérdida en el número de pacientes.

<b>Inicio y finalización de estudio clínico Genisteína_2</b>		
<b>Período</b>	<b>Inicio</b>	<b>Fin</b>
Reclutamiento	02/12/2014	05/11/2015
Tratamiento	02/12/2014	16/06/2016

**Tabla 4.3. *Timelines* de reclutamiento y tratamiento en estudio clínico Geniteína\_2**

## RESULTADOS

	<i>Screening</i>	Pacientes elegibles (cumplen criterios)	Pacientes que aceptan participar	Pacientes que completan tratamiento (*1)
Total	9	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)
Hombres	4	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)
Mujeres	5	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)

(\*1) Se considera tratamiento cuando el cumplimiento en la toma de la medicación es 90-100%)

**Tabla 4.4. Participación según sexo en estudio clínico GENISTEINA\_2**

De los nueve pacientes participantes, cinco reciben genisteína (dos hombres y tres mujeres) y cuatro han sido aleatorizados al grupo de placebo (dos hombres y dos mujeres) (**tabla 4.5**).

<b>Distribución de pacientes por aleatorización y sexo</b>				
	Genisteína		Placebo	
Total pacientes	5		4	
Sexo	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	2 (40%)	3 (60%)	2 (50 %)	2 (50 %)

**Tabla 4.5. Distribución de pacientes en estudio Genisteína\_2 por aleatorización y sexo**

La edad media de los participantes ha sido de  $74,44 \pm 8,92$  años, los pacientes que han recibido genisteína tienen una edad media de  $74,18 \pm 4,15$  años; mientras los pacientes tratados con placebo tienen una edad media de  $74,00 \pm 13,74$  años (tabla 4.6).

Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y edad				
	Genisteína		Placebo	
Total pacientes	5 (55,56 %)		4 (44,44 %)	
Sexo	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	2 (40 %)	3 (60 %)	2 (50 %)	2 (50 %)
Edad (total)	74,44			
Desviación estándar	8,92			
Edad (por grupos)	74,80		74,00	
Desviación estándar	4,15		13,74	
Edad por sexo	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	76,00	73,00	67,00	81,00
Desviación estándar	3,61	5,66	18,38	5,66
Meses desde diagnóstico	21,44			
Desviación estándar	9,81			

**Tabla 4.6. Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y edad**

Todos los pacientes tratados ya estaban diagnosticados con anterioridad de EA, viéndose en la **tabla 4.7** el tiempo desde el diagnóstico hasta el inicio de tratamiento (en meses). El tiempo medio de diagnóstico total fue de  $21,44 \pm 9,81$  meses. Mientras que los pacientes de la rama experimental tienen una media desde diagnóstico de  $23,80 \pm 11,92$  meses, los pacientes tratados con placebo han empezado el tratamiento  $18,50 \pm 12,14$  meses después del diagnóstico.

## RESULTADOS

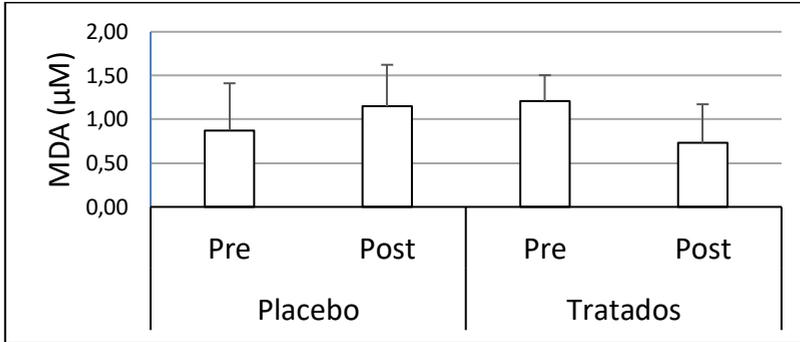
Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y meses desde el diagnóstico de la EA				
	Genisteína		Placebo	
Total pacientes	5 (55,56 %)		4 (44,44 %)	
Sexo	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	2 (40 %)	3 (60 %)	2 (50 %)	2 (50 %)
Meses desde diagnóstico	21,44			
Desviación estándar	9,81			
Meses desde diagnóstico (por grupo)	23,80		18,50	
Desviación estándar	11,92		12,14	
Meses desde diagnóstico por sexo	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	22,67	25,50	24,00	13,00
Desv estándar	16,65	2,12	4,24	0,00

**Tabla 4.7.** Distribución de la población del estudio por aleatorización, sexo y meses desde el diagnóstico de la EA

**4.3.1 Pruebas *ad hoc*:** estudios preliminares del grupo de investigación del Dr. Viña han medido los marcadores de inflamación y de estrés oxidativo en plasma a los pacientes participantes en el estudio clínico “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2”.

**4.3.1.1 Peroxidación lipídica en plasma:** se ha realizado la cuantificación de malonildialdehído (MDA) como producto de oxidación lipídica. A pesar de que no vemos diferencias significativas en ambos grupos sí existe una tendencia de los

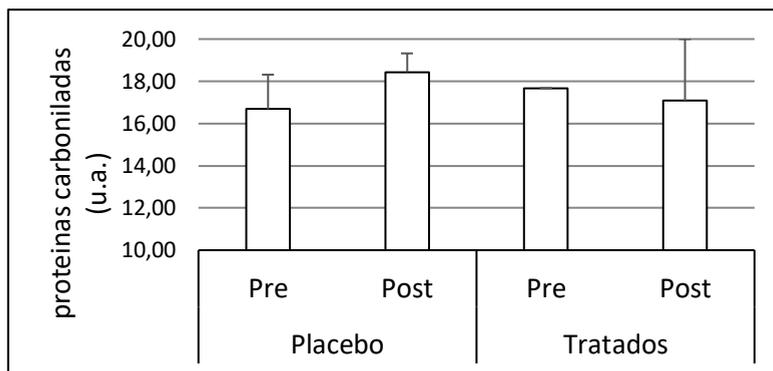
pacientes tratados con genisteína a presentar una menor oxidación lipídica en plasma (fig. 4.37).



**Figura 4.37. Medida de peroxidación lipídica en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de 3 pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de 3 pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.1.2 Proteínas oxidadas en plasma:** se ha medido la presencia de proteínas carboniladas en plasma para cuantificar la oxidación proteica en plasma (fig. 4.38). Aunque no podríamos establecer una relación entre el grupo genisteína y una disminución de las proteínas carboniladas, sí existe una tendencia en los pacientes que toman genisteína a presentar menores niveles de proteínas oxidadas en plasma.

## RESULTADOS

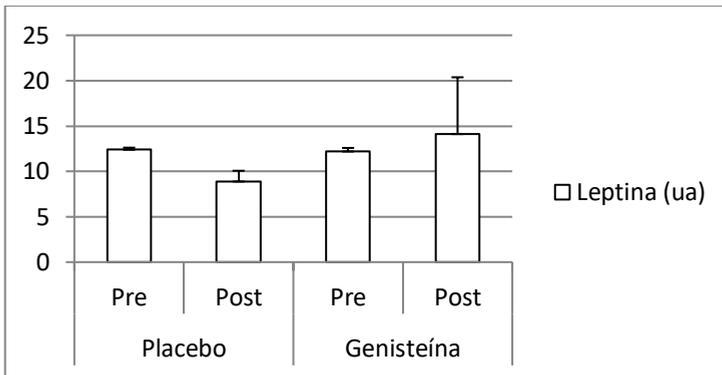


**Figura 4.38. Medida de peroxidación lipídica en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de 3 pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de 3 pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

### 4.3.1.3 Mediadores solubles de inflamación en plasma

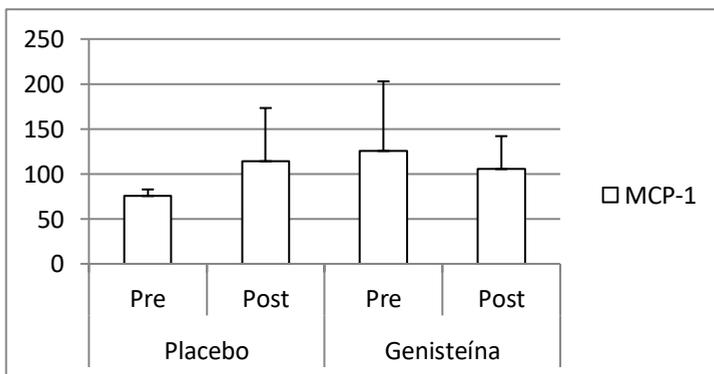
Los mediadores solubles de la inflamación en plasma leptina, MCP-1 y TNF son los biomarcadores que hemos usado para valorar la inflamación en tejido periférico (**fig. 4.39**, **fig. 4.40** y **fig. 4.41** respectivamente).

En la **figura 4.39** no vemos diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento, pero sí vemos una tendencia en la disminución de leptina en el grupo placebo tras el tratamiento de 26 semanas, mientras en el grupo de pacientes tratados con genisteína vemos una tendencia en el aumento de leptina.



**Figura 4.39. Medida de leptina en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de 3 pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de 3 pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

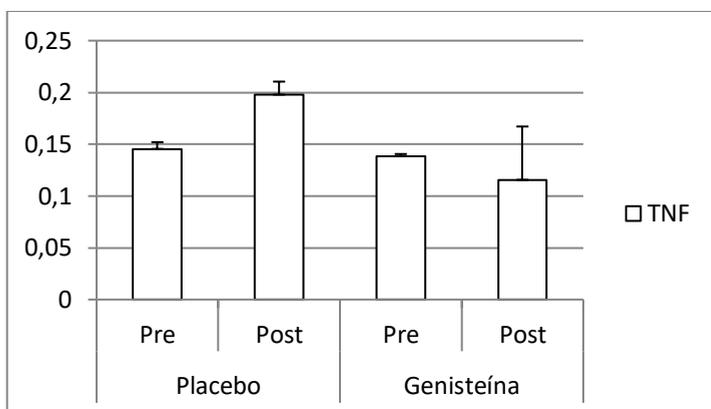
En la **figura 4.40** podemos ver la medicación del biomarcador MCP-1 en plasma. No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, pero sí observamos una tendencia en la disminución de este biomarcador de inflamación en el grupo de pacientes tratados con genisteína durante 26 semanas.



## RESULTADOS

**Figura 4.40. Medida de MCP-1 en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de 3 pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de 3 pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

Aunque no podamos establecer una relación fuerte entre tratamiento con genisteína y disminución del marcador TNF en plasma (**fig. 4.41**), sí vemos una disminución en el grupo genisteína en la semana 26 del tratamiento.



**Figura 4.41. Medida de TNF en plasma en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de 3 pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de 3 pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.2 Resultados de pruebas cognitivas**

**4.3.2.1 Resultados de MMSE**

Rama	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala cognitiva de EA (MMSE) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	2,20	0,25
Media (Desviación Estándar)	1,48	2,06
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,14	
Diferencia de medias (valores finales)	1,95	
Intervalo confianza 95 %	[0.83, 4.73]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: MMSE evalúa orientación temporal y espacial, memoria, atención, concentración, cálculo, lenguaje, comprensión, y habilidades para crear nuevas frases y reproducir figuras geométricas. La puntuación más alta es 30 y la puntuación más baja es 0. Una baja puntuación indica más deterioro cognitivo.	

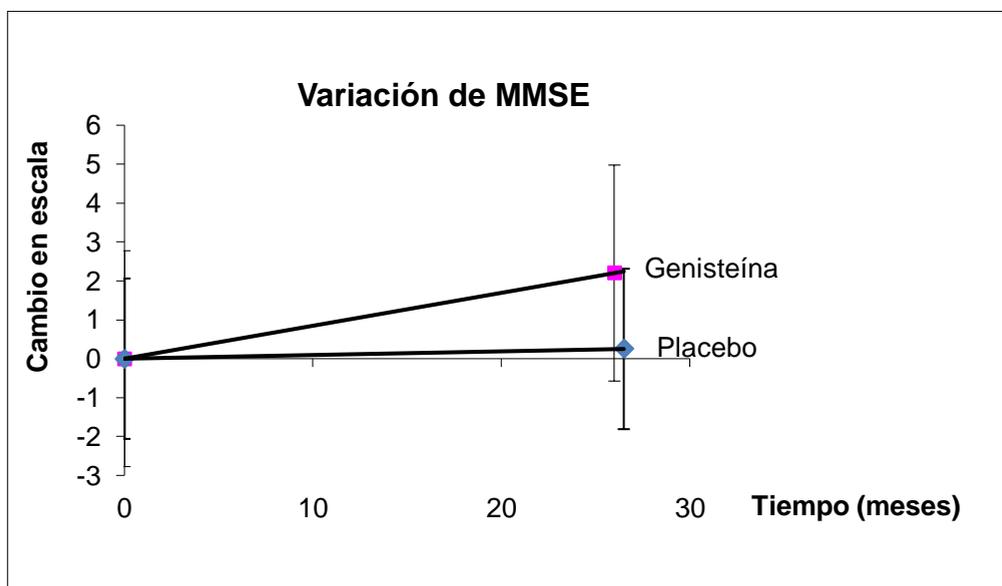
**Tabla 4.8. Análisis estadístico de los resultados de cambio en escala cognitiva de EA (MMSE) en la semana 26 de tratamiento.**

En la **figura 4.42** vemos el cambio en la escala cognitiva MMSE en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

## RESULTADOS

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias entre el grupo placebo y el grupo experimental. A pesar de que no hay una diferencia estadísticamente significativa, existe una tendencia en el grupo de pacientes tratados con genisteína a mejorar los resultados de la prueba cognitiva MMSE a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.42. Cambio en escala cognitiva de EA (MMSE) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

4.3.2.2 Resultados de T@M

Rama	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala cognitiva de EA (T@M) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	6,80	1,75
Media (Desviación Estándar)	6,98	6,08
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,29	
Diferencia de medias (valores finales)	5,05	
Intervalo confianza 95 %	[-5.43, 15,52]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: T@M evalúa memoria inmediata, orientación temporal, memoria semántica y memoria evocada. La puntuación más alta es 50 y la puntuación más baja es 0. Una baja puntuación indica más deterioro cognitivo. El punto de corte para EA es $\leq 31$	

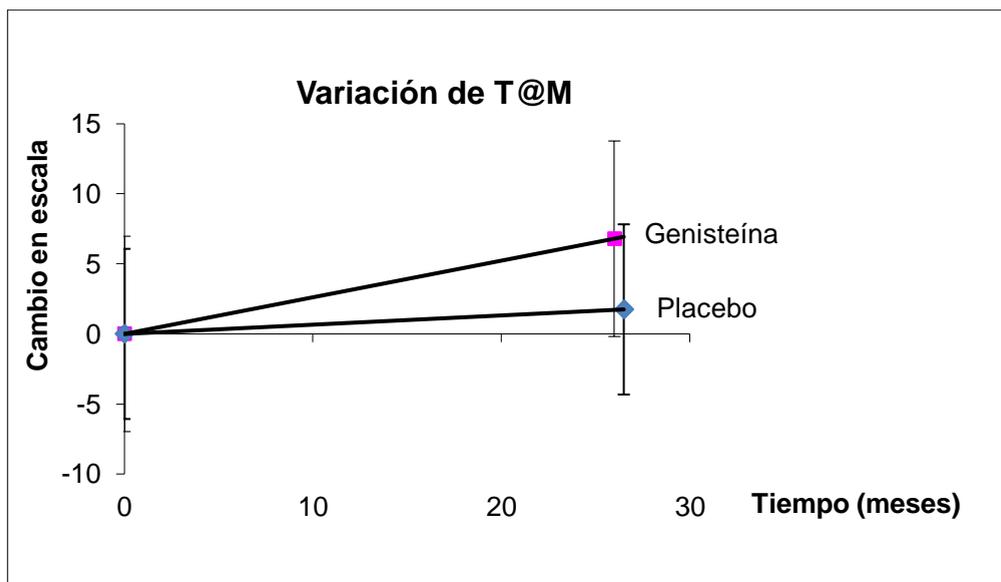
Tabla 4.9. Análisis estadístico de los resultados de cambio en escala cognitiva de EA (T@M) en la semana 26 de tratamiento.

En la **figura 4.43** vemos el cambio en la escala cognitiva T@M en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

## RESULTADOS

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias entre el grupo tratado con genisteína y el tratado con placebo. A pesar de que no hay una diferencia estadísticamente significativa, vemos una tendencia en el grupo de pacientes tratados con genisteína a mejorar los resultados de la prueba cognitiva T@M a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.43. Cambio en escala cognitiva de EA (T@M) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

4.3.2.3 Resultados de ADAS-cog

Rama	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala cognitiva de EA (ADAS-cog) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	-7,00	0,25
Media (Desviación Estándar)	8,80	5,12
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,19	
Diferencia de medias (valores finales)	-7,25	
Intervalo confianza 95 %	[-19.07, 4.57]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: ADAS-cog evalúa memoria, lenguaje y orientación. La puntuación más alta es 70 y la puntuación más baja es 0. Una alta puntuación indica más deterioro cognitivo.	

Tabla 4.10. Análisis estadístico de los resultados de cambio en escala cognitiva de EA (ADAS-cog) en la semana 26 de tratamiento.

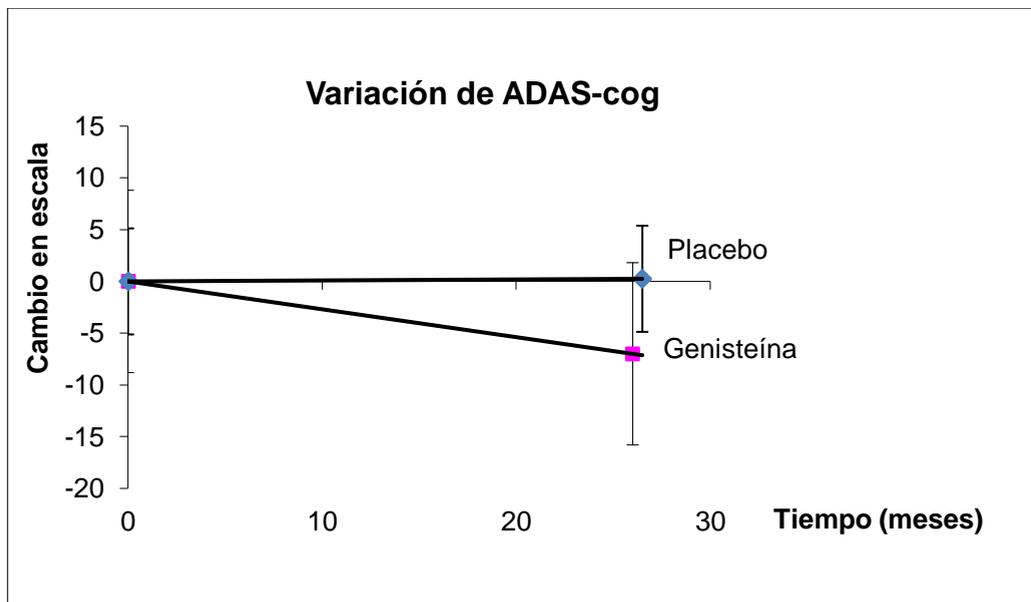
En la **figura 4.44** podemos ver el cambio en la escala cognitiva ADAS-cog en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias significativas entre el grupo tratado con genisteína y el tratado con placebo, aunque vemos una tendencia en el grupo de pacientes tratados con genisteína a mejorar las

## RESULTADOS

puntuaciones obtenidas en la prueba cognitiva ADAS-cog a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.44. Cambio en escala cognitiva de EA (ADAS-cog) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.3 Resultados de pruebas conductuales**

**4.3.3.1 Resultados de NPI**

Rama	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala conductual de EA (NPI) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	-1,20	-0,25
Media (Desviación Estándar)	3,633180425	2,986078811
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,68	
Diferencia de medias (valores finales)	-0,95	
Intervalo confianza 95 %	[-6,30, 4,40]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: NPI evalúa: delirios, alucinaciones, agitación, depresión/disforia, ansiedad, euforia/júbilo, apatía/indiferencia, desinhibición, irritabilidad/labilidad, conducta motora sin finalidad, alteraciones del sueño y del apetito/alimentación. La puntuación más alta es 36 y la puntuación más baja es 0. Una alta puntuación indica mayor severidad en síntomas neuropsiquiátricos	

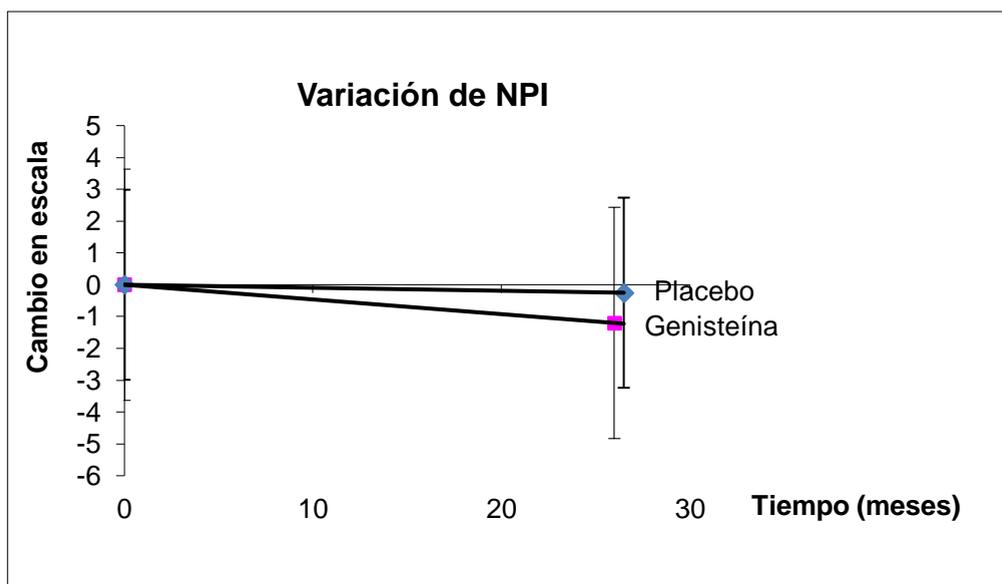
**Tabla 4.11. Análisis estadístico de los resultados de cambio en escala conductual de EA (NPI) en la semana 26 de tratamiento.**

En la **figura 4.45** analizamos el cambio en la escala conductual NPI en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

## RESULTADOS

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias entre el grupo experimental y el grupo control, aunque observamos una tendencia en el grupo de pacientes tratados con genisteína a mejorar las puntuaciones obtenidas en la prueba conductual NPI a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.45. Cambio en escala conductual de EA (NPI) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.4 Resultados de pruebas funcionales**

**4.3.4.1 Resultados de Índice de Barthel**

Rama	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala funcional de EA (Índice de Barthel) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	-3,00	-3,75
Media (Desviación Estándar)	13,03840481	4,787135539
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,92	
Diferencia de medias (valores finales)	0,75	
Intervalo confianza 95 %	[-15.66, 17.16]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: el Índice de Barthel evalúa capacidades básicas de la vida diaria. La puntuación más alta es 100 y la puntuación más baja es 0. Una baja puntuación indica mayor grado de dependencia	

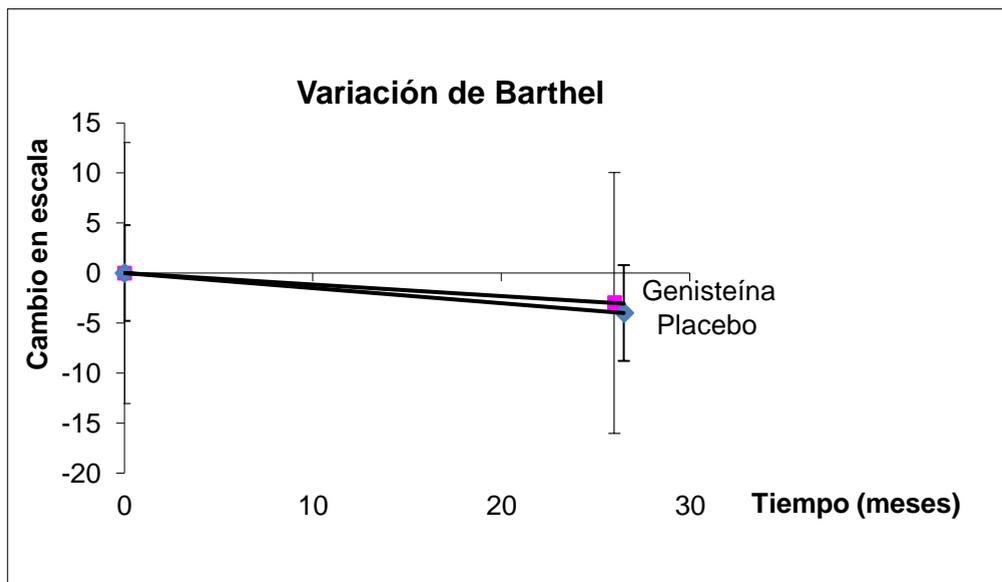
**Tabla 4.12. Análisis estadístico de los resultados de cambio en escala funcional de EA (Índice de Barthel) en la semana 26 de tratamiento.**

En la **figura 4.46** vemos el cambio en la escala funcional de Barthel en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

## RESULTADOS

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias entre el grupo experimental y el grupo control, observamos que los pacientes tratados con genisteína no empeoran con respecto a los tratados con placebo a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.46. Cambio en escala funcional de EA (índice de Barthel) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.5 Resultados de pruebas cognitivo-funcionales**

**4.3.5.1 Test del informador**

Rama	Genistéina	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Período de tratamiento	26 semanas	
Cambio en escala cognitiva-funcional de EA (Test del informador) <sup>1</sup> en la semana 26 [Unidades: Puntos en una escala]	-7,60	-5,50
Media (Desviación Estándar)	16,10	9,15
Tipo test estadístico	superioridad u otros	
Método estadístico	t-test, 2 sided	
p Valor	0,82	
Diferencia de medias (valores finales)	-2,10	
Intervalo confianza 95 %	[-23.61, 19,41]	
	<sup>1</sup> Descripción de la medida: evalúa orientación temporal y espacial, memoria, atención, concentración, cálculo, lenguaje, comprensión, y habilidades para crear nuevas frases y reproducir figuras geométricas. La puntuación más alta es 130 y la puntuación más baja es 26. Una alta puntuación indica máximo deterioro, indicando una puntuación <78 la no existencia de deterioro cognitivo.	

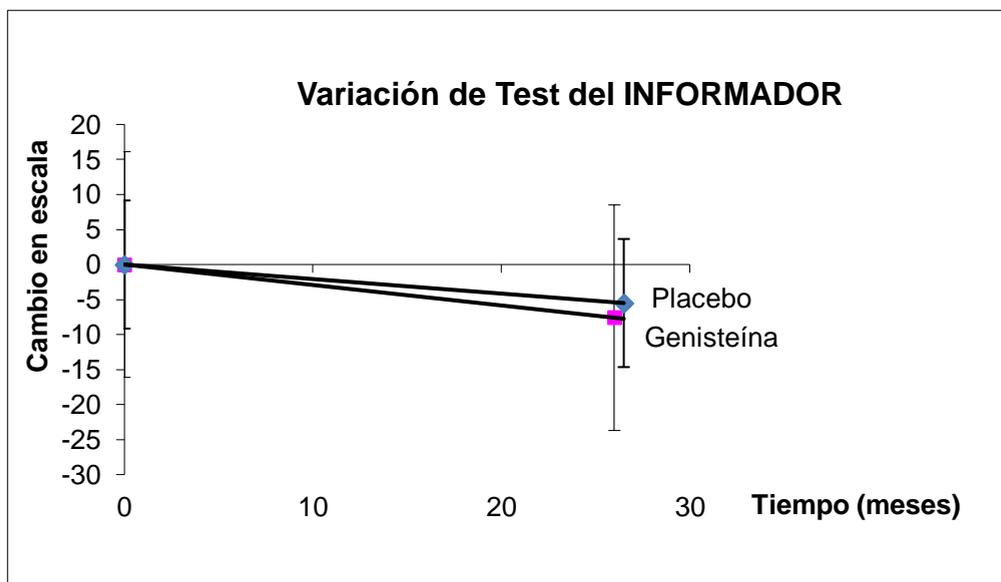
**Tabla 4.13. Análisis estadístico de los resultados de Cambio en escala cognitivo-funcional de EA (Test del informador) en la semana 26 de tratamiento.**

En la **figura 4.47** podemos ver el cambio en la escala cognitivo-funcional de *test del informador* en la semana 26 de tratamiento, podemos observar:

## RESULTADOS

- No existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

De estos resultados podemos deducir que no existen diferencias entre el grupo experimental y el grupo control. No obstante, podemos comprobar en los pacientes tratados con genisteína una leve tendencia a mejorar las puntuaciones obtenidas en la prueba cognitiva-funcional (test del informador) con respecto a los tratados con placebo a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento.



**Figura 4.47. Cambio en escala cognitivo-funcional de EA (Test del informador) en la semana 26 de tratamiento con genisteína o placebo.** Los valores están expresados como la media  $\pm$  desviación estándar. El grupo experimental constó de cinco pacientes que recibieron genisteína durante 26 semanas, mientras el grupo control constó de cuatro pacientes que recibieron placebo durante 26 semanas.

**4.3.6 Seguridad**

Ninguno de los pacientes incluidos en el estudio sufrió ningún tipo de efecto adverso (**tabla 4.14**). Se define reacción adversa medicamentosa (RAM) como toda respuesta lesiva y no deseada que aparece a dosis terapéuticas en la especie humana al utilizarse este medicamento para tratamiento, prevención o diagnóstico de una enfermedad. Se define acontecimiento adverso cualquier experiencia no deseable que ocurra a un sujeto durante un EECC, se considere o no relacionada con los productos en investigación. Se utiliza sólo durante fase de investigación. Cuando el fármaco se comercializa, se emplea el término reacción adversa.

<b>Acontecimientos adversos registrados durante el estudio Genisteína_2</b>		
Periodo de tratamiento	El tiempo de registro de acontecimientos adversos comprende desde la firma del consentimiento informado hasta la visita de fin de estudio.	
Descripción de informe de acontecimientos adversos	Los acontecimientos adversos son descritos por el investigador principal en el Cuaderno de Recogida de Datos (tercera y cuarta visita del paciente)	
Tratamiento	Genisteína	Placebo
Total pacientes	5 (55,56 %)	4 (44,44 %)
Efectos adversos	0/5 (0%)	0/4 (0%)

**Tabla 4.14. Acontecimientos adversos registrados durante el estudio Genisteína\_2**



# **Capítulo 5**

# **DISCUSIÓN**



Triste la mirada que cae de tus ojos  
que van perdiendo su brillo natural.  
Dame la mano aunque le falte la fuerza  
que en otros tiempos te hacía invencible

Y ahora mi voz queda marcada  
por la llamada silenciosa de tus palabras,  
no sé hasta dónde entiendo ese silencio  
o si tus gestos dibujan alguna esperanza.

**Enrique Villarreal**

**Cordones de mimbre**

Campaña radiofónica de la *Asociación de Familiares de Enfermos de Alzheimer* de Navarra (AFAN), "Acuérdate de los que olvidan"



## **5.1 Discusión del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina 2”**

### **5.1.1 Justificación del estudio**

La clasificación terapéutica en el programa GAIA no permite distinguir los distintos tipos de demencia. Ya que la enfermedad de Alzheimer representa el principal tipo de demencia, y que en otras demencias no está indicado el uso de estos fármacos, como por ejemplo en demencias frontotemporales, asumimos que los resultados obtenidos en este estudio representarán en mayor grado los pacientes de EA. Según ficha técnica de los fármacos estudiados, donepezilo, rivastigmina y galantamina está indicada en EA leve a moderada, mientras que memantina está indicada en EA moderada a grave. *Ginkgo biloba* es el único principio activo de nuestro estudio que está indicado en deterioro cognitivo y podría pautarse a un enfermo con una demencia diagnosticada diferente a EA e incluso en tratamientos no específicos de la demencia (CIMA-AEMPS, 2019). Por tanto, asumimos que todos los pacientes que han sido prescritos con donepezilo, rivastigmina, galantamina y memantina sufren enfermedad de Alzheimer. Aun así, hablaremos en este subapartado de demencia y no de EA.

Al tratarse de fármacos de diagnóstico hospitalario, es decir, deben ser prescritos por un especialista en el entorno hospitalario, bien en el servicio de Neurología o Geriátrica de estos hospitales, obtendremos tanto la prevalencia de la enfermedad como los datos de consumo de fármacos de los dos departamentos de Salud a los que pertenecen los hospitales donde se ha realizado nuestro estudio. Por tanto, cuando hablemos de datos de Hospital Clínico u Hospital La Ribera, los resultados son de todo el Departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa y Departamento de Salud 11 La Ribera.

## DISCUSIÓN

El hecho de que los pacientes son diagnosticados en consulta especializada hace fiable los datos de diagnóstico, aunque por la naturaleza del estudio, no tendremos en cuenta aquellos pacientes diagnosticados que no reciban tratamiento.

### **5.1.2 Pacientes tratados de demencia**

El departamento de Salud 5 Clínico-Malvarrosa atiende a una población total de 341.479. En 2013 la prevalencia de la enfermedad era 2880 pacientes (**fig. 4.1**). En 2018 esta cifra ha bajado ligeramente, hasta situarse en 2554 pacientes (un 0,75%) de la población total del Departamento. La enfermedad de Alzheimer tiene una prevalencia mayor en mujeres (Lobo, A. 2000). Los resultados en nuestro estudio son congruentes, hay una proporción mayor de mujeres afectadas de EA que hombres, la proporción es estable a lo largo de todo el estudio (2013-2018).

El Departamento de Salud 11 La Ribera cuenta con una población total de 249.855 habitantes. La prevalencia ha disminuido desde 2013 (1776 enfermos) hasta 2018 (1549 pacientes) (**fig. 4.1**). La disminución ha sido similar a la sufrida en el Departamento de Salud del Hospital Clínico de Valencia. La prevalencia total es de 0,62%. La proporción entre mujeres y hombres es muy similar a la vista en el Departamento 5.

De los datos obtenidos en cuanto a prevalencia en ambos departamentos de salud podemos concluir que son similares.

### **5.1.3 Prescripción por sexo y grupo de edad**

La prevalencia de mujeres y hombres da resultados parecidos al de otros estudios anteriores recientes (De Hoyos-Alonso, M. 2016). La **tabla 4.1** y la **figura 4.2** muestran la distribución de prescripciones de fármacos para la demencia por sexo

y grupos de edad en ambos departamentos. A edades más tempranas no existen diferencias en cuanto a número de prescripciones en hombres y mujeres, es a partir del grupo de los 66 años cuando se ve una mayor prevalencia de mujeres enfermas de demencia que de hombres, siendo más acentuadas estas diferencias entre las edades comprendidas entre los 71 y los 90 años. Esto coincide con lo visto en el apartado 1.11.7 sobre diferencias entre hombres y mujeres, en edades más tempranas hay una prevalencia similar entre hombres y mujeres, pero la prevalencia e incidencia en mujeres es mucho mayor en edades más avanzadas de la vejez (Lobo, A. 2000). Una explicación a este fenómeno es que la esperanza de vida en mujeres es mayor que en hombres (Aguero-Torres, H. 1998). Teniendo en cuenta que la esperanza de vida en España en 2018 es de 80,43 años para los hombres y de 85,80 años para las mujeres (INE.es. 2018) y viendo que la prevalencia ya es mayor en mujeres a partir de los 61 años, podríamos matizar la hipótesis de la esperanza de vida. Para ello, recordaremos los estudios del grupo del profesor Viña sobre toxicidad mitocondrial y sexo (Viña, J. 2010). El grupo del profesor Viña descarta que las diferencias sean solamente sociales o debidas únicamente a la esperanza de vida, y descubre que en ratas Wistar (modelo más aproximado en cuanto a sexo y longevidad con la especie humana), las hembras producen menos estrés oxidativo que los machos gracias a la acción estrogénica. Además en edades más jóvenes, la acción protectora del estrógeno es mayor en hembras que en machos, pero en animales más ancianos la producción de ROS es igual o incluso mayor en hembras que en machos (Lloret, A. 2008), lo que podría explicar por qué en edades más tempranas hay una prevalencia parecida o incluso menor en mujeres que en hombres, pero a partir de edades más avanzadas, se pierde el factor protector estrogénico, por lo que aumenta la prevalencia de demencia.

## DISCUSIÓN

El hecho de que existan diferencias en los porcentajes de hombres y mujeres con demencia entre los departamentos de salud podría ser objeto de discusión (**fig. 4.3**). Mientras en el Departamento del Hospital Clínico la demencia en mujeres se sitúa alrededor del 67,5%, en el Departamento de Alzira está en torno al 64,5%. Sería interesante un estudio desde el punto de vista epidemiológico para ver la ocupación y nivel sociocultural de las personas aquejadas de demencia, para determinar si influye vivir en un ámbito más urbano o rural. En este punto sería interesante destacar el hecho de que el Hospital de La Ribera atiende a varias poblaciones mayores de 5.000 habitantes (Alzira, Sueca, Sollana, etc.), por lo que no podríamos considerarlo rural, aunque históricamente haya sido una comarca dedicada a la agricultura, con los hábitos físicos, alimentarios y socioculturales que ello conlleva. Debemos tener en cuenta la edad de nuestros pacientes y entender la discusión desde un punto de vista amplio, nuestros ancianos de hoy en día fueron la última generación que vio el sector primario como el motor de economía más importante de la Comunidad Valenciana. No tendría sentido, hacer este análisis en próximas generaciones donde el sector terciario ha desbancado por completo a la agricultura. El acceso a la educación (y la necesidad de la incorporación temprana al trabajo) también podría ser un tema de debate para generaciones nacidas en las décadas de los 30, 40 y 50 del pasado siglo. Por ejemplo, sería interesante analizar si el descenso del porcentaje de mujeres con demencia tiene relación con hábitos de vida más saludables o a una actividad económica ligada a la agricultura, por tanto al hábito físico.

### **5.1.4 Tendencia de prescripción por hospital y fármaco**

La **figura 4.4** muestra el número de prescripciones de cada fármaco por año en los dos departamentos de salud. El patrón de prescripción a lo largo del período 2013-2018 es muy similar en ambos departamentos. El fármaco más prescrito en

ambos hospitales es la memantina. Hasta 2016 el anticolinesterásico más usado es la rivastigmina, la formulación en parches le otorga una ventaja importante, ya que está indicado en pacientes con dificultad al deglutir y en aquellos reacios a tomar fármacos o poco cumplidores. Sin embargo, a partir de 2016 el donepezilo alcanza la segunda posición, desbancando a la rivastigmina. El aumento de donepezilo y memantina (**fig. 4.4**), sobretodo a partir de 2016, puede tener lugar debido al posicionamiento terapéutico de la grandes agencias, como la FDA o la EMEA. La terapia combinada de fármaco anticolinérgico y antagonista NMDA, especialmente donepezilo y memantina, ha mostrado beneficio en el tratamiento de la EA moderada a grave en cuanto a cognición, síntomas neuropsicológicas y actividades de la vida diaria (Howard, R. 2012; Matsunaga, S. 2015).

En cuanto al resto de fármacos, la galantamina sufre un importante descenso y el *ginkgo biloba* pierde su posición en la terapéutica en apenas un lustro. La disminución de la prescripción de *ginkgo biloba* en pacientes de los departamentos de Salud estudiados (**fig. 4.4**) debemos tomarla como una amenaza para nuestro estudio. De todas las moléculas aprobadas para la indicación de EA, genisteína muestra una mayor afinidad con *ginkgo biloba* por su efecto protector. La disminución de la prescripción de *ginkgo biloba* durante el período 2013-2018 en un 81,5% en el Departamento 5 de Salud (Clínico-Malvarrosa) y un 82,9% en el Departamento de Salud 11 (La Ribera) muestra una tendencia del profesional sanitario a no prescribir un fármaco en el que no se confía porque no ha demostrado la eficacia esperada. Dos consideraciones al respecto de estos resultados, la primera ya ha sido expuesta en nuestro trabajo, el inicio del tratamiento se da en estadios muy avanzados de la enfermedad. La deposición de  $\beta$ A puede darse incluso décadas antes de aparecer los primeros síntomas de deterioro cognitivo (Villemagne, V. 2013), cuando empieza el

## DISCUSIÓN

tratamiento con el neuroprotector, no solo se ha producido un daño neuronal irreversible por  $\beta$ A, se han activado otros muchos mecanismos neurodegenerativos como pueden ser daño por TAU, estrés oxidativo y el proceso neuroinflamatorio (Hyman, B. 2011) que hace estéril el efecto del neuroprotector. Para refrendar nuestra hipótesis, nos remitimos a la **figura 4.10** (Prescripción de *ginkgo biloba* por Departamento de Salud y por grupos de edad durante el período 2013-2018), más concretamente a las curvas de 2013, donde aún se vislumbraba cierta esperanza por parte del prescriptor en *ginkgo biloba*. Vemos como a la izquierda de la figura, la curva correspondiente a 2013 en el Departamento de Salud Clínico-Malvarrosa, hay una línea de tendencia de aumento de la prescripción que empieza a los 56 años y dura hasta los 75 años. Es en el grupo de entre 76 y 80 años donde hay un aumento más marcado. En el Departamento de Salud 11 (La Ribera) la pendiente es mucho más pronunciada, entre los 65 y los 70 años se produce un gran aumento en la prescripción de *ginkgo biloba*. El diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer suele ser tardío. Las primeras lagunas de memoria se achacan a la edad, por lo que se acude al especialista cuando el deterioro es más que evidente. Nuestras gráficas responden a la realidad, a pacientes que no solo olvidan donde han puesto las llaves, sino aquellos en los que los síntomas son más graves. Nuestras gráficas no son resultados de un ensayo clínico donde el deterioro cognitivo ha sido ponderado al principio del estudio y se ha intentado tener una población homogénea. Por tanto, consideramos que la prescripción de *ginkgo biloba* se da en edades demasiado avanzadas para ver un efecto positivo del fármaco, de ahí, el abandono de su uso por parte del prescriptor.

La segunda consideración a tener en cuenta son los diferentes mecanismos de acción de *ginkgo biloba* y genisteína. A pesar de que podamos catalogar a ambas

como neuroprotectores, son muchos los matices que las separan, empezando por la finalidad de esta tesis. La fracción flavonoide del extracto de *ginkgo biloba* parece ser la responsable del efecto neuroprotector, a través de la eliminación directa de especies reactivas del oxígeno, actuando como quelantes de iones metálicos oxidantes y aumentando el número de proteínas antioxidantes como GSH o SOD (Smith, J. 2003). Además mejora las propiedades reológicas de la sangre, disminuyendo la viscosidad sanguínea y mejorando el flujo y la microcirculación sanguínea (Rodríguez, M 2007). Genisteína no solo compartiría el efecto neuroprotector con *ginkgo biloba* al ser también una isoflavona vegetal, la genisteína además aumenta la expresión de PPAR $\gamma$  (Vallés, S. 2010), incrementado a su vez la expresión de ApoE, lo que se traduce en un aumento del aclaramiento cerebral de  $\beta$ A.

También me gustaría recalcar en esta discusión, el uso *off-label* (es decir, fuera de ficha técnica) de la citicolina en nuestro sistema de Salud, tal y como hemos visto en el apartado **1.13.2.1**. A pesar de que solo está indicada en tratamientos neurológicos asociados a accidentes cerebrovasculares y traumatismos craneales, y a pesar de la no evidencia del uso de citicolina en demencia, se está pautando este fármaco en demencia (SIA-GAIA, 2013). Son muy importantes los estudios con genisteína para el posicionamiento terapéutico de la molécula, la evidencia basada en la experiencia ha de verse avalada por la evidencia basada en la investigación.

En la **tabla 4.5** podemos ver el patrón de dispensación de fármacos por sexo, no encontramos excesivas diferencias entre ambos departamentos de salud. Si encontramos una diferencia entre sexos, mientras la rivastigmina es el fármaco más usado en hombres (en ambos hospitales), la memantina es el fármaco más usado en mujeres. Podríamos explicarlo por la mayor esperanza de vida de la

## DISCUSIÓN

mujer, la memantina es un fármaco para etapas más avanzadas de la enfermedad. Por otras comorbilidades, los hombres mueren antes (recordemos que la EA es de las pocas enfermedades donde hay más prevalencia en mujeres que en hombres) por lo que se les pauta fármacos en fases más tempranas de la enfermedad, como son los anticolinesterásicos.

### **5.1.5 Prescripción por fármaco y grupos de edades**

En este apartado realizamos un análisis por separado de cada fármaco y los grupos de edad en los que se prescribe. El donepezilo mantiene su tendencia de prescripción a edades tempranas durante todo el estudio, pero sube ligeramente en edades avanzadas (grupo de edad entre 81 y 90 años) (**fig. 4.7**). Como ya hemos comentado, la doble terapia memantina-donepezilo propicia este aumento del consumo en pacientes más ancianos, por tanto, en fases de la enfermedad más avanzada.

La galantamina sufre un descenso importante en los grupos de edad mayores (**fig. 4.8**). Si bien hasta los 75 años las gráficas muestran unas rectas muy similares, es a partir de los 75 años cuando el consumo se ve reducido drásticamente. Hipotetizamos que a partir de los 80 años, donde se ve el descenso más pronunciado, la fase de la enfermedad es más severa, la galantamina está indicada en fases tempranas de la EA.

La rivastigmina y su peculiar forma de administración subcutánea resisten el envite de la edad (**fig. 4.9**) y vemos como sufre una ligera reducción en pacientes más ancianos (de 81 a 85 años). La comodidad del parche transdérmico y la reducción de efectos gastrointestinales juega un papel decisivo a la hora de su prescripción.

La **figura 4.11** muestra la prescripción de la memantina según el grupo de edad. Al ser un fármaco indicado en fases moderadas y severas de la EA, vemos que su uso está más extendido en pacientes más ancianos, sobre todo a partir de 76 años.

#### **5.1.6 Comparativa entre prescripción por fármaco y grupo de edad**

La tendencia de prescripción según el grupo de edad es muy parecida en ambos departamentos de salud (**fig. 4.12**). Mientras a edades inferiores a los 80 años existe una pequeña diferencia entre ambos, en el Hospital Clínico se prescribe más rivastigmina, seguida de donepezilo y memantina, en el Hospital de la Ribera se prescribe más donepezilo, seguido de memantina y rivastigmina. En ambos hospitales a partir de los 81 años se extiende el uso de la memantina como principal fármaco contra la demencia, manteniéndose esta tendencia hasta los pacientes más ancianos (más de 91 años). Podemos añadir que entre los pacientes más ancianos, el donepezilo sigue siendo el anticolinesterásico más utilizado, a edades más avanzadas se requiere la terapia combinada (memantina más donepezilo).

En nonagenarios encontramos una disminución brusca de la prescripción de medicamentos contra la demencia. Por una parte, la esperanza de vida hace que sean edades con mucha menor prevalencia de pacientes. Además en estos pacientes de más de 91 años la comorbilidad puede obligar a la retirada de fármacos o a un menor uso.

Para concluir el análisis de este apartado, podemos decir que la edad del paciente suele coincidir con la fase de la enfermedad, por tanto, los fármacos son prescritos según ficha técnica, es decir, anticolinesterásicos en fases tempranas de la enfermedad, en EA leve a moderada y la memantina en fases avanzadas, en EA moderada a grave.

## DISCUSIÓN

### **5.1.7 Limitaciones del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina 2”**

El programa SIA-GAIA no distingue entre diferentes tipos de demencia. Asumimos que la enfermedad de Alzheimer es la demencia más común. Según ficha técnica de los fármacos estudiados, donepezilo, rivastigmina y galantamina están indicados en EA leve a moderada, mientras que memantina está indicada en EA moderada a grave. *Ginkgo biloba* es el único principio activo de nuestro estudio que está indicado en deterioro cognitivo y podría pautarse a un enfermo con una demencia diagnosticada diferente a EA o incluso en tratamientos no específicos de la demencia (CIMA-AEMPS, 2019). Por tanto, asumimos que todos los pacientes que han sido prescritos con donepezilo, rivastigmina, galantamina y memantina sufren EA. No se contemplan los pacientes que acuden a médicos privados o de regímenes especiales como la Mutualidad General de Funcionarios Civiles del Estado (MUFACE) o la Mutualidad General Judicial (MUGEJU).

Si bien podemos dar datos precisos de prevalencia en hombres y mujeres en los dos departamentos de salud, cuando hablamos de consumo por fármaco, el resultado se da en número de prescripciones. No podemos hablar de pacientes totales porque no se dispone de información sobre el consumo combinado de fármacos. Un paciente puede tomar una combinación de dos fármacos (en concreto de memantina y un anticolinesterásico).

No todos los pacientes diagnosticados de demencia reciben tratamiento específico. A pesar de esto, el hecho de que los fármacos para la demencia sean de diagnóstico hospitalario (es decir, requieren prescripción por parte de un especialista: neurólogo, geriatra o psiquiatra) nos confirma que la indicación es precisa. Ahora bien, permítanme acogerme al refranero español: “Sí son todos los

que están, pero no están todos los que son". Si bien el diagnóstico de los pacientes que están en nuestro estudio es preciso, una nota de prensa reciente de la Sociedad Española de Neurología estima entre un 30 y 40 % de pacientes con EA no diagnosticada en España (SEN.es 2018). Una gran cantidad de casos de EA no llegan a las consultas especializadas de nuestros hospitales. De ahí la importancia de programas de sensibilización y de formación continuada para los profesionales de atención primaria, para que puedan derivar a nuestros mayores a la consulta especializada.



## **5.2 Discusión del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

### **5.2.1 Justificación del estudio**

El ensayo clínico es la “unidad de medida” de la evidencia científica. Los niveles de evidencia más altos están basados en los metanálisis, en las revisiones científicas y en los ensayos clínicos aleatorizados.

Hemos realizado una revisión bibliográfica en varias bases de datos sobre EECC realizados en España para conocer la situación de la investigación en fases clínicas en EA en nuestro país. La base de datos [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) no es de registro obligatorio, pero el número de entradas a nivel mundial la convierte en el registro de referencia para todos los promotores e investigadores.

Las bases de datos REec y EudraCT son de registro obligatorio en nuestro país para todos aquellos ensayos clínicos con medicamentos, dispositivos médicos y técnicas quirúrgicas, así como para los estudios observacionales. Después de haber analizado cuál es el diseño ideal en los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer (capítulo 1.4.17), compararemos con los resultados obtenidos para obtener un análisis DAFO de la investigación clínica en EA en España.

Encuadraremos nuestro estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2” en los resultados obtenidos para comprobar si el diseño ha sido correcto, o aquello que debemos mejorar de cara al estudio de extensión.

## DISCUSIÓN

### 5.2.2 Fase de ensayos clínicos

Lo primero que nos llama la atención en los resultados es el menor porcentaje de estudios en fase I en España, tan solo un 4,38 % frente al 19,66% en el mundo (**tabla 4.2**). Los ensayos clínicos en fase I suelen ser aquellos más complicados de realizar, ya que se requiere una alta especialización de los centros que realizan estos ensayos clínicos, tanto por las características del centro, como por la complejidad del procesado de las muestras (farmacocinética, concentración de fármaco en sangre, líquido cefalorraquídeo, plasma, etc.).

Por otra parte, vemos un alto porcentaje de ensayos clínicos fase I en el mundo. Esto se explica por la gran cantidad de moléculas que han quedado en el camino y no han llegado a fases posteriores.

Existe un porcentaje muy pequeño de ensayos en fase IV tanto en España como en el mundo, ya que solo cinco moléculas han logrado la aprobación como fármacos en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Por tanto, al no haber aprobaciones de nuevos fármacos, tampoco se pueden registrar ensayos clínicos en fase IV. De hecho, en España, los únicos tres ensayos realizados en fase IV han sido con galantamina, rivastigmina y memantina (con un ensayo cada uno).

El índice de estudios observacionales en España es bajo frente a los del mundo, un 10% frente a un 17%. Estas cifras deben ser puestas en cuarentena, ya que se estima que una gran parte de los estudios observacionales no son registrados (Dal-Ré, R. 2015) a pesar de las obligaciones impuestas a los investigadores por la Declaración de Helsinki (Wma.net. 2019) y por los organismos reguladores de cada país.

Otro dato que nos llama la atención es la diferencia de “Otros” entre España y el resto del mundo (recordemos que en este apartado incluimos estudios clínicos cuyo tratamiento no es un fármaco, pudiendo ser un producto nutricional,

soporte psicológico, ejercicio físico, estudio de biomarcadores, etc.). La no obligación de registrar aquellos estudios clínicos que no son de medicamentos crea un vacío importante a la hora de buscarlos. Concretamente en España, solo desde la puesta en marcha del registro REec en España y la aplicación del Real 1090/2015, se pueden registrar voluntariamente cualquier tipo de investigación clínica que no sea ensayo clínico. Por tanto, todos los estudios anteriores a esta fecha podían ser registrados en [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) o en la base de datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Organización Mundial de la Salud. 2019), pero no en la base de datos de la AEMPS o en EudraCT.

### **5.2.3 Ámbito nacional/internacional**

Consideramos ensayo clínico de ámbito nacional aquel que solo se ha realizado en centros del estado español. Más de un 80% de los EECC realizados en España en EA son internacionales (**fig. 4.15**). El resto de estudios, un total de 26, sí han sido desarrollados íntegramente en España.

El único ensayo internacional cuyo promotor ha sido una empresa española es el estudio AMBAR de Grifols, que ha sido realizado en otros países con resultados esperanzadores (Boada, M. 2017).

De la **figura 4.16.a** podemos interpretar que España está entre los países europeos punteros en cuanto a número de ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer, ya que en número total de ensayos clínicos en EA solo está por detrás de Francia, Inglaterra y Alemania. En la **figura 4.16.b** podemos observar que la mayoría de los estudios clínicos realizados en España también se realizan en el resto de los países europeos, sobretodo en Alemania, Francia, Reino Unido e Italia en menor medida.

## DISCUSIÓN

### **5.2.4 Ensayos clínicos multicéntricos/unicéntricos**

Definimos ensayo clínico multicéntrico como aquel realizado en más de un centro de investigación, llevado a cabo por más de un investigador de acuerdo con un único protocolo.

En España, más del 82% de los ensayos clínicos son multicéntricos (**fig. 4.17**). Estos estudios permiten estudiar una población más grande y disminuir el sesgo en los resultados. Casi un 22% del total de EECC en los que participa España se realizan en más de 10 centros dentro de nuestro territorio nacional, lo que permite un alto poder de reclutamiento, la sinergia entre diferentes investigadores y que una mayor parte de población española pueda acceder a los ensayos clínicos. Los hospitales de referencia suelen ser aquellos que acogen mayor cantidad de ensayos clínicos. Es una práctica habitual en nuestro sistema de salud, el derivar pacientes a hospitales donde se realiza un ensayo clínico determinado que pueda beneficiar al paciente. El contar con un mayor número de centros repartidos por toda la geografía, permite un mayor acceso de los pacientes a los ensayos clínicos.

De los 25 estudios, 14 son estudios nacionales únicamente unicéntricos, y los otros 11 son estudios internacionales pero que en España solo han abierto un centro de investigación.

La **figura 4.18** muestra los resultados de centros participantes en todo el mundo de aquellos EECC en los que participa España. En más de la mitad de los estudios en los que participa España, el número de centros es superior a 50, lo que nos indica que son ensayos clínicos altamente reclutadores y el tamaño muestral es grande, normalmente de la industria, que es la que puede realizar una inversión de esa magnitud.

Los únicos 17 estudios unicéntricos fueron los 14 estudios nacionales ya referidos en el apartado anterior y otros tres estudios cuyos promotores son internacionales (AB Science, Novartis y Janssen, pero solo han abierto un centro en España). De cara a la realización de ensayos clínicos, no es habitual que un promotor abra un solo centro en un país. El Real Decreto 1090 de 2015 de ensayos clínicos facilita los estudios multicéntricos ya que el promotor necesita la autorización de un solo comité ético de referencia, en contraposición a la anterior normativa de EECC donde se exigía la aprobación del comité ético de todos los centros donde se realizara el estudio (Real Decreto 1090/2015).

#### **5.2.5 Situación actual de ensayos clínicos (abiertos/cerrados)**

La información del estado de los ensayos clínicos (abierto/cerrado) debe ser proporcionada por el promotor a los diferentes organismos que registran los ensayos clínicos. En la **figura 4.19** podemos ver que solo un 36,5% de los estudios registrados en España siguen abiertos. Los ensayos clínicos en EA han dado malos resultados hasta el momento, prueba de ello es que solo cinco fármacos han logrado la indicación. Muchos EECC han sido cerrados por falta de eficacia o por toxicidad. Las claves para este fracaso las dábamos en el *apartado 1.14.8*.

En la **figura 4.20** vemos que de los 50 ensayos clínicos abiertos en septiembre de 2018, solo 2 están en fase I, lo que viene a confirmar el bajo número de estos ensayos en nuestro país, mientras la mayoría están en fase II y III. Remitiéndonos al *apartado 4.2.1*, los ensayos clínicos en fase I son complicados de llevar a cabo, requiriendo de unidades especializadas de fase I. La mayoría de ensayos clínicos en España están en fase II y III. En fase IV no hay ensayos clínicos porque esta es una fase para fármacos recientemente autorizados, el último fue la memantina (2003).

## DISCUSIÓN

### **5.2.6 Ensayos clínicos según la etapa de la enfermedad de Alzheimer**

Existen varias escalas para monitorizar la progresión de la EA, una de las más usadas es la escala *Clinical Dementia Rating* (CDR) (Morris, J. 1993). Esta escala diferencia 6 categorías cognitivas y conductuales, orientación, juicio y solución de problemas, actividades sociales, comportamiento en el hogar y cuidado personal. Las puntuaciones van de 0 a 3, siendo el 3 el grado de demencia más grave.

La escala Global de Deterioro (*Global Deterioration Scale*) (Reisberg, B. 1982) se divide en siete categorías, siendo las tres primeras etapas de pre-demencia. Durante las etapas 4 y 5 el paciente aún conserva una cierta autonomía, requiriendo de cuidados especiales en las últimas etapas (demencia severa). Para alcanzar mayor precisión en la categorización de la enfermedad, disponemos de otras escalas con mayor sensibilidad, como es la Escala de estadificación de la evaluación funcional (*Functional Assessment Staging*, FAST) (Reisberg, B. 1988). Divide la evolución de la enfermedad en 7 estadios tal y como hace la GDS, pero a su vez se subdivide en un total de 16 subestadios. Posee una mayor sensibilidad en las fases más avanzadas de la enfermedad.

Nos ha resultado muy difícil encuadrar los ensayos clínicos en una de las clasificaciones usadas habitualmente, CDR, GDS o FAST. Los datos aportados por los promotores en la descripción de cada estudio clínico nos ha permitido crear una clasificación donde diferenciamos estas fases: fase prodrómica, enfermedad temprana, leve, leve-moderada, moderada, severa o todas las fases. Las fases más tempranas de la enfermedad de Alzheimer son aquellas donde es más fácil modificar el curso de la enfermedad, cuando aún no es tarde para revertir el daño, pero también son menos los pacientes en los que se detecta la enfermedad. Un 37,95% de los ensayos clínicos en España están indicados en pacientes en fase

prodrómica, temprana o leve. La mayor parte de los estudios (52,55%) están indicados para cualquier fase de la enfermedad (**fig. 4.21**).

Se producen múltiples intentos fallidos en los EECC en enfermedad de Alzheimer sobre todo debido a que los pacientes incluidos en estos EECC están en fases avanzadas de la enfermedad y no se benefician de una posible intervención farmacológica. Sería útil servirse de una herramienta como es el diagnóstico precoz en fases prodrómicas, diagnóstico basado en marcadores biológicos, incluso antes de que se manifiesten los primeros síntomas clínicos (Dubois, B. 2016). Sería interesante la realización de estudios costo-efectivos de programas de cribado en EA familiar, mediante la detección de genes APP, PSEN1 y PSEN2, además del genotipado de ApoE4 en la EA de aparición tardía. Parece imprescindible la validación de biomarcadores periféricos de inflamación y estrés oxidativo, para disminuir los costes de diagnóstico y desplazar a otros biomarcadores más caros e invasivos.

### **5.2.7 Promotor de ensayo clínico: académico vs. industria**

En un estudio realizado en más de 177 países y donde se analizaron casi 120.000 ensayos clínicos en el mundo durante el período 2006-2013, se llegó a la conclusión de que el 30% de los ensayos clínicos eran de la industria, mientras el 69% eran académicos, si bien es cierto que los porcentajes varían mucho de unas regiones a otras y según el nivel socio-económico de cada región. Mientras en Europa del Este los ensayos clínicos de la industria superan el 90%, en la Europa septentrional representan un 67%. En España los ensayos promovidos por la industria farmacéutica representan el 73% del total (Atal, I. 2015). Estos datos coinciden con los de la Comisión Europea, que estima que cada año se presentan alrededor de 4.400 solicitudes de autorización de ensayos clínicos con

## DISCUSIÓN

medicamentos, de los cuales un 79% son promovidos por la industria y un 21% provienen de instituciones académicas (Fundaciogrifols.org. 2019). Este mismo informe dice que en España, durante el período 2007-2012, se ha mantenido el número de ensayos clínicos promovidos por la industria, pero ha crecido el número de ensayos clínicos promovidos por la academia desde el 23% al 27% del total de los EECC autorizados.

Según nuestro estudio (**fig. 4.22**), un 78% de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España son promovidos por la industria, un 16% son estudios académicos, y un 6% son mixtos, es decir, los estudios académicos están cinco puntos por debajo de los ensayos clínicos académicos en España en otras indicaciones.

Varios autores coinciden al apostar por la asociación entre la industria, las empresas biotecnológicas y la academia, teniendo en cuenta un amplio espectro de *targets* donde poder modificar la enfermedad, con igual énfasis en el reposicionamiento de fármacos (es decir, aquellos usados en otras indicaciones) como en la búsqueda de nuevas moléculas (Khan, A. 2017; Sperling, R. 2011b). La sinergia entre ambos es imprescindible, mientras la industria tiene los fármacos y la financiación, las instituciones sanitarias tienen los investigadores clínicos y los pacientes y en la universidad encontramos el futuro talento de la investigación.

La **figura 4.23** muestra los promotores de ensayos clínicos en EA. Los primeros puestos están copados por las grandes farmacéuticas, mientras las *biotech* o las instituciones académicas intentan abrirse paso en la investigación. Se ha producido un cambio de paradigma en la investigación en los últimos años. Si el paradigma clásico de la investigación consistía en un gran laboratorio farmacéutico investigando en todas las fases del proceso, desde la búsqueda e

identificación de moléculas hasta los ensayos clínicos post-autorización, el nuevo paradigma sitúa a la academia y las *biotech* (muchas veces también participadas por instituciones públicas y universidades) en un nuevo rol en las etapas de *Discovery*, las etapas iniciales de búsqueda e identificación de nuevos fármacos y muchas veces el papel de estas *biotech* se extiende hasta los estudios preclínicos e incluso las primeras fases clínicas en humanos (**fig. 5.1**)

El flujo de la información y la sinergia entre diferentes entidades da lugar al nuevo paradigma definido por primera vez en 2008 como *Open Innovation* (Faems, D. 2008)

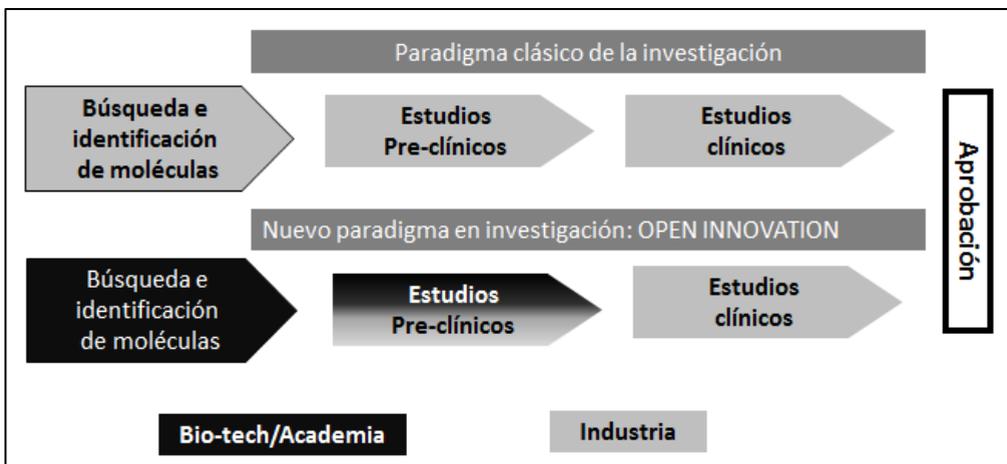


Figura 5.1. Nuevo paradigma de la investigación bioclínica según el concepto de *Open Innovation*

### 5.2.8 Ensayos clínicos según duración del estudio

La duración promedio de los 137 estudios analizados ha sido de 59,03 meses. Tal y como hemos visto en la **figura 4.24**, la mayoría de ensayos (55%) tienen una

## DISCUSIÓN

duración menor de un año, por tanto podríamos considerar un tiempo suficiente para ver resultados en los pacientes.

La **figura 4.24** muestra la duración de los ensayos clínicos en EA en España. Este es uno de los puntos críticos del diseño del ensayo clínico. Si bien una duración corta del estudio clínico no llega a producir una intervención efectiva en el paciente, la duración excesiva también puede suponer un sesgo en los resultados, ya que aumenta el número de abandonos, bien por *exitus* o por toxicidades (Miller, G. 2012). Si los objetivos del estudio son neurológicos, se corre el riesgo de que el paciente esté en una fase de la enfermedad con un deterioro cognitivo tan grande que no se pueda ponderar bien la progresión de la demencia.

La duración de los ensayos clínicos va a influir en los test neurológicos utilizados. Estos han de ser analizados desde dos puntos de vista, en comparación con el grupo control (placebo), viendo la diferencia de ambos grupos y desde el punto de vista intragrupal. Los resultados intragrupo son importantes, porque en los ensayos clínicos largos el objetivo puede ser mantener la puntuación estable a lo largo de todo el estudio, sin que se produzca una pérdida significativa. Es decir, en un ensayo clínico de corta duración, seguramente las valoraciones neurológicas de una intervención (un fármaco, hábitos de vida saludables, tratamiento psicológico, etc.) deben resultar positivas para que consideremos el efecto como favorable. Sin embargo, en un ensayo clínico a largo plazo seguramente todos los grupos tratados (experimental y control) van a sufrir un deterioro cognitivo debido a la evolución natural de la enfermedad. Por eso, aunque los test cognitivos y funcionales del grupo en tratamiento activo muestren cifras negativas, estas deben compararse con las del grupo control para poder valorarse.

### **5.2.9 Ensayos clínicos iniciados por año**

La **figura 4.25** muestra el número de ensayos clínicos en EA iniciados en España cada año. Hasta 2004 la Comunidad Europea no obliga a registrar todos los ensayos clínicos y estudios observacionales en la base de datos EudraCT. En España el registro de investigaciones clínicas sin medicamentos ni dispositivos médicos y que no sean estudios observacionales es voluntario (Real Decreto 1090/2015). Uno de los retos que plantea el Real Decreto de ensayos clínicos de 2015 es acortar los tiempos de aprobación de los ensayos clínicos para facilitar a los promotores la implantación de sus ensayos clínicos en nuestro país (Real Decreto 1090/2015).

### **5.2.10 Ensayos clínicos según previsión de reclutamiento**

Los centros que realizan los ensayos clínicos estiman un compromiso de pacientes según las características de la población y si existe algún otro ensayo clínico competitivo en marcha. Disponemos del tamaño muestral calculado por el promotor para todo el mundo, no solo para España. En la **figura 4.26** vemos como un 18% de los EECC en EA en España precisan de un tamaño muestral menor o igual a 100 pacientes. Estos son los ensayos clínicos en fases más tempranas, los ensayos en fases I son de cohortes, normalmente 3+3, es decir, para la búsqueda de dosis y seguridad, han de completarse cohortes de solo tres pacientes para pasar a la siguiente. Esto hace que sean estudios con poco pacientes. Los estudios académicos suelen coincidir con los unicéntricos y suelen ser los menos reclutadores. El grupo de ensayos que más predomina en España son los que tienen un tamaño muestral de 201 a 500 pacientes (26,28%). Además, un 66% de los estudios tienen una previsión de reclutamiento de más de 200 pacientes. Estos datos respaldan nuestra hipótesis de que España participa en ensayos clínicos

## DISCUSIÓN

grandes de EA. En cualquier otra indicación, afirmaríamos sin balbucear que “España participa en estudios pivotaes”, es decir, aquellos que logran la indicación del fármaco. Por desgracia, hablar de ensayo clínico pivotal en enfermedad de Alzheimer es a día de hoy una quimera. Ninguna molécula se encuentra en ese punto de la investigación.

### **5.2.11 Ensayos clínicos según intervención**

Recordemos brevemente lo visto en la introducción, los EECC pueden ser intervencionales (entendiéndose intervención como un medicamento, dispositivo médico, procedimiento quirúrgico, vacuna, dieta, ejercicio físico, cambio de hábitos, soporte psicológico, etc.) u observacional (el investigador no provoca ninguna intervención sobre el paciente, se limita a observar los cambios producidos en este a causa de una variable independiente del estudio).

La **figura 4.27** muestra como el 89,78% de los estudios clínicos registrados en EA en España son intervencionales (123 EECC) mientras el resto (14) son observacionales. En el apartado 5.2.12 analizaremos el tipo de intervención.

### **5.2.12 Ensayos clínicos randomizados/no randomizados**

La **figura 4.28** muestra que de los 123 estudios clínicos intervencionales, 80 son randomizados (o aleatorizados) y 23 son no randomizados (no aleatorizados). Para cumplir el estándar de calidad de los EECC en EA, estos deben ser aleatorizados, ya que disminuye el sesgo y dota de mayor evidencia científica a la investigación en curso. La **figura 4.29** desglosa los ensayos clínicos aleatorizados en EA en España según la naturaleza del comparador. De los 80 estudios, 75 son comparados con placebo, 2 son comparados con donepezilo y 3 son comparados con donepezilo y placebo. El incluir una rama placebo en los estudios clínicos es

otro de los objetivos de los EECC en EA. Esto dificulta los procedimientos del estudio, no solo en el enmascaramiento de la enfermedad, también en el análisis de datos, pero ofrece ventajas innumerables a la hora de valorar e interpretar los resultados.

### **5.2.13 Ensayos clínicos según tipo de tratamiento**

Volvamos a la **figura 4.27**, de 137 ensayos clínicos totales en España, en 123 de ellos se realiza algún tipo de intervención. Estudiaremos en la **figura 4.30** el tipo de intervención. La mayoría de ellos (109 estudios) corresponden a intervención con fármaco, seguido de estudios con biomarcadores, estudios nutricionales, soporte psicológico o estilo de vida.

Hemos analizado todos los fármacos usados en los 109 ensayos clínicos donde la intervención es un medicamento.

En la **figura 4.31** podemos ver los fármacos en investigación en EA en España según la clasificación de las moléculas y el número de ensayos realizados. Definimos pequeña molécula como aquel fármaco de bajo peso molecular, entre 550-900 daltons, de estructura simple y bien definida, por tanto, de fácil producción industrial, con una fácil absorción vía oral (Alzforum.org. 2018). En contra, los anticuerpos y las inmunoglobulinas son estructuras de elevado peso molecular, más complejas en su síntesis y que por tamaño solo suelen admitir la vía parenteral (normalmente vía intravenosa o subcutánea). Los polipéptidos son moléculas de entre 10-100 proteínas. Los inhibidores tirosina quinasa (TKI) son sustancias que impiden la acción de las enzimas llamadas tirosina quinasas, estas forman parte de muchas funciones de la célula, incluido la señalización celular, el crecimiento y la multiplicación. Son moléculas de bajo peso molecular, por lo que su ventaja es que pueden ser administradas vía oral. En el caso de anticuerpos o

## DISCUSIÓN

TKI se habla de terapias dirigidas. Encontramos 36 pequeñas moléculas en un total de 67 EECC, 17 anticuerpos monoclonales en 38 EECC, 2 polipéptidos en 2 EECC y 2 inhibidores tirosina quinasa en otros 2 estudios (**fig. 4.31**). Por tanto, podemos concluir que las pequeñas moléculas siguen siendo el objetivo en los ensayos clínicos en EA aunque cada vez adquieren más fuerza los anticuerpos monoclonales como ya pasa en la investigación en otras patologías como son el cáncer, las enfermedades inflamatorias del aparato digestivo o la esclerosis múltiple.

Los mecanismos de acción de los fármacos usados en EECC en enfermedad de Alzheimer en España son muy diversos (**fig. 4.32**). Mientras la mayoría de ellos están dirigidos contra  $\beta$ A (histórico *target* de los ensayos clínicos en EA), encontramos inhibidores de la recaptación de serotonina, inhibidores BACE, inmunoterapia activa, antipsicóticos, agonistas colinérgicos, entre otros. Pocos neuroprotectores han llegado al estatus de ensayo clínico en nuestro país. Encontramos dos explicaciones para esto, muchos de los neuroprotectores fueron probados en ensayos clínicos y descartados antes del año 2002, y muchos de estos neuroprotectores no están definidos como medicamento por la farmacopea, pudiendo tratarse de complementos alimentarios (como es el caso de nuestra molécula en estudio, genisteína). Numerosos grupos terapéuticos han presentado su candidatura a convertirse en posible tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, incluyendo estatinas, antidiabéticos, neuroprotectores, etc.; moléculas que en fases de estudio preclínicas abrían cierta esperanza, pero se daban de bruces con la realidad de la investigación traslacional.

La **figura 4.33** muestra las moléculas más usadas en los EECC en enfermedad de Alzheimer en nuestro país, dándonos datos de ensayos clínicos abiertos y cerrados. Podemos ver aquellas moléculas que se quedaron en el camino y ya

cerraron su periplo investigacional, como gantenerumab, lanabecestat o pimavanserin, parados por falta de eficacia. Por el contrario, todos los EECC con moléculas como TRX0237, bapineuzumab o idalopirdine siguen abiertos (o al menos no se ha registrado el cierre en las bases de datos estudiados).

De todas formas, no olvidemos dos factores claves para conseguir el éxito, el reposicionamiento de fármacos y la combinación de estos. La santabárbara terapéutica está llena. Acumulamos moléculas dirigidas contra  $\beta$ A, entre ellas inhibidores BACE dirigidas a  $\beta$ -secretasas y  $\gamma$ -secretasas, fármacos que evitan el agregamiento de los péptidos amiloides en placas, otros que inactivan la producción de  $\beta$ A, otros inhiben el procesamiento de APP. TAU también se ha convertido en target para combatir la enfermedad. La inmunoterapia activa, los agentes nicotínicos, los neuroprotectores, etc. El reposicionamiento de fármacos produce un ahorro de tiempo y dinero en los estudios de seguridad y reduce los *timelines* para el desarrollo de la molécula. Fármacos que hoy día están descartados en un futuro pueden ser de gran utilidad.

### **5.2.14 Ensayos clínicos según objetivos primarios y secundarios**

En el protocolo de un estudio clínico, el objetivo primario es el más importante para evaluar el efecto de una intervención o tratamiento. La mayoría de los estudios clínicos tienen un solo objetivo primario, pero algunos tienen más de uno. Los objetivos secundarios son medidas de resultados que no son tan importantes como el objetivo primario para evaluar el efecto de una intervención, pero siguen siendo de interés. La mayoría de los estudios clínicos tienen más de un objetivo secundario.

## DISCUSIÓN

Prestaremos especial importancia a este punto, ya que deseamos saber si el diseño del ensayo clínico *“Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína”* es el más adecuado. Los objetivos primarios y secundarios más utilizados en ensayos clínicos en EA son neurológicos (**fig. 4.34**). Estos son una herramienta eficaz para medir el declive cognitivo en los pacientes de Alzheimer. Son cómodos, rápidos, baratos y fiables y además están adaptados a muchos idiomas. Los siguientes objetivos que encontramos entre los más usados son los de seguridad. Recordemos la tabla 4.2, el porcentaje de ensayos en fase temprana en EA en España era de 4,38% de ensayos clínicos en fase I y 32,85% de estudios en fase II. Si bien es cierto que no se han realizado muchos EECC en fase I en España, sí ha habido un número alto de ensayos en fase II. Estos ensayos como ya habíamos dicho, tienen como uno de sus principales objetivos determinar la seguridad.

La tercera posición la ocupan los biomarcadores en LCR. Los biomarcadores más usados son  $\beta$ -amiloide y proteína TAU (Prestia, A. 2015). Existe una relación demostrada entre biomarcadores en LCR y cognición (Fajan, A. 2007). En su contra podemos decir que su determinación es el proceso más invasivo de estos ensayos clínicos, ya que precisa de una punción lumbar. Los biomarcadores por neuroimagen ocupan la cuarta posición. Son pruebas que buscan lesiones neuronales o procesos neurodegenerativos, pero suponen un coste adicional importante. Los más usados son la RM, PET y SPECT.

Otros tipos de objetivos que encontramos son mejora en la agitación (comorbilidad asociada a la enfermedad) o marcadores de inflamación y estrés oxidativo en sangre y otros tejidos periféricos (“Marcadores/BQ”).

Los *endpoints* neurológicos son analizados en la **figura 4.35**. Los dos primeros son ADAS-cog y MMSE, el primero el más usado a nivel mundial como objetivo primario (Schneider, L. 2009b). Les sigue la clasificación CDR, el ADCS-ADL y el NPI. En nuestro estudio clínico, hemos usado tres de los cinco test más usados en EECC en España (ADAS-cog, MMSE y NPI).

Sería interesante poder combinar objetivos primarios y secundarios para abarcar una visión de la enfermedad más amplia, no solo desde el punto de vista neurológico (test cognitivos, funcionales y conductuales), sino también desde el punto de vista fisiopatológico (biomarcadores en LCR y la neuroimagen para valorar el daño cerebral y la presencia de placas seniles). Además la identificación de nuevos biomarcadores en fluidos periféricos (sangre, orina, plasma) permitiría un diagnóstico más rápido, económico y reduciría la necesidad de procedimientos más invasivos como la punción lumbar. El aumento de la prevalencia en países en desarrollo sería un motivo más que importante para el abaratamiento de los costes en la detección de la EA.

### **5.2.15 Difusión de los resultados (publicados/no publicados)**

Según el RD 1090/2015 *de Ley de garantías y uso racional del medicamento*, el promotor está obligado a publicar los resultados del ensayo clínico, sean positivos o no (Real Decreto 1090/2015). Además, tal y como hablábamos en el punto 4.2.2.1 sobre la obligatoriedad de registrar los ensayos clínicos, la Declaración de Helsinki también obliga a publicar los resultados y difundir los ensayos clínicos.

Solo 33 de los 81 ensayos clínicos finalizados en España han sido publicados (**fig. 4.36**) Confiamos en la buena fe del promotor, y suponemos que los resultados habrán sido publicados en revistas de alto impacto. Ello no exime al promotor de hacer públicos los resultados a través de las bases de datos consultadas.

## DISCUSIÓN

### **5.2.16 Valoración global del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

Pasemos a realizar un breve análisis DAFO del estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España.

El no participar en más ensayos clínicos fase I es una debilidad de la investigación española. Además, la poca cantidad de ensayos clínicos nacionales, así como académicos, confirman que la EA aún está lejos en investigación en España de otras patologías, como cáncer o VIH.

Los pobres resultados obtenidos en los ensayos clínicos de fármacos que modifican la EA son una amenaza para la investigación en EA y las futuras inversiones por parte de las grandes farmacéuticas y de los estados, pero esto es un hecho común no solo en nuestro país, sino en todo el planeta. El envejecimiento de la población española supone otra amenaza por los altos costes económicos personales que supondrá la enfermedad dentro de unos años. La situación de la investigación en España con la precariedad laboral de los investigadores también se convierte en una amenaza.

El descubrimiento y mejora de nuevas técnicas diagnósticas, con la aparición de biomarcadores más sencillos y económicos de medir brinda nuevas oportunidades en la lucha contra la EA. La nueva visión en farmacoterapia, derivada de un diagnóstico temprano, se encamina a la obtención de fármacos que prevengan la enfermedad.

Dentro de las fortalezas de los EECC en AE podemos decir que España se sitúa junto a Francia, Inglaterra y Alemania en cabeza en la investigación, tanto en número de ensayos como en la importancia de estos. Este dato lo podemos

confirmar viendo los promotores de ensayos clínicos en España (principales laboratorios) y el número de centros y estimación de pacientes en todo el mundo.

Con estos resultados, podemos decir que los ensayos clínicos en EA en España se acercan en cuanto a metodología al estándar de calidad de los ensayos clínicos, es decir, ensayo clínico aleatorizado controlado con placebo (*randomized placebo-controlled trial*) (Millum, J. 2013).

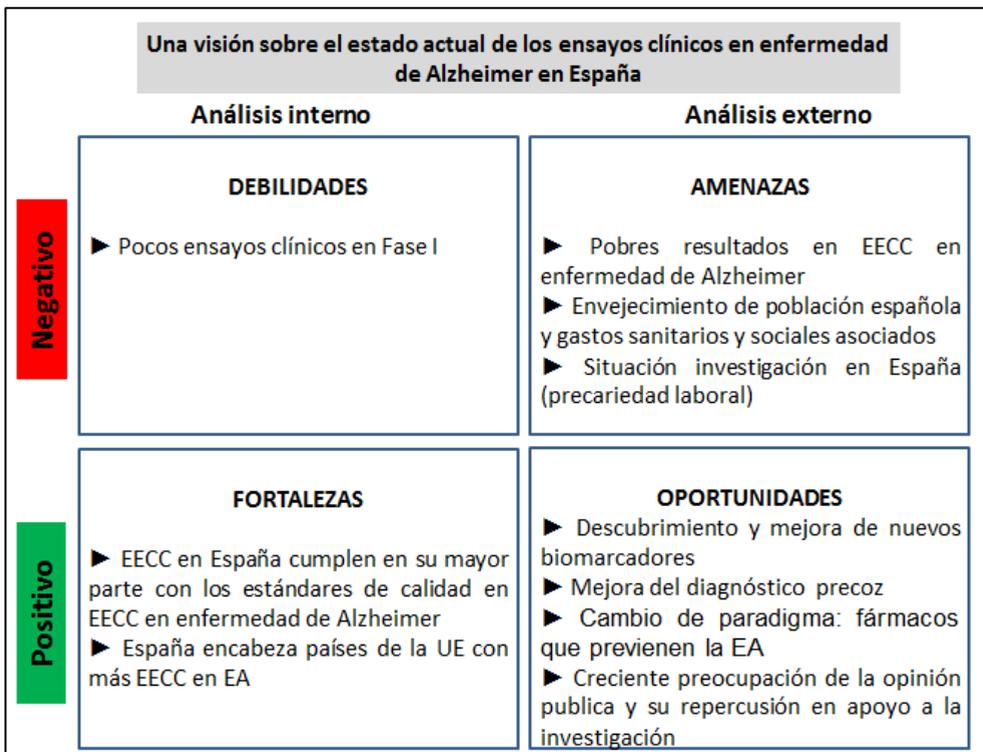


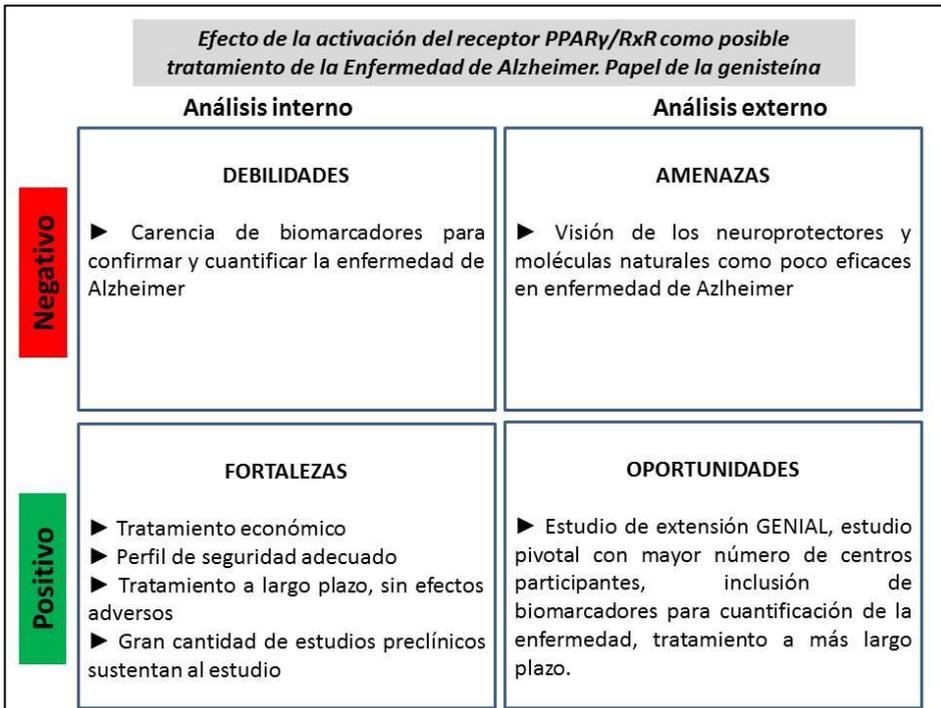
Figura 5.2. Análisis DAFO del estudio “Una visión sobre el estado actual los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”

## DISCUSIÓN

El estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEÍNA\_2” cumple con la mayor parte de las características del estándar de calidad de los EECC en enfermedad de Alzheimer. Se trata de un estudio doble ciego (para disminuir la subjetividad producida tanto en el paciente como en el investigador), aleatorizado y cuyo brazo control es el placebo. Entre sus debilidades se encuentra la carencia de otro biomarcador que confirmara la enfermedad de Alzheimer. Esto se ha subsanado en el estudio de extensión GENIAL, mediante la medición del  $\beta$ A cerebral por PET. La fortaleza del estudio GENISTEÍNA\_2 reside en que es un tratamiento muy económico, con un perfil de seguridad adecuado, que puede tomarse a largo plazo sin presentar efectos adversos y que tiene un gran número de estudios preclínicos que lo sustentan, además de evidencia científica en cuanto a otros compuestos con isoflavonas o derivados de la soja no solo en deterioro cognitivo, sino también en otras patologías cardiovasculares y metabólicas.

En cuanto a las amenazas, como hemos comprobado en el estudio de “Tendencia de prescripción de fármacos para la demencia en el entorno clínico de nuestro estudio Genisteína\_2” los neuroprotectores como *Ginkgo biloba* pueden arrastrar entre los clínicos el “sambenito” de poco eficientes, debemos avanzar en estudios como este en humanos para darle una evidencia lo suficientemente fuerte para que esta molécula obtenga su posición dentro de la terapéutica.

La oportunidad que nos brinda los resultados de la presente tesis es el inicio del estudio de extensión GENIAL, donde se aumentará el número de centros participantes, el período de tratamiento y los biomarcadores usados en la detección y cuantificación de la enfermedad, no solo PET, también el uso de biomarcadores en tejidos periféricos de oxidación e inflamación.



**Figura 5.3** Análisis DAFO de estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína.

GENISTEINA\_2”

**5.2.17 Limitaciones del estudio “Una visión sobre el estado actual de los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

Para este estudio hemos realizado una búsqueda bibliográfica en tres bases de datos relativamente muy recientes. El Registro Español de estudios clínicos (REeC) contiene todos los ensayos clínicos realizados en España desde el 1 de Enero de 2013. La base de datos europea EudraCT recoge toda la información relativa a los ensayos clínicos realizados dentro de nuestro continente desde el 1 de Mayo de 2004. La base de datos más antigua en Clinicaltrials.gov que data de 1986. Al no pertenecer a un organismo del que nuestro país dependa

## DISCUSIÓN

jurídicamente no existe obligatoriedad en el registro en esta base de datos de los ensayos clínicos en España, aunque se ha consolidado como el buscador de ensayos clínicos por excelencia.

La obligatoriedad de registrar en la base de datos europea y española depende de la naturaleza del estudio clínico. Mientras están obligados todo tipo de ensayos clínicos con medicamentos, procedimientos quirúrgicos y estudios observacionales, el resto de estudios cuya intervención no sea farmacológica pueden no ser registrados. De cara a nuestro trabajo, pretendemos dar una visión de aquellos estudios clínicos más orientados al tratamiento farmacológico, por lo que creemos que la búsqueda ha sido correcta.

### **5.3 Discusión “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

#### **5.3.1 Justificación del estudio**

A pesar de no tener una etiología definida, sí podemos asegurar que todos aquellos factores que provocan muerte neuronal conducen a la demencia. El grupo de Investigación en Envejecimiento y Ejercicio Físico del profesor Viña propuso el uso concomitante de dos principios activos, genisteína y bexaroteno.

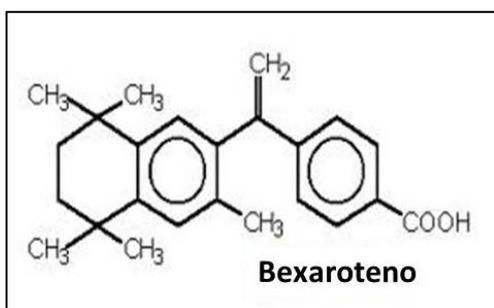
Como ya habíamos comentado en el capítulo dedicado a la genisteína, los estudios preclínicos demuestran que la genisteína mejora la cognición y aumenta la eliminación del  $\beta$ A del cerebro, consiguiendo reducir el estrés oxidativo y reduciendo el daño neuronal (Bagheri, M. 2011; Bagheri, M. 2012). La genisteína incrementa también la expresión de PPAR $\gamma$  (Valles, S. 2010) aumentando la expresión de apoE, que aumenta el aclaramiento cerebral del péptido  $\beta$ A, pudiendo contribuir al retraso de la enfermedad. Es importante recordar que ApoE4 es la isoforma de ApoE que supone el factor de riesgo genético más importante de EA. Por tanto, uno de los factores de exclusión del estudio es que el paciente no debe ser portador de ningún alelo  $\epsilon$ 4, ya que esto podría suponer un aumento en la producción de  $\beta$ A y también de la toxicidad por ApoE4.

Recordemos también los estudios preclínicos con la combinación de bexaroteno y genisteína (Bonet-Costa, V. 2014; Bonet-Costa, V. 2016). Estos trabajos demuestran que la genisteína, bexaroteno o ambos, disminuyen el número y tamaño de las placas seniles, disminuyen la inflamación de la glía y mejoran la

## DISCUSIÓN

cognición. Esto demuestra que genisteína causa un aumento de ApoE4 por parte de los astrocitos dependiente de PPAR $\gamma$  (Bonet-Costa, V. 2016).

El bexaroteno (**fig. 5.4**) es un agente retinoide que actúa uniéndose selectivamente a los receptores RXR (receptores retinoides X), del que existen tres subtipos: RXR $\alpha$ , RXR $\beta$  y RXR $\gamma$ . Estos receptores al ser activados actúan como cofactores de transcripción que regulan diversos procesos celulares, como la diferenciación y proliferación celular, la apoptosis o la sensibilidad a la insulina. La diversidad de subtipos de receptores RXR indica una amplia variedad de acciones biológicas más amplias que las asociadas a la activación de los RAR (receptores de ácido retinoico, como isotretinoína, etretinato, tazaroteno, etc.).



**Figura 5.4. Molécula de bexaroteno, agente retinoide agonista del receptor retinoide X (RXR)**

Se ha demostrado que el bexaroteno puede inhibir, en ensayos *in vitro*, el crecimiento de líneas celulares tumorales de origen hematopoyético y escamoso. También se ha demostrado que puede provocar la regresión tumoral en algunos modelos animales y previene la inducción tumoral en otros. El bexaroteno está indicado en linfoma cutáneo de células T, tratamiento de las manifestaciones cutáneas de pacientes en estadios avanzados de linfoma cutáneo de células T (LCCT) resistentes al menos a un tratamiento sistémico (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

El bexaroteno ha demostrado ser beneficioso para el tratamiento de la EA en modelos animales (Cramer, P. 2012). El bexaroteno se une al receptor activado de proliferación de los peroxisomas  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), que provoca la sobreexpresión de la apolipoproteína E. De esta manera, se aumenta el aclaramiento de  $\beta$ A soluble mediante su degradación (Jiang, Q. 2008), mejorando con ello la cognición del sujeto.

Ambos fármacos, de forma conjunta, han demostrado en modelos animales que reducen la patología amiloidea (Bonet-Costa, V. 2016). ¿Por qué entonces no hemos propuesto un ensayo clínico con ambas moléculas? El bexaroteno es un agente antineoplásico con reacciones adversas muy frecuentes, más de una décima parte de los pacientes las sufren. Las más importantes que se detectaron en los ensayos clínicos de esta molécula fueron: hiperlipemia (triglicéridos primariamente elevados) (74%), hipotiroidismo (29%), hipercolesterolemia (28%), cefalea (27%), leucopenia (20%), prurito (20%), astenia (19%), erupción (16%), dermatitis exfoliativa (15%) y dolor (12%) (*European Medicines Agency*, 2018).

Las reacciones adversas se clasifican según el intervalo de frecuencia: muy frecuentes ( $>1/10$ ), frecuentes ( $>1/100$ ,  $<1/10$ ), poco frecuentes ( $>1/1.000$ ,  $<1/100$ ), raras ( $>1/10.000$ ,  $<1/1.000$ ) y muy raras ( $<1/10.000$ ). Por ficha técnica (incluye las reacciones adversas en los ensayos clínicos y aquellas aparecidas en condiciones normales de uso, es decir, las reportadas durante el periodo de farmacovigilancia) las reacciones adversas muy frecuentes fueron leucopenia, hipotiroidismo, hiperlipemia e hipercolesterolemia y a nivel cutáneo dermatitis exfoliativa, prurito y erupción. (CIMA-AEMPS, 2019).

Un año antes del inicio de nuestro estudio, se realiza en Estados Unidos un estudio unicéntrico con bexaroteno en enfermedad de Alzheimer (Cummings, J. 2016). El ensayo BEAT-AD compara una dosis de 150 mg de bexaroteno cada 12

## DISCUSIÓN

horas frente a placebo. Se realiza en un total de 20 pacientes (10 en el grupo placebo y 10 en el grupo control). No aparecen diferencias en la carga amiloidea en cerebro en todos los pacientes incluidos en el estudio, pero entre los pacientes no portadores de ApoE4 sí se observa una reducción significativa de  $\beta$ A en cerebro. Tal y como nos temíamos cuando nos planteamos nuestro estudio, aparecen frecuentes reacciones adversas, las más importantes hipercolesterolemia (37,50%) e hipertrigliceridemia (81,25%), que representan un riesgo cardiovascular elevado. Aun así, el estudio de Cummings justifica futuras investigaciones con agonistas RXR como terapia para la enfermedad de Alzheimer. Genisteína tiene un perfil de seguridad mejor que bexaroteno. El hecho de que no presenta efectos secundarios a las dosis a las cuales está pautado en nuestro estudio permite que sea un tratamiento a largo plazo. En el caso del bexaroteno, su toxicidad desaconsejaría usarlo como tratamiento crónico.

Diversos estudios epidemiológicos demuestran que en la población japonesa, a pesar del hecho de tener una población con abundancia del alelo apoE4 (Ward, A. 2012) existe una menor incidencia de la EA (Niu, H. 2017). Podría explicarse por el alto consumo en soja (Rozman, 2016). El estilo de vida nipón también explicaría diferencias entre prevalencia e incidencia de enfermedades hematológicas entre japoneses residentes en Japón y aquellos que viven en Estados Unidos y han occidentalizado sus hábitos (Chihara, D. 2013).

### **5.3.2 Discusión de pruebas *ad hoc***

#### **5.3.2.1 Peroxidación lipídica en plasma**

La producción de  $\beta$ A conlleva la formación de ROS (Hensley, K. 1994). Al ser el cerebro un órgano rico en ácidos grasos poliinsaturados, puede sufrir peroxidación lipídica. Este proceso aumentará el daño neuronal y la oxidación

proteica y de DNA ((Dei, R. 2002). El malondialdehido (MDA) es un marcador de peroxidación lipídica que podemos medir en plasma en pacientes con deterioro cognitivo leve, siendo los niveles de MDA un predictor de la enfermedad. Es de esperar que los pacientes tratados con genisteína reduzcan los niveles de MDA en plasma. La genisteína actúa de dos formas diferentes, por una parte provoca una sobreexpresión de PPAR $\gamma$  que incrementa ApoE, responsable del aclaramiento de  $\beta$ A. Por otra parte, genisteína es un análogo del estradiol, que estimula su receptor de membrana activando una cascada que a nivel de DNA potencia la expresión de enzimas antioxidantes, como manganeso superóxido dismutasa.

Mientras en los pacientes tratados con placebo vemos un aumento de la peroxidación lipídica, los pacientes tratados con genisteína durante 6 meses sufren una disminución de los niveles de MDA, lo que indica una mejora en el perfil de estrés oxidativo (**fig. 4.38**).

### 5.3.2.2 Proteínas oxidadas en plasma

El estrés oxidativo también afecta a las proteínas, provocando una desnaturalización de su estructura (Dean, R. 1993). Se ha demostrado la presencia de grupos carbonilo en las proteínas estructurales de los microtúbulos, que conduce a la degeneración neurofibrilar y a la muerte neuronal (Aksenov, M. 2001).

La administración de genisteína provocará una disminución del estrés oxidativo y un aumento de ApoE, que mejorará el aclaramiento de  $\beta$ A. Los resultados del estudio son positivos y vemos como los pacientes tratados con placebo sufren un empeoramiento del estrés oxidativo, confirmado con la presencia mayor de proteínas carboniladas en plasma, mientras en pacientes tratados con genisteína vemos una reducción del marcador carbonilo (**fig. 4.39**).

## DISCUSIÓN

### 5.3.2.3 Mediadores solubles de inflamación en plasma

La inflamación no solo es resultado del daño provocado por la presencia de  $\beta$ A extraneuronal y TAU intraneuronal, por si misma también contribuye a la enfermedad de Alzheimer. Si en un principio la inflamación tiene carácter protector, la sobreexpresión de los factores de inflamación potencia la neurodegeneración. Existe un aumento de los biomarcadores de inflamación en plasma, en nuestro estudio hemos medido leptina, MCP-1 y TNF.

La leptina es una hormona producida por el tejido adiposo que, entre otras funciones, regula el apetito y el peso corporal. Existe una relación entre los niveles plasmáticos leptina y la presencia de  $\beta$ A en LCR (Kiddle, S. 2012).

MCP-1 es una quimioquina relacionada con el transporte de células del sistema inmune con un papel importante en la inflamación en EA. La presencia del biomarcador de inflamación MCP-1 en plasma se han asociado a una mayor severidad de la enfermedad y a un deterioro cognitivo más rápido (Lee, W. 2018).

Los factores de necrosis tumoral (TNF) juegan un papel importante en la inflamación en la enfermedad de Alzheimer. La microglía activa los astrocitos A1 por la secreción de, entre otras sustancias, TNF. Los astrocitos A1 reactivos secretan una neurotoxina que induce la muerte de neuronas y oligodendrocitos, además han perdido la capacidad de promover la supervivencia neuronal (Liddel, S. 2017). Los niveles TNF en tejido periférico son un marcador fiable de inflamación neuronal y de EA (Britschgi, M. 2009).

Cabe esperar que la genistéina provoque una sobreexpresión de PPAR $\gamma$ . Esta formará un heterodímero con RXR que modula la respuesta inmune a través la microglía (Johnson, K. 1993). Además la formación de este heterodímero

provocará una síntesis mayor de ApoE, lo que aumentará la eliminación cerebral de  $\beta$ A, lo que ayudará a disminuir la neuroinflamación.

PPAR $\gamma$  está implicado en la regulación de la inflamación (Plutzky, J. 2003) y la neuroinflamación (Cowley, T. 2012). Por tanto, la heterodimerización PPAR $\gamma$ -RXR no solo debería aumentar el aclaramiento de  $\beta$ A, sino además debería reducir la neuroinflamación.

Con el tratamiento propuesto en nuestro estudio, esperamos que haya una mejora de los perfiles de inflamación, reduciéndose los marcadores periféricos de inflamación. El análisis de los mediadores solubles de inflamación en plasma no refleja un aumento significativo de la protección del tratamiento con genisteína, pero en dos de los tres marcadores sí se ve una tendencia positiva (**fig. 4.39, fig. 4.40 y fig. 4.41**). Se debería aumentar el número de las muestras para poder valorar la intervención.

### **5.3.3 Discusión de pruebas neurológicas**

Aunque los resultados en las pruebas neurológicas no hayan resultado estadísticamente significativos, podemos decir que han sido satisfactorios. Cabe esperar que la evolución natural de la enfermedad disminuya las capacidades cognitivas de los pacientes y estos empeoren las puntuaciones en los test cognitivos durante el transcurso del estudio clínico. Para valorar positivamente los test neurológicos, debemos esperar al cabo de los seis meses de estudio que los sujetos tratados con genisteína mejoren los resultados o que no empeoren con respecto al grupo de pacientes tratados con placebo.

## DISCUSIÓN

### 5.3.3.1 Discusión de pruebas cognitivas

De los resultados obtenidos en la evaluaciones cognitivas mediante los test MMSE, M@T y ADAS-cog (**fig.4.42**, **fig. 4.43** y **fig. 4.44**), podemos decir que no existen diferencias significativas entre los pacientes tratados con genisteína y aquellos que han recibido placebo, no obstante, existe una tendencia en el grupo experimental de mejora en todos los test cognitivos frente al grupo control durante los seis meses de estudio. Además, en el análisis intragrupo, ningún paciente del grupo genisteína disminuyó la puntuación en el test MMSE, mientras que solo un paciente perdió capacidad cognitiva en los test T@M y ADAS-cog.

Una revisión Cochrane sugiere que MMSE no debe usarse como prueba única e independiente en el diagnóstico de EA, sino junto con otras pruebas cognitivas para aumentar especificidad y sensibilidad del proceso diagnóstico (Arevalo-Rodriguez, I. 2015). En nuestro estudio se han realizado tres pruebas de cognición, para aumentar la sensibilidad y la especificidad, con el objetivo de conseguir unos resultados más consistentes.

El test MMSE es el más usado a nivel mundial en el diagnóstico de la EA (Nieuwenhuis-Mark, R. (2010), mientras que ADAS-cog es el más usado en la valoración de los tratamientos y el objetivo primario más usado a nivel mundial (Schneider, L. 2009b) siendo considerado el *gold standard* de las valoraciones neurológicas en los ensayos clínicos en demencia (Mehta, D. 2017). Los resultados obtenidos en el estudio “Una visión sobre el estado actual los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España” confirman que los test neurológicos elegidos para la valoración cognitiva son correctos, ya que están validados y son ampliamente utilizados en los EECC en EA.

### 5.3.3.2 Discusión de prueba conductual (NPI)

El análisis realizado en referencia al test conductual NPI (**fig. 4.45**) no muestra diferencias significativas entre los dos tratamientos, pero sí vemos una leve mejoría en los pacientes tratados con genisteína. Los trastornos neuropsiquiátricos más usuales son la depresión, la ansiedad, la apatía y la psicosis. Estos son trastornos que requieren de otros tratamientos farmacológicos o no farmacológicos diferentes al propuesto en nuestro ensayo clínico. Los fármacos antidepressivos (los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina son los fármacos de primera elección), benzodiazepinas de vida corta o fármacos antiepilépticos son usados para mitigar estos síndromes.

### 5.3.3.3 Discusión de prueba funcional (Índice de Barthel)

Los test funcionales nos permiten conocer el grado de dependencia del paciente. En este estudio nos hemos hecho servir del Índice de Barthel para evaluar la independencia de nuestros pacientes. Es una herramienta imprescindible para seguir la evolución física del paciente durante el estudio. Los resultados obtenidos muestran que todos los pacientes en el estudio han empeorado, tal y como era de esperar por el curso natural de la enfermedad, pero los tratados con genisteína han sufrido un empeoramiento algo menor. Aun así, un empeoramiento de 3 puntos en una escala de 100, en un período de seis meses, nos confirma que la EA es un proceso degenerativo lento (**fig. 4.46**).

### 5.3.3.4 Prueba cognitivo-funcional (Test del informador)

El test del informador es una prueba altamente empleada en la anamnesis, tanto por psiquiatras, neurólogos y geriatras. Esta prueba evalúa los cambios funcionales y cognitivos ocurridos en los últimos diez años. No existen diferencias

## DISCUSIÓN

significativas entre los dos grupos de tratamiento de nuestro estudio, pero podemos confirmar que los pacientes tratados con genisteína mejoran levemente los resultados en el Test del informador con respecto a los pacientes tratados con placebo. El hecho de que en el análisis intragrupal, tanto los pacientes tratados con genisteína y con placebo hayan mejorado las puntuaciones, nos hace pensar que en el diseño del estudio hemos salvado un sesgo importante. Este test es realizado por un informador fiable, es decir, el cuidador o un familiar muy próximo. La mejora en el grupo placebo puede ser, valga la redundancia, atribuida al “efecto placebo”. Si en el grupo placebo hemos visto una mejora de 5,50 puntos, mientras en el grupo experimental la mejora es de 7,60 puntos, la mejora real debe ser la diferencia entre ambas.

Podemos decir, que de las seis valoraciones neurológicas realizadas en nuestro estudio, la realizada por el cuidador o familiar es la que está más sujeta al “efecto placebo”. La puntuación obtenida en el grupo placebo nos ha servido de “factor de corrección” para valorar la intervención medida en esta prueba.

Los resultados en conjunto son acordes a lo esperado al inicio del estudio. La genisteína produce en cultivos celulares un aumento de ApoE por parte de los astrocitos dependiente de PPAR $\gamma$  (Dang, Z.2002; Vallés, S. 2010). Los estudios preclínicos confirman esta teoría, los activadores PPAR $\gamma$  inducen la expresión del gen ApoE que aumenta el aclaramiento del péptido amiloide por la microglía y los astrocitos (Mandrekar-Colucci, S. 2012). Los estudios en animales confirman que la genisteína mejora el deterioro cognitivo e inhibe la agregación de  $\beta$ A y disminuye la neuroinflamación (Bagheri, M. 2011; Bagheri, M. 2012).

Los resultados preclínicos del grupo de investigación del profesor Viña también son esperanzadores, no solo confirman el aclaramiento de  $\beta$ A cerebral y un

aumento en la eliminación de placas seniles (Bonet-Costa, V. 2014), sino además confirman que genisteína es un tratamiento eficaz en modelos animales con diferentes biomarcadores, por una parte, se demuestra la mejora cognitiva de los ratones en estudio, y también realiza hallazgos histopatológicos *in vivo* mediante técnicas de neuroimagen, confirmados después *post mortem*. En todos los parámetros evaluados (determinación de  $\beta$ A, neuroimagen y test neurológicos) la genisteína demuestra un efecto positivo (Bonet-Costa, V. 2016).

Los resultados de nuestro estudio *first in humans* confirman la mejora cognitiva de los pacientes tratados con genisteína, por una parte confirmando que el diseño y la metodología del estudio es correcta (pacientes seleccionados, factores de inclusión y exclusión, *endpoints*, duración del tratamiento y dosis elegida) y por otra, reforzando la hipótesis de que la genisteína en humanos puede tener efectos favorables. Los estudios *ad hoc* realizados en los laboratorios del Hospital Clínico Universitario, midiendo marcadores de inflamación y estrés oxidativo en tejidos periféricos han dado buenos resultados. A pesar de la pérdida de muestra se ve una tendencia en los pacientes tratados con genisteína a mejorar los parámetros que indican inflamación y estrés oxidativo (**fig. 4.47**).

## DISCUSIÓN

### **5.3.4 Valoración global del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

El tratamiento con genisteína en pacientes enfermos de Alzheimer mejora los test neurológicos en pacientes que reciben genisteína frente a aquellos tratados con placebo.

En las valoraciones conductuales, funcionales y cognitivo-funcionales (NPI, índice de Cartel y test del informador, respectivamente) no hallamos diferencias significativas entre los pacientes incluidos en el grupo experimental y los del grupo control. No obstante, se ve una ligera mejoría en los tres test, sin atreverse a concluir que existe una tendencia de mejora en los pacientes tratados con genisteína, sí podemos concluir que no empeoran los resultados en comparación a los pacientes tratados con placebo.

Esto refuerza la hipótesis de que el tratamiento con genisteína en humanos aumenta la producción de ApoE en astrocitos mediante la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR, mejorando el aclaramiento de  $\beta$ A, mejorando la cognición en pacientes con enfermedad de Alzheimer. Son necesarios estudios posteriores con un mayor número de pacientes para confirmar los resultados obtenidos en este estudio, además del uso de otros biomarcadores que cuantifiquen la disminución de  $\beta$ A, la reducción del número de placas seniles así como su tamaño, sin olvidar otros parámetros de inflamación o estrés oxidativo. El estudio *Genisteína\_2* ha dado buenos resultados como estudio piloto y ha animado al grupo de investigación del profesor Viña al diseño del estudio clínico pivotal *Genial*.

No creemos que el tratamiento propuesto, genisteína, se sitúe en la misma línea de tratamiento que los fármacos biológicos y los TKI. Más bien buscará su lugar

entre aquellos neuroprotectores que busquen prevenir o enlentecer la evolución de la enfermedad.

El paradigma de la enfermedad de Alzheimer ha sufrido un vuelco en los últimos años con la descripción del *continuum* de la enfermedad. Por el momento ha resultado infructuosa la búsqueda de fármacos modificadores de la enfermedad. Aunque este campo nunca debe ser descartado, y el conocimiento cada vez mayor de la fisiopatología de la enfermedad proporciona nuevos medicamentos contra nuevas dianas, se ha de combinar con los fármacos que previenen la enfermedad. El lograr detectar la enfermedad a edades cada vez más tempranas, usando armas como el cribado poblacional, debe respaldar el hecho de que redirijamos la investigación hacia la prevención de la enfermedad.

El tratamiento con genisteína busca su indicación en fases prodrómicas de la EA. Con un perfil de seguridad adecuado, la genisteína es un suplemento alimenticio sin apenas efectos adversos a la dosis recomendada por nuestro estudio y que además puede tomarse de forma crónica, ha demostrado eficacia en estudios preclínicos. La gran prevalencia de la enfermedad y los altos costes derivados de esta, nos hacen pensar que podríamos encontrarnos ante una molécula que podría más que útil en la prevención y tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

### **¿Hay espacio para el optimismo?**

Todo parece indicarnos que varios factores van a jugar a favor y en contra de la lucha contra la enfermedad de Alzheimer. En contra, el envejecimiento de la población que ha disparado la prevalencia de la enfermedad, hasta el punto de considerarse el siglo XXI como el *siglo de la neurodegeneración* (Thompson B, 2016). Un primer mundo envejecido que debe ser capaz de adaptar sus nuevas

## DISCUSIÓN

necesidades, desde el nivel de visto sanitario, económico y social, la nueva sociedad va a demandar tratamientos crónicos cada vez más caros y asistencia a mayores. Los países en vías de desarrollo aumentarán la prevalencia como consecuencia de la globalización, al adquirir hábitos de un primer mundo consumidor de grasas en exceso, con un mayor sedentarismo. Aumentarán los casos de diabetes, de HTA y de otras patologías que el colectivo imaginario llama enfermedades del primer mundo. No olvidemos el tema de la contaminación, ciudades superpobladas (y “contaminadas”) cambiarán la fisonomía de nuestro mundo.

La brecha social y económica tampoco parece que vaya a ayudar, no olvidemos la gran carga económica que deben soportar las familias con un enfermo dependiente a su cargo. Las políticas sociales determinarán el grado de cuidado que muchos pacientes van a poder recibir: los centros de día, las unidades de demencia y los centros de internamiento de los pacientes más graves dependerán en gran medida de la concienciación de la sociedad con respecto a las enfermedades neurodegenerativas.

A favor de la lucha contra la EA encontramos el conocimiento cada vez mayor de la fisiopatología de la enfermedad. Es necesario el descubrimiento de nuevos fármacos no solo dirigidos a la eliminación de  $\beta$ A, sino a otros muchos mecanismos de la enfermedad. El avance farmacológico más importante de las últimas décadas lo ha conseguido la biología molecular en el cáncer. Dejamos de hablar de cáncer de los “órganos” para hablar de marcadores tumorales: HER2, KRAS, EGFR, PDL-1, etc. El trastuzumab fue el primer fármaco biológico y detrás de él vinieron otros muchos fármacos biológicos que mejoraron las expectativas de vida. La enfermedad de Alzheimer tiene que conseguir su propio “Herceptin”. No podemos hablar de tratar enfermedad de Alzheimer en general. La biología

molecular ha de poner nombre y apellido a todos los genes que intervienen y dar paso a la medicina de precisión. En este punto, huelga decir de nuevo la importancia de la unión entre instituciones académicas e industria.

El control de los factores de riesgo juega a favor de la lucha contra la EA. Se ha demostrado que los esfuerzos para reducir los casos de diabetes, HTA, obesidad, sedentarismo, o tabaquismo redundan en una disminución de los casos de EA.

Debemos tener una visión multifocal de la enfermedad de Alzheimer, dejar atrás los ensayos clínicos de un solo dominio y diseñar nuevos estudios que tengan en cuenta diferentes factores y mecanismos que predisponen y ayudan a la patogénesis de la EA. El tratamiento farmacológico ha de acompañarse de un programa nutricional, de ejercicio físico y de potenciación de la reserva cognitiva.

### **De estudio piloto a ensayo pivotal**

El estudio *GENISTEÍNA\_2* ha dado buenos resultados como estudio piloto y ha animado al grupo de investigación del profesor Viña al diseño del estudio clínico pivotal *GENIAL*. Este es un estudio de extensión donde se ha ampliado el número de centros participantes para conseguir un mayor reclutamiento. Otras diferencias con respecto al estudio piloto ha sido la inclusión de más biomarcadores para determinar el beneficio clínico de genisteína. Los biomarcadores elegidos han sido la presencia de  $\beta$ A en PET.

El tiempo de duración del estudio clínico se ha prolongado de seis meses a un año para comprobar los datos de eficacia y seguridad en un periodo más amplio. El estudio *GENIAL* arrojará datos más precisos sobre el efecto de la genisteína en humanos.

## DISCUSIÓN

### **5.3.5 Limitaciones del estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

El tamaño muestral del estudio es pequeño. Debemos confirmar los resultados obtenidos con estudios con un mayor número de participantes.

Los sesgos que podemos encontrar son la edad y el nivel de estudios del paciente. Usamos los factores de corrección propuestos por Crum para disminuir los sesgos en los test cognitivos (Crum, R. 1993). Otras variables que podemos encontrar en los estudios neurológicos que producen sesgos son la ansiedad, la presión sometida al paciente o el tiempo para completar los test. Se ha usado un test adaptado al español, pero los pacientes pueden ser valencianohablantes, se aceptan por tanto las respuestas en valenciano.

# **Capítulo 6**

## **CONCLUSIONES**



“Era el mejor de los tiempos, era el peor de los tiempos, la edad de la sabiduría, y también de la locura; la época de las creencias y de la incredulidad; la era de la luz y de las tinieblas; la primavera de la esperanza y el invierno de la desesperación”

**Historia de dos ciudades**

**Charles Dickens**



### **6.1 Conclusiones del estudio “Tendencia de prescripción en el entorno clínico del estudio Genisteina 2”**

1. En el Hospital Clínico de Valencia y el Hospital La Ribera, la prevalencia de demencia en mujeres y hombres es similar en edades más tempranas, pero a partir del grupo de edad 66-70 años, la prevalencia de mujeres es mucho mayor.
2. El grupo de edad de máxima prevalencia es el de 81-85 años, seguido por el grupo de 76-80 años. El grupo de edad de 86-90 años es el tercer grupo de edad en cuanto a prevalencia.
3. Los anticolinesterásicos son los fármacos más usados en etapas iniciales de la enfermedad de Alzheimer. Mientras en el Hospital Clínico de Valencia está más extendido el uso de rivastigmina, en el Hospital La Ribera el más usado es el donepezilo. Ambos tienen su indicación en fases iniciales de la enfermedad.
4. En etapas más avanzadas de la enfermedad, correspondientes a los grupos de mayor edad, la memantina es el fármaco más usado en el Hospital Clínico de Valencia y en el Hospital La Ribera. El segundo fármaco más usado es el anticolinesterásico donepezilo, confirmando que se utiliza la combinación de ambos fármacos recomendada por las grandes agencias del medicamento.
5. El uso de *ginkgo biloba*, neuroprotector indicado en demencia ha sufrido un descenso brusco en los últimos años en el Hospital Clínico de Valencia y el Hospital La Ribera. Este fármaco es pautado en estadios de la enfermedad demasiado avanzados.

## CONCLUSIONES

### **6.2 Conclusiones del estudio “Una visión sobre el estado actual los ensayos clínicos en enfermedad de Alzheimer en España”**

1. Existe un número pequeño de ensayos fase I en España, en comparación con el resto del mundo.
2. En España se realizan un número pequeño de ensayos clínicos en EA académicos frente a los de la industria.
3. Los objetivos primarios y secundarios mayoritarios en los EECC en enfermedad de Alzheimer en España son pruebas cognitivas, conductuales y funcionales, aunque cobran fuerza los biomarcadores y la neuroimagen.
4. Es muy importante registrar y actualizar los EECC y estudios clínicos en las diferentes webs (clinicaltrials.gov, REEC y EUDRACT) para la intercomunicación entre diferentes grupos de investigación
5. El estudio “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA\_2” cumple con la mayor parte de las características del estándar de calidad en ensayos clínicos en la enfermedad de Alzheimer realizados en España.

### **6.3 Conclusiones “Efecto de la activación del receptor PPAR $\gamma$ /RxR como posible tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Papel de la genisteína. GENISTEINA 2”**

#### **6.3.1 Conclusión principal**

El tratamiento con genisteína durante seis meses en pacientes con enfermedad de Alzheimer parece mejorar los test neurológicos de los pacientes en la rama experimental frente a aquellos tratados con placebo.

#### **6.3.2 Conclusiones específicas**

1. Los test cognitivos no arrojan diferencias significativas entre los pacientes tratados con genisteína y los tratados con placebo. No obstante, existe una tendencia en el grupo de pacientes tratados con genisteína a mejorar los resultados de las pruebas cognitivas a los 6 meses después de haber iniciado el tratamiento.
2. Los test conductuales, funcionales y cognitivo-funcionales no muestran diferencias significativas entre los pacientes del grupo experimental y el grupo control. No obstante, los pacientes tratados con genisteína mejoran o no empeoran los resultados obtenidos en los test conductuales y funcionales respecto a los pacientes tratados con placebo.
3. Un estudio clínico de extensión ya puesto en marcha (estudio GENIAL) con un mayor número de participantes, es necesario para confirmar los resultados obtenidos en este estudio.



# **BIBLIOGRAFÍA**



- Adlard, P. (2005). Voluntary Exercise Decreases Amyloid Load in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*, 25(17), pp.4217-4221.
- Agüero-Torres, H., Fratiglioni, L., Guo, Z., Viitanen, M. and Winblad, B. (1998). Prognostic Factors in Very Old Demented Adults: A Seven-Year Follow-Up From a Population-Based Survey in Stockholm. *Journal of the American Geriatrics Society*, 46(4), pp.444-452.
- AEMPS: Comunicación sobre riesgos de medicamentos para profesionales sanitarios: Nota informativa Rosiglitazona (Avandia®, Avaglim®, Avandamet®): Suspensión de comercialización (2010). Ref. 2010/12 23 de septiembre de 2010. Disponible: [www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2010/NI\\_201018\\_rosiglitazona.htm](http://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2010/NI_201018_rosiglitazona.htm)
- Ahmad-Annur, A., Tabrizi, S. and Fisher, E. (2003). Mouse models as a tool for understanding neurodegenerative diseases. *Current Opinion in Neurology*, 16(4), pp.451-458.
- Aiba, T. (1995). Attempted Induction of Blood Brain Barrier In Vitro by Co-culture of Gerbil Brain Microvessel Endothelial Cells and Glial Cells. *Neurologia medico-chirurgica*, 35(6), pp.347-352.
- Akiyama, H. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 21(3), pp.383-421.
- Akiyama, H., Arai, T., Kondo, H., Tanno, E., Haga, C. and Ikeda, K. (2000b). Cell Mediators of Inflammation in the Alzheimer Disease Brain. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 14(Supplement), pp.S47-S53.
- Aksenov, M., Aksenova, M., Butterfield, D., Geddes, J. and Markesbery, W. (2001). Protein oxidation in the brain in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 103(2), pp.373-383.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albert, M., DeKosky, S., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H., Fox, N., Gamst, A., Holtzman, D., Jagust, W., Petersen, R., Snyder, P., Carrillo, M., Thies, B. and Phelps, C. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3), pp.270-279.
- Alberti, K., Eckel, R., Grundy, S., Zimmet, P., Cleeman, J., Donato, K., Fruchart, J., James, W., Loria, C. and Smith, S. (2010). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Obesity and metabolism*, (1), p.63.
- Adlercreutz, H. (1990). Western diet and Western diseases: Some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 50(sup201), pp.3-23.
- Alladi, S., Xuereb, J., Bak, T., Nestor, P., Knibb, J., Patterson, K. and Hodges, J. (2007). Focal cortical presentations of Alzheimer's disease. *Brain*, 130(10), pp.2636-2645
- Alonso, M. and Martinez, A. (2004). GSK-3 Inhibitors: Discoveries and Developments. *Current Medicinal Chemistry*, 11(6), pp.755-763.
- Alvarez, X. (1999). *Double-blind placebo-controlled study with citicoline in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioel...* - PubMed - NCBI. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10669911> [Accessed 17 Mar. 2019].

- Antonsdottir, I., Smith, J., Keltz, M. and Porsteinsson, A. (2015). Advancements in the treatment of agitation in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 16(11), pp.1649-1656.
- Alz.co.uk. (2015). *World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia | Alzheimer's Disease International*. [online] Available at: <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2015> [Accessed 13 Feb. 2019].
- Alz.co.uk. (2018). *World Alzheimer Report 2018: The Global Impact of Dementia | Alzheimer's Disease International*. [online] Available at: <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018> [Accessed 2 Feb. 2019].
- Alzforum.org. (2018). *ALZFORUM | NETWORKING FOR A CURE*. [online] Available at: <https://www.alzforum.org/> [Accessed 18 Oct. 2018].
- Alzforum.org. (2019). *Brexpirazole | ALZFORUM*. [online] Available at: <https://www.alzforum.org/therapeutics/brexpiprazole> [Accessed 23 Feb. 2019].
- Alzheimer, A. (1907). *Über eine eigenartige erkrankung der hirnrinde*. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychiatrisch-gerichtliche Medizin* 64 pp.146-148.
- Alzheimer's Association (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. (2016). *Alzheimer's & Dementia*, 12(4), pp.459-509.
- Andel, R., Vigen, C., Mack, W., Clark, L. and Gatz, M. (2006). The effect of education and occupational complexity on rate of cognitive decline in Alzheimer's patients. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 12(01).
- Andreasen, N. and Blennow, K. (2002).  $\beta$ -Amyloid (A $\beta$ ) protein in cerebrospinal fluid as a biomarker for Alzheimer's disease. *Peptides*, 23(7), pp.1205-1214.
- Angevaren, M., Aufdemkampe, G., Verhaar, H., Aleman, A. and Vanhees, L. (2008). P2-386: Physical activity and enhanced fitness improve cognitive function in older people

## BIBLIOGRAFÍA

without known cognitive impairment: A Cochrane systematic review. *Alzheimer's & Dementia*, 4(4), p.T486.

Anjum, I., Fayyaz, M., Wajid, A., Sohail, W. and Ali, A. (2018). Does Obesity Increase the Risk of Dementia: A Literature Review. *Cureus*.

Anstey, K., Cherbuin, N., Budge, M. and Young, J. (2011). Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obesity Reviews*, 12(5), pp.e426-e437.

Anstey, K., von Sanden, C., Salim, A. and O'Kearney, R. (2007). Smoking as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Meta-Analysis of Prospective Studies. *American Journal of Epidemiology*, 166(4), pp.367-378.

Appleton, J., Scutt, P., Sprigg, N. and Bath, P. (2017). Hypercholesterolaemia and vascular dementia. *Clinical Science*, 131(14), pp.1561-1578.

Araya, R., Kudo, M., Kawano, M., Ishii, K., Hashikawa, T., Iwasato, T., Itohara, S., Terasaki, T., Oohira, A., Mishina, Y. and Yamada, M. (2008). BMP signaling through BMPRIA in astrocytes is essential for proper cerebral angiogenesis and formation of the blood-brain-barrier. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 38(3), pp.417-430.

Arbones-Mainar, J., Johnson, L., Altenburg, M. and Maeda, N. (2008). Differential modulation of diet-induced obesity and adipocyte functionality by human apolipoprotein E3 and E4 in mice. *International Journal of Obesity*, 32(10), pp.1595-1605.

Arcuino, G., Lin, J., Takano, T., Liu, C., Jiang, L., Gao, Q., Kang, J. and Nedergaard, M. (2002). Intercellular calcium signaling mediated by point-source burst release of ATP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15), pp.9840-9845.

Arevalo-Rodriguez, I., Smailagic, N., Roqué i Figuls, M., Ciapponi, A., Sanchez-Perez, E., Giannakou, A., Pedraza, O., Bonfill Cosp, X. and Cullum, S. (2015). Mini-Mental

State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

Arnold, S., Lee, E., Moberg, P., Stutzbach, L., Kazi, H., Han, L., Lee, V. and Trojanowski, J. (2009). Olfactory epithelium amyloid- $\beta$  and paired helical filament-tau pathology in Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, 67(4), pp.462-469.

Atal, I., Trinquart, L., Porcher, R. and Ravaud, P. (2015). Differential Globalization of Industry- and Non-Industry-Sponsored Clinical Trials. *PLOS ONE*, 10(12), p.e0145122.

Atri, A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management (2019). *Medical Clinics of North America*. 2019 Mar;103(2), pp.263-293.

AVS, Agencia valenciana de Salud, disponible en [www.san.gva.es/documents/153218/167583/06\\_Analisis.pdf](http://www.san.gva.es/documents/153218/167583/06_Analisis.pdf)

Arriagada, P., Growdon, J., Hedley-Whyte, E. and Hyman, B. (1992). Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology*, 42(3), pp.631-631.

Asuni, A., Hooper, C., Reynolds, C., Lovestone, S., Anderton, B. and Killick, R. (2006). GSK3 $\alpha$  exhibits  $\beta$ -catenin and tau directed kinase activities that are modulated by Wnt. *European Journal of Neuroscience*, 24(12), pp.3387-3392.

Avila, J. (2000). Tau aggregation into fibrillar polymers: taupathies. *FEBS Letters*, 476(1-2), pp.89-92.

Bagheri, M., Joghataei, M., Mohseni, S. and Roghani, M. (2011). Genistein ameliorates learning and memory deficits in amyloid  $\beta$ (1-40) rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(3), pp.270-276.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bagheri, M., Roghani, M., Joghataei, M. and Mohseni, S. (2012). Genistein inhibits aggregation of exogenous amyloid-beta1–40 and alleviates astrogliosis in the hippocampus of rats. *Brain Research*, 1429, pp.145-154.
- Bakhr, A. and Erlinger, T. (2005). Smoking Cessation and Cardiovascular Disease Risk Factors: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS Medicine*, 2(6), p.e160.
- Bales, K., Verina, T., Cummins, D., Du, Y., Dodel, R., Saura, J., Fishman, C., DeLong, C., Piccardo, P., Petegnief, V., Ghetti, B. and Paul, S. (1999). Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APPV717F transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(26), pp.15233-15238.
- Bales, K. (2000). Neuroinflammation and Alzheimer's disease: critical roles for cytokine/A $\beta$ -induced glial activation, NF- $\kappa$ B, and apolipoprotein E. *Neurobiology of Aging*, 21(3), pp.427-432.
- Ball, K., Berch, D., Helmers, K., Jobe, J., Leveck, M., Marsiske, M., Morris, J., Rebok, G., Smith, D., Tennstedt, S., Unverzagt, F., Willis, S. and for the ACTIVE Study Group (2002). Effects of Cognitive Training Interventions With Older Adults. *JAMA*, 288(18), p.2271.
- Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D. and Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 377(9770), pp.1019-1031.
- Bard, F., Cannon, C., Barbour, R., Burke, R., Games, D., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Lieberburg, I., Motter, R., Nguyen, M., Soriano, F., Vasquez, N., Weiss, K., Welch, B., Seubert, P., Schenk, D. and Yednock, T. (2000). Peripherally administered antibodies against amyloid  $\beta$ -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nature Medicine*, 6(8), pp.916-919.

- Barnes, D. (2012). Risk factor reduction and Alzheimer's disease prevalence: Projected effect and practical implications. *Alzheimer's & Dementia*, 8(4), p.P605.
- Barrera, J., Subramanian, S. and Chiba-Falek, O. (2018). Probing the role of PPAR $\gamma$  in the regulation of late-onset Alzheimer's disease-associated genes. *PLOS ONE*, 13(5), p.e0196943.
- Barro, R. and Lee, J. (2013). A new data set of educational attainment in the world, 1950–2010. *Journal of Development Economics*, 104, pp.184-198.
- Bartus, R., Dean, R., Beer, B. and Lippa, A. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), pp.408-414.
- Baudier, J. and Cole, R. (1988). Reinvestigation of the sulfhydryl reactivity in bovine brain S100b (.beta..beta.) protein and the microtubule-associated .tau. proteins. Calcium stimulates disulfide cross-linking between S100b .beta.-subunit and the microtubule-associated .tau.(2) protein. *Biochemistry*, 27(8), pp.2728-2736.
- Beach, T., Monsell, S., Phillips, L. and Kukull, W. (2012). Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 71(4), pp.266-273.
- Beato, M. (1989). Gene regulation by steroid hormones. *Cell*, 56(3), pp.335-344.
- Bekris, L., Yu, C., Bird, T. and Tsuang, D. (2010). Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(4), pp.213-227.
- Bennecib, M., Gong, C., Grundke-Iqbal, I. and Iqbal, K. (2001). Inhibition of PP-2A upregulates CaMKII in rat forebrain and induces hyperphosphorylation of tau at Ser 262/356. *FEBS Letters*, 490(1-2), pp.15-22.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bennett, D. (1997). Serge Gauthier (ed.). Clinical Diagnosis and Management of Alzheimer's Disease. London: M.D. Martin Dunitz Ltd., 1996, pp. 372. *Canadian Journal on Aging / La Revue canadienne du vieillissement*, 16(04), pp.700-701.
- Benoit, M., Berrut, G., Doussaint, J., Bakchine, S., Bonin-Guillaume, S., Frémont, P., Gallarda, T., Krolak-Salmon, P., Marquet, T., Mékiès, C., Sellal, F., Schuck, S., David, R. and Robert, P. (2012). Apathy and Depression in Mild Alzheimer's Disease: A Cross-Sectional Study Using Diagnostic Criteria. *Journal of Alzheimer's Disease*, 31(2), pp.325-334.
- Berger, J. and Moller, D. (2002). The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53(1), pp.409-435.
- Bertram, L., Lill, C. and Tanzi, R. (2010). The Genetics of Alzheimer Disease: Back to the Future. *Neuron*, 68(2), pp.270-281.
- Bertram, L. and Tanzi, R. (2009). Genome-wide association studies in Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics*, 18(R2), pp.R137-R145.
- Biber, K., Neumann, H., Inoue, K. and Boddeke, H. (2007). Neuronal 'On' and 'Off' signals control microglia. *Trends in Neurosciences*, 30(11), pp.596-602.
- Bierhaus, A., Humpert, P., Morcos, M., Wendt, T., Chavakis, T., Arnold, B., Stern, D. and Nawroth, P. (2005). Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *Journal of Molecular Medicine*, 83(11), pp.876-886.
- Bidstrup, P. (1972). Clinical symptoms of mercury poisoning in man. *Biochemical Journal*, 130(2), pp.59-61.
- Billings, L., Oddo, S., Green, K., McLaugh, J. and LaFerla, F. (2005). Intraneuronal A $\beta$  Causes the Onset of Early Alzheimer's Disease-Related Cognitive Deficits in Transgenic Mice. *Neuron*, 45(5), pp.675-688.

- Bird, T. (2018). *Alzheimer Disease Overview*. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1161/?report=printable> [Accessed 2 Mar. 2019].
- Birks, J. and Harvey, R. (2006). Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Birks, J. (2008). *Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease*. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Birks, J., Chong, L. and Grimley Evans, J. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Blasko, I., Apochal, A., Boeck, G., Hartmann, T., Grubeck-Loebenstien, B. and Ransmayr, G. (2001). Ibuprofen Decreases Cytokine-Induced Amyloid Beta Production in Neuronal Cells. *Neurobiology of Disease*, 8(6), pp.1094-1101.
- Blasko, I., Stampfer-Kountchev, M., Robatscher, P., Veerhuis, R., Eikelenboom, P. and Grubeck-Loebenstien, B. (2004). How chronic inflammation can affect the brain and support the development of Alzheimer's disease in old age: the role of microglia and astrocytes. *Aging Cell*, 3(4), pp.169-176.
- Block, M. and Calderón-Garcidueñas, L. (2009). Air pollution: mechanisms of neuroinflammation and CNS disease. *Trends in Neurosciences*, 32(9), pp.506-516.
- Boada, M., Anaya, F., Ortiz, P., Olazarán, J., Shua-Haim, J., Obisesan, T., Hernández, I., Muñoz, J., Buendía, M., Alegret, M., Lafuente, A., Tárraga, L., Núñez, L., Torres, M., Grifols, J., Ferrer, I., Lopez, O. and Páez, A. (2017). Efficacy and Safety of Plasma Exchange with 5% Albumin to Modify Cerebrospinal Fluid and Plasma Amyloid- $\beta$  Concentrations and Cognition Outcomes in Alzheimer's Disease Patients: A Multicenter, Randomized, Controlled Clinical Trial. *Journal of Alzheimer's Disease*, 56(1), pp.129-143.

## BIBLIOGRAFÍA

- Boller, F. and Forbes, M. (1998). History of dementia and dementia in history: An overview. *Journal of the Neurological Sciences*, 158(2), pp.125-133.
- Bonet-Costa, V. Tesis: *Estudio del estrés oxidativo hepático asociado a la enfermedad de Alzheimer. Efecto del tratamiento con bexaroteno y/o genisteína*. Director: José Viña. Universitat de València, Departamento de Fisiología, 2014
- Bonet-Costa, V., Herranz-Pérez, V., Blanco-Gandía, M., Mas-Bargues, C., Inglés, M., Garcia-Tarraga, P., Rodriguez-Arias, M., Miñarro, J., Borrás, C., Garcia-Verdugo, J. and Viña, J. (2016). Clearing Amyloid- $\beta$  through PPAR $\gamma$ /ApoE Activation by Genistein is a Treatment of Experimental Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 51(3), pp.701-711.
- Borrás, C., Gambini, J., Gómez-Cabrera, M., Sastre, J., Pallardó, F., Mann, G. and Viña, J. (2006). Genistein, a soy isoflavone, up-regulates expression of antioxidant genes: involvement of estrogen receptors, ERK1/2, and NF $\kappa$ B. *The FASEB Journal*, 20(12), pp.2136-2138.
- Borrás, C. and Viña, J. (2016). Neurofisiología y envejecimiento. Concepto y bases fisiopatológicas del deterioro cognitivo. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 51, pp.3-6.
- Bowman, G., Kaye, J., Moore, M., Waichunas, D., Carlson, N. and Quinn, J. (2007). Blood-brain barrier impairment in Alzheimer disease: Stability and functional significance. *Neurology*, 68(21), pp.1809-1814.
- Boyle, P., Buchman, A., Barnes, L. and Bennett, D. (2010). Effect of a Purpose in Life on Risk of Incident Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment in Community-Dwelling Older Persons. *Archives of General Psychiatry*, 67(3), p.304.

- Bozoyan, L., Khlgatyan, J. and Saghatelian, A. (2012). Astrocytes Control the Development of the Migration-Promoting Vasculature Scaffold in the Postnatal Brain via VEGF Signaling. *Journal of Neuroscience*, 32(5), pp.1687-1704.
- Braak, H. and Braak, E. (1995). Staging of alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiology of Aging*, 16(3), pp.271-278.
- Braak, H., Alafuzoff, I., Arzberger, T., Kretzschmar, H. and Del Tredici, K. (2006). Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathologica*, 112(4), pp.389-404.
- Bradley-Whitman, M. and Lovell, M. (2015). Biomarkers of lipid peroxidation in Alzheimer disease (AD): an update. *Archives of Toxicology*, 89(7), pp.1035-1044.
- Brecht, W. (2004). Neuron-Specific Apolipoprotein E4 Proteolysis Is Associated with Increased Tau Phosphorylation in Brains of Transgenic Mice. *Journal of Neuroscience*, 24(10), pp.2527-2534.
- Breen, A. and Murphy, J. (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(6), pp.1033-1077.
- Breitner, J., Gau, B., Welsh, K., Plassman, B., McDonald, W., Helms, M. and Anthony, J. (1994). Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: Initial results of a co-twin control study. *Neurology*, 44(2), pp.227-227.
- Breteler, M., Claus, J., Grobbee, D. and Hofman, A. (1994). Cardiovascular disease and distribution of cognitive function in elderly people: the Rotterdam study. *BMJ*, 308(6944), pp.1604-1608.
- Brion, J. (2006). Immunological demonstration of tau protein in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 9(s3), pp.177-185.

## BIBLIOGRAFÍA

- Britschgi, M. (2009). Blood Protein Signature for the Early Diagnosis of Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 66(2), p.161.
- Brodaty, H., Seeher, K. and Gibson, L. (2012). Dementia time to death: a systematic literature review on survival time and years of life lost in people with dementia. *International Psychogeriatrics*, 24(07), pp.1034-1045.
- Brookmeyer, R., Evans, D., Hebert, L., Langa, K., Heeringa, S., Plassman, B. and Kukull, W. (2011). National estimates of the prevalence of Alzheimer's disease in the United States. *Alzheimer's & Dementia*, 7(1), pp.61-73.
- Bruno, R. and Traber, M. (2006). Vitamin E biokinetics, oxidative stress and cigarette smoking. *Pathophysiology*, 13(3), pp.143-149.
- Bu, G. (2009). Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(5), pp.333-344.
- Budni, J., L. Garcez, M., de Medeiros, J., Cassaro, E., Bellettini-Santos, T., Mina, F. and Quevedo, J. (2016). The Anti-Inflammatory Role of Minocycline in Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research*, 13(12), pp.1319-1329.
- Buée, L., Bussièrre, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A. and Hof, P. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders<sup>11</sup>These authors contributed equally to this work. *Brain Research Reviews*, 33(1), pp.95-130.
- Burdick, D., Kosmoski, J., Knauer, M. and Glabe, C. (1997). Preferential adsorption, internalization and resistance to degradation of the major isoform of the Alzheimer's amyloid peptide, A  $\beta$  1-42, in differentiated PC12 cells. *Brain Research*, 746(1-2), pp.275-284.
- Burke, D. (2012). Donepezil or memantine improved cognitive functioning in moderate-to-severe Alzheimer disease. *Annals of Internal Medicine*, 156(12), p.JC6.

- Burke, S., Maramaldi, P., Cadet, T. and Kukull, W. (2017). Decreasing hazards of Alzheimer's disease with the use of antidepressants: mitigating the risk of depression and apolipoprotein E. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 33(1), pp.200-211.
- Burns, A. and Murphy, D. (1996). Protection against Alzheimer's disease?. *The Lancet*, 348(9025), pp.420-421.
- Burns, P., Rohrich, R. and Chung, K. (2011). The Levels of Evidence and Their Role in Evidence-Based Medicine. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 128(1), pp.305-310.
- Bush, T., Puvanachandra, N., Horner, C., Polito, A., Ostefeld, T., Svendsen, C., Mucke, L., Johnson, M. and Sofroniew, M. (1999). Leukocyte Infiltration, Neuronal Degeneration, and Neurite Outgrowth after Ablation of Scar-Forming, Reactive Astrocytes in Adult Transgenic Mice. *Neuron*, 23(2), pp.297-308.
- Buxbaum, J., Thinakaran, G., Koliatsos, V., O'Callahan, J., Slunt, H., Price, D. and Sisodia, S. (1998). Alzheimer Amyloid Protein Precursor in the Rat Hippocampus: Transport and Processing through the Perforant Path. *The Journal of Neuroscience*, 18(23), pp.9629-9637.
- Caamaño-Isorna, F., Corral, M., Montes-Martínez, A. and Takkouche, B. (2006). Education and Dementia: A Meta-Analytic Study. *Neuroepidemiology*, 26(4), pp.226-232.
- Cacciottolo, M., Wang, X., Driscoll, I., Woodward, N., Saffari, A., Reyes, J., Serre, M., Vizueté, W., Sioutas, C., Morgan, T., Gatz, M., Chui, H., Shumaker, S., Resnick, S., Espeland, M., Finch, C. and Chen, J. (2017). Particulate air pollutants, APOE alleles and their contributions to cognitive impairment in older women and to amyloidogenesis in experimental models. *Translational Psychiatry*, 7(1), pp.e1022-e1022.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cagnin, A., Brooks, D., Kennedy, A., Gunn, R., Myers, R., Turkheimer, F., Jones, T. and Banati, R. (2001). In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *The Lancet*, 358(9280), pp.461-467.
- Caille, I. (2004). Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. *Development*, 131(9), pp.2173-2181.
- Calderón-Garcidueñas, L., Solt, A., Henríquez-Roldán, C., Torres-Jardón, R., Nuse, B., Herritt, L., Villarreal-Calderón, R., Osnaya, N., Stone, I., García, R., Brooks, D., González-Maciel, A., Reynoso-Robles, R., Delgado-Chávez, R. and Reed, W. (2008). Long-term Air Pollution Exposure Is Associated with Neuroinflammation, an Altered Innate Immune Response, Disruption of the Blood-Brain Barrier, Ultrafine Particulate Deposition, and Accumulation of Amyloid  $\beta$ -42 and  $\alpha$ -Synuclein in Children and Young Adults. *Toxicologic Pathology*, 36(2), pp.289-310.
- Campion, D., Dumanchin, C., Hannequin, D., Dubois, B., Belliard, S., Puel, M., Thomas-Anterion, C., Michon, A., Martin, C., Charbonnier, F., Raux, G., Camuzat, A., Penet, C., Mesnage, V., Martinez, M., Clerget-Darpoux, F., Brice, A. and Frebourg, T. (1999). Early-Onset Autosomal Dominant Alzheimer Disease: Prevalence, Genetic Heterogeneity, and Mutation Spectrum. *The American Journal of Human Genetics*, 65(3), pp.664-670.
- Cannon, J., Shen, L., Jhund, P., Kristensen, S., Køber, L., Chen, F., Gong, J., Lefkowitz, M., Rouleau, J., Shi, V., Swedberg, K., Zile, M., Solomon, S., Packer, M. and McMurray, J. (2016). Dementia-related adverse events in PARADIGM-HF and other trials in heart failure with reduced ejection fraction. *European Journal of Heart Failure*, 19(1), pp.129-137.
- Cardoso, S., Santana, I., Swerdlow, R. and Oliveira, C. (2004). Mitochondria dysfunction of Alzheimer's disease cybrids enhances A $\beta$  toxicity. *Journal of Neurochemistry*, 89(6), pp.1417-1426.

- Carey, I., Anderson, H., Atkinson, R., Beevers, S., Cook, D., Strachan, D., Dajnak, D., Gulliver, J. and Kelly, F. (2018). Are noise and air pollution related to the incidence of dementia? A cohort study in London, England. *BMJ Open*, 8(9), p.e022404.
- Carney, J., Smith, C., Carney, A. and Butterfield, D. (2006). Aging- and Oxygen-induced Modifications in Brain Biochemistry and Behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 738(1), pp.44-53.
- Cartier, L., Hartley, O., Dubois-Dauphin, M. and Krause, K. (2005). Chemokine receptors in the central nervous system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases. *Brain Research Reviews*, 48(1), pp.16-42.
- Catapano, A. and Papadopoulos, N. (2013). The safety of therapeutic monoclonal antibodies: Implications for cardiovascular disease and targeting the PCSK9 pathway. *Atherosclerosis*, 228(1), pp.18-28.
- Catindig, J., Venketasubramanian, N., Ikram, M. and Chen, C. (2012). Epidemiology of dementia in Asia: Insights on prevalence, trends and novel risk factors. *Journal of the Neurological Sciences*, 321(1-2), pp.11-16.
- CEBM. (2019). *Home - CEBM*. [online] Available at: <https://www.cebm.net/> [Accessed 9 Mar. 2019].
- Celi, F. and Shuldiner, A. (2002). The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes and obesity. *Current Diabetes Reports*, 2(2), pp.179-185.
- Chang, X., Tan, M., Tan, L. and Yu, J. (2015). The Role of TDP-43 in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 53(5), pp.3349-3359.
- Chang, K., Pee, H., Yang, S. and Ho, P. (2015). Influence of drug transporters and stereoselectivity on the brain penetration of pioglitazone as a potential medicine against Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 5(1).

## BIBLIOGRAFÍA

- Chawla, A., Boisvert, W., Lee, C., Laffitte, B., Barak, Y., Joseph, S., Liao, D., Nagy, L., Edwards, P., Curtiss, L., Evans, R. and Tontonoz, P. (2001). A PPAR $\gamma$ -LXR-ABCA1 Pathway in Macrophages Is Involved in Cholesterol Efflux and Atherogenesis. *Molecular Cell*, 7(1), pp.161-171.
- Cheeseman, K. and Slater, T. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), pp.481-493.
- Chen, C., Ouyang, P., Yeh, Y., Lai, C., Liu, C., Yen, C., Ko, C., Yen, J., Liu, G. and Juo, S. (2012). Apolipoprotein E Polymorphism and Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia in Patients With Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 26(2), pp.135-139.
- Chen, H., Kwong, J., Copes, R., Hystad, P., van Donkelaar, A., Tu, K., Brook, J., Goldberg, M., Martin, R., Murray, B., Wilton, A., Kopp, A. and Burnett, R. (2017). Exposure to ambient air pollution and the incidence of dementia: A population-based cohort study. *Environment International*, 108, pp.271-277.
- Chen, J., Kanai, Y., Cowan, N. and Hirokawa, N. (1992). Projection domains of MAP2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons. *Nature*, 360(6405), pp.674-677.
- Chen, Y., Vartiainen, N., Ying, W., Chan, P., Koistinaho, J. and Swanson, R. (2001). Astrocytes protect neurons from nitric oxide toxicity by a glutathione-dependent mechanism. *Journal of Neurochemistry*, 77(6), pp.1601-1610.
- Chihara, D., Ito, H., Matsuda, T., Shibata, A., Katsumi, A., Nakamura, S., Tomotaka, S., Morton, L., Weisenburger, D. and Matsuo, K. (2013). Differences in incidence and trends of haematological malignancies in Japan and the United States. *British Journal of Haematology*, 164(4), pp.536-545.

- Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(2), pp.621-629.
- Chui, H. and Ramirez-Gomez, L. (2015). Clinical and imaging features of mixed Alzheimer and vascular pathologies. *Alzheimer's Research & Therapy*, 7(1), p.21.
- Cífdalo, M., Osterloh, L., Graña, O., Riveiro-Falkenbach, E., Ximénez-Embún, P., Muñoz, J., Tejedó, C., Calvo, T., Karras, P., Olmeda, D., Miñana, B., Gómez-López, G., Cañon, E., Eyra, E., Guo, H., Kappes, F., Ortiz-Romero, P., Rodríguez-Peralto, J., Megías, D., Valcárcel, J. and Soengas, M. (2017). Systems analysis identifies melanoma-enriched pro-oncogenic networks controlled by the RNA binding protein CELF1. *Nature Communications*, 8(1).
- CIMA-AEMPS, (2019). [online] Available at: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html> [Accessed 10 Feb. 2019].
- Cima.aemps.es. (2019). [online] Available at: [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/53168/FT\\_53168.html.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/53168/FT_53168.html.pdf) [Accessed 5 Apr. 2019].
- Cirrito, J., Disabato, B., Restivo, J., Verges, D., Goebel, W., Sathyan, A., Hayreh, D., D'Angelo, G., Benzinger, T., Yoon, H., Kim, J., Morris, J., Mintun, M. and Sheline, Y. (2011). Serotonin signaling is associated with lower amyloid- levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(36), pp.14968-14973.
- Clinicaltrials.gov. (2019). *Minocycline in Patients With Alzheimer's Disease - Study Results - ClinicalTrials.gov*. [online] Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01463384?term=Minocycline&cond=Alzheimer+Disease&rank=1> [Accessed 10 Feb. 2019].

## BIBLIOGRAFÍA

- Clinicaltrials.gov. (2019). *Efficacy and Safety of LCZ696 Compared to Valsartan on Cognitive Function in Patients With Chronic Heart Failure and Preserved Ejection Fraction - Full Text View - ClinicalTrials.gov*. [online] Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02884206> [Accessed 15 Mar. 2019].
- Clinicaltrials.gov. (2019). *Multiple Dose Study of Aducanumab (BIIB037) (Recombinant, Fully Human Anti-A $\beta$  IgG1 mAb) in Participants With Prodromal or Mild Alzheimer's Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov*. [online] Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01677572> [Accessed 19 Mar. 2019].
- Clinicaltrials.gov. (2018). *Home - ClinicalTrials.gov*. [online] Available at: <https://clinicaltrials.gov/> [Accessed 30 Sep. 2018].
- Clinicaltrials.gov. (2019). *Home - ClinicalTrials.gov*. [online] Available at: <https://clinicaltrials.gov/> [Accessed 5 Mar. 2019].
- Clinicaltrialsregister.eu. (2019). *Clinical Trials Register*. [online] Available at: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search> [Accessed 6 Mar. 2019].
- Clark, C., Pontecorvo, M., Beach, T., Bedell, B., Coleman, R., Doraiswamy, P., Fleisher, A., Reiman, E., Sabbagh, M., Sadowsky, C., Schneider, J., Arora, A., Carpenter, A., Flitter, M., Joshi, A., Krautkramer, M., Lu, M., Mintun, M. and Skovronsky, D. (2012). Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid- $\beta$  plaques: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 11(8), pp.669-678.
- Cohen, A., Brauer, M., Burnett, R., Anderson, H., Frostad, J., Estep, K., Balakrishnan, K., Brunekreef, B., Dandona, L., Dandona, R., Feigin, V., Freedman, G., Hubbell, B., Jobling, A., Kan, H., Knibbs, L., Liu, Y., Martin, R., Morawska, L., Pope, C., Shin, H., Straif, K., Shaddick, G., Thomas, M., van Dingenen, R., van Donkelaar, A., Vos, T., Murray, C. and Forouzanfar, M. (2017). Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from

- the Global Burden of Diseases Study 2015. *The Lancet*, 389(10082), pp.1907-1918.
- Collin, C., Wade, D., Davies, S. and Horne, V. (1988). The Barthel ADL Index: A reliability study. *International Disability Studies*, 10(2), pp.61-63.
- Colton, C., Chernyshev, O., Gilbert, D. and Vitek, M. (2006). Microglial Contribution to Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), pp.292-307.
- Combs, C., Karlo, J., Kao, S. and Landreth, G. (2001).  $\beta$ -Amyloid Stimulation of Microglia and Monocytes Results in TNF $\alpha$ -Dependent Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase and Neuronal Apoptosis. *The Journal of Neuroscience*, 21(4), pp.1179-1188.
- Commenges, D., Joly, P., Letenneur, L. and Dartigues, J. (2004). Incidence and mortality of Alzheimer's disease or dementia using an illness-death model. *Statistics in Medicine*, 23(2), pp.199-210.
- Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Catálogo 2014, productos de Salud, 2014)
- Coon, K., Myers, A., Craig, D., Webster, J., Pearson, J., Lince, D., Zismann, V., Beach, T., Leung, D., Bryden, L., Halperin, R., Marlowe, L., Kaleem, M., Walker, D., Ravid, R., Heward, C., Rogers, J., Papassotiropoulos, A., Reiman, E., Hardy, J. and Stephan, D. (2007). A High-Density Whole-Genome Association Study Reveals That APOE Is the Major Susceptibility Gene for Sporadic Late-Onset Alzheimer's Disease. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 68(04), pp.613-618.
- Coraci, I., Husemann, J., Berman, J., Hulette, C., Dufour, J., Campanella, G., Luster, A., Silverstein, S. and El Khoury, J. (2002). CD36, a Class B Scavenger Receptor, Is Expressed on Microglia in Alzheimer's Disease Brains and Can Mediate Production

## BIBLIOGRAFÍA

of Reactive Oxygen Species in Response to  $\beta$ -Amyloid Fibrils. *The American Journal of Pathology*, 160(1), pp.101-112.

Corder, E., Saunders, A., Strittmatter, W., Schmechel, D., Gaskell, P., Small, G., Roses, A., Haines, J. and Pericak-Vance, M. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261(5123), pp.921-923.

Costandi, M. (2019). [online] Available at: <https://neurophilosophy.wordpress.com/2006/11/03/100-years-of-alzheimers-disease/s-disease>. Eur. Arch. Clin. Neurosci. 249: Suppl. 3 III/10- III-13. [Accessed 16 Feb. 2019].

Cowley, T., O'Sullivan, J., Blau, C., Deighan, B., Jones, R., Kerskens, C., Richardson, J., Virley, D., Upton, N. and Lynch, M. (2012). Rosiglitazone attenuates the age-related changes in astrogliosis and the deficit in LTP. *Neurobiology of Aging*, 33(1), pp.162-175.

Cramer, P., Cirrito, J., Wesson, D., Lee, C., Karlo, J., Zinn, A., Casali, B., Restivo, J., Goebel, W., James, M., Brunden, K., Wilson, D. and Landreth, G. (2012). ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear  $\beta$ -Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models. *Science*, 335(6075), pp.1503-1506.

Crapper, D., Krishnan, S. and Dalton, A. (1973). Brain Aluminum Distribution in Alzheimer's Disease and Experimental Neurofibrillary Degeneration. *Science*, 180(4085), pp.511-513.

Creavin, S., Wisniewski, S., Noel-Storr, A., Trevelyan, C., Hampton, T., Rayment, D., Thom, V., Nash, K., Elhamoui, H., Milligan, R., Patel, A., Tsivos, D., Wing, T., Phillips, E., Kellman, S., Shackleton, H., Singleton, G., Neale, B., Watton, M. and Cullum, S. (2016). Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of dementia in

clinically unevaluated people aged 65 and over in community and primary care populations. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

- Crossgrove, J., Li, G. and Zheng, W. (2005). The Choroid Plexus Removes  $\beta$ -Amyloid from Brain Cerebrospinal Fluid. *Experimental Biology and Medicine*, 230(10), pp.771-776.
- Crum, R. (1993). Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 269(18), pp.2386-2391.
- Cummings, J. (1993). Mini-Mental State Examination. *JAMA*, 269(18), p.2420.
- Cummings, J., Mega, M., Gray, K., Rosenberg-Thompson, S., Carusi, D. and Gornbein, J. (1994). The Neuropsychiatric Inventory: Comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*, 44(12), pp.2308-2308.
- Cummings, J. (1997). The Neuropsychiatric Inventory: Assessing psychopathology in dementia patients. *Neurology*, 48(Issue 5, Supplement 6), pp.10S-16S.
- Cummings, J., Zhong, K., Kinney, J., Heaney, C., Moll-Tudla, J., Joshi, A., Pontecorvo, M., Devous, M., Tang, A. and Bena, J. (2016). Double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept trial of bexarotene in moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 8(1).
- Dang, Z., Audinot, V., Papapoulos, S., Boutin, J. and Löwik, C. (2002). Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) as a Molecular Target for the Soy Phytoestrogen Genistein. *Journal of Biological Chemistry*, 278(2), pp.962-967.
- Das, S. and Chakrabarti, R. (2006). Role of PPAR in Cardiovascular Diseases. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*, 1(2), pp.193-209.

## BIBLIOGRAFÍA

- Davalos, D., Grutzendler, J., Yang, G., Kim, J., Zuo, Y., Jung, S., Littman, D., Dustin, M. and Gan, W. (2005). ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nature Neuroscience*, 8(6), pp.752-758.
- Davignon, J., Gregg, R. and Sing, C. (1988). Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis: An Official Journal of the American Heart Association, Inc.*, 8(1), pp.1-21.
- De Hoyos-Alonso, M., Bonis, J., Tapias-Merino, E., Castell, M. and Otero, A. (2016). Estimated prevalence of dementia based on analysis of drug databases in the Region of Madrid (Spain). *Neurología (English Edition)*, 31(1), pp.1-8.
- DeMichele-Sweet, M., Lopez, O. and Sweet, R. (2011). Psychosis in Alzheimer's Disease in the National Alzheimer's Disease Coordinating Center Uniform Data Set: Clinical Correlates and Association with Apolipoprotein E. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, pp.1-8.
- De Oliveira, F., Bertolucci, P., Chen, E. and Smith, M. (2014). Assessment of risk factors for earlier onset of sporadic Alzheimer's disease dementia. *Neurology India*, 62(6), p.625.
- Dean, R., Gieseg, S. and Davies, M. (1993). Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 18(11), pp.437-441.
- Deane, R., Du Yan, S., Subramanian, R., LaRue, B., Jovanovic, S., Hogg, E., Welch, D., Manness, L., Lin, C., Yu, J., Zhu, H., Ghiso, J., Frangione, B., Stern, A., Schmidt, A., Armstrong, D., Arnold, B., Liliensiek, B., Nawroth, P., Hofman, F., Kindy, M., Stern, D. and Zlokovic, B. (2003). RAGE mediates amyloid- $\beta$  peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nature Medicine*, 9(7), pp.907-913.

- Deane, R. (2004). RAGE (Yin) Versus LRP (Yang) Balance Regulates Alzheimer Amyloid - Peptide Clearance Through Transport Across the Blood-Brain Barrier. *Stroke*, 35(11\_suppl\_1), pp.2628-2631.
- Decourt, B., Lahiri, D. and Sabbagh, M. (2016). Targeting Tumor Necrosis Factor Alpha for Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 13(999), pp.1-1.
- Dei, R., Takeda, A., Niwa, H., Li, M., Nakagomi, Y., Watanabe, M., Inagaki, T., Washimi, Y., Yasuda, Y., Horie, K., Miyata, T. and Sobue, G. (2002). Lipid peroxidation and advanced glycation end products in the brain in normal aging and in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 104(2), pp.113-122.
- DeKosky, D., Harbaugh, R., Schmitt, F., Bakay, R., Chui, H., Knopman, D., Reeder, T., Shetter, A., Senter, H. and Markesbery, W. (1992). Cortical biopsy in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and neurochemical, neuropathological, and cognitive correlations. *Annals of Neurology*, 32(5), pp.625-632.
- Delerive, P., Furman, C., Teissier, E., Fruchart, J., Duriez, P. and Staels, B. (2000). Oxidized phospholipids activate PPAR $\alpha$  in a phospholipase A2-dependent manner. *FEBS Letters*, 471(1), pp.34-38.
- Devanand, D. (1999). The Interrelations Between Psychosis, Behavioral Disturbance, and Depression in Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 13, pp.S3-8.
- Devi, G. and Quitschke, W. (1999). Alois Alzheimer, Neuroscientist (1864-1915). *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 13(3), pp.132-137.
- Diniz, B., Butters, M., Albert, S., Dew, M. and Reynolds, C. (2013). Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *British Journal of Psychiatry*, 202(05), pp.329-335.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ditaranto, K., Tekirian, T. and Yang, A. (2001). Lysosomal Membrane Damage in Soluble A $\beta$ -Mediated Cell Death in Alzheimer's Disease. *Neurobiology of Disease*, 8(1), pp.19-31.
- Dong, L. and Weisgraber, K. (1996). Human Apolipoprotein E4 Domain Interaction. *Journal of Biological Chemistry*, 271(32), pp.19053-19057.
- Doody, R., Raman, R., Farlow, M., Iwatsubo, T., Vellas, B., Joffe, S., Kieburtz, K., He, F., Sun, X., Thomas, R., Aisen, P., Siemers, E., Sethuraman, G. and Mohs, R. (2013). A Phase 3 Trial of Semagacestat for Treatment of Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 369(4), pp.341-350.
- Dooley, M. and Lamb, H. (2000). Donepezil. *Drugs & Aging*, 16(3), pp.199-226.
- Doss, S., Wandinger, K., Hyman, B., Panzer, J., Synofzik, M., Dickerson, B., Mollenhauer, B., Scherzer, C., Ivinson, A., Finke, C., Schöls, L., Müller vom Hagen, J., Trenkwalder, C., Jahn, H., Höltje, M., Biswal, B., Harms, L., Ruprecht, K., Buchert, R., Höglinger, G., Oertel, W., Unger, M., Körtvélyessy, P., Bittner, D., Priller, J., Spruth, E., Paul, F., Meisel, A., Lynch, D., Dirnagl, U., Endres, M., Teegen, B., Probst, C., Komorowski, L., Stöcker, W., Dalmau, J. and Prüss, H. (2014). High prevalence of NMDA receptor IgA/IgM antibodies in different dementia types. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 1(10), pp.822-832.
- Drechsel, D., Hyman, A., Cobb, M. and Kirschner, M. (1992). Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular Biology of the Cell*, 3(10), pp.1141-1154.
- Dregan, A. and Gulliford, M. (2013). Leisure-time physical activity over the life course and cognitive functioning in late mid-adult years: a cohort-based investigation. *Psychological Medicine*, 43(11), pp.2447-2458.

- Dubois, B., Feldman, H., Jacova, C., DeKosky, S., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., Delacourte, A., Galasko, D., Gauthier, S., Jicha, G., Meguro, K., O'Brien, J., Pasquier, F., Robert, P., Rossor, M., Salloway, S., Stern, Y., Visser, P. and Scheltens, P. (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS–ADRDA criteria. *The Lancet Neurology*, 6(8), pp.734-746.
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavedo, E., Crutch, S., Dartigues, J., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G., Gauthier, S., Genthon, R., Gouw, A., Habert, M., Holtzman, D., Kivipelto, M., Lista, S., Molinuevo, J., O'Bryant, S., Rabinovici, G., Rowe, C., Salloway, S., Schneider, L., Sperling, R., Teichmann, M., Carrillo, M., Cummings, J. and Jack, C. (2016). *Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. Alzheimers Dementia*, 12(3),pp.292-323.
- Duong, T. and Gallagher, K. (1994). Immunoreactivity patterns in neurofibrillary tangles of the inferior temporal cortex in Alzheimer disease. *Molecular and Chemical Neuropathology*, 22(2), pp.105-122.
- Duyckaerts, C., Potier, M. and Delatour, B. (2007). Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathologica*, 115(1), pp.5-38.
- Eikelenboom, P. and van Gool, W. (2004). Neuroinflammatory perspectives on the two faces of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 111(3), pp.281-294.
- Ekdahl, C., Claassen, J., Bonde, S., Kokaia, Z. and Lindvall, O. (2003). Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23), pp.13632-13637.

## BIBLIOGRAFÍA

- El Khoury, J., Moore, K., Means, T., Leung, J., Terada, K., Toft, M., Freeman, M. and Luster, A. (2003). CD36 Mediates the Innate Host Response to  $\beta$ -Amyloid. *The Journal of Experimental Medicine*, 197(12), pp.1657-1666.
- Ellis, R., Olichney, J., Thal, L., Mirra, S., Morris, J., Beekly, D. and Heyman, A. (1996). Cerebral amyloid angiopathy in the brains of patients with Alzheimer's disease: The CERAD experience, part XV. *Neurology*, 46(6), pp.1592-1596.
- Elosua, R., Demissie, S., Cupples, L., Meigs, J., Wilson, P., Schaefer, E., Corella, D. and Ordovas, J. (2003). Obesity Modulates the Association amongAPOEGenotype, Insulin, and Glucose in Men. *Obesity Research*, 11(12), pp.1502-1508.
- Elsnerova, K., Bartakova, A., Tihlarik, J., Bouda, J., Rob, L., Skapa, P., Hruda, M., Gut, I., Mohelnikova-Duchonova, B., Soucek, P. and Vaclavikova, R. (2017). Gene Expression Profiling Reveals Novel Candidate Markers of Ovarian Carcinoma Intraperitoneal Metastasis. *Journal of Cancer*, 8(17), pp.3598-3606.
- Elstner, E., Muller, C., Koshizuka, K., Williamson, E., Park, D., Asou, H., Shintaku, P., Said, J., Heber, D. and Koeffler, H. (1998). Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BXN mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), pp.8806-8811.
- Engel, T. (2006). Full Reversal of Alzheimer's Disease-Like Phenotype in a Mouse Model with Conditional Overexpression of Glycogen Synthase Kinase-3. *Journal of Neuroscience*, 26(19), pp.5083-5090.
- Erkinjuntti, T. (1999). Cerebrovascular Dementia. *CNS Drugs*, 12(1), pp.35-48.
- Espeland, M., Rapp, S., Shumaker, S., Brunner, R., Manson, J., Sherwin, B., Hsia, J., Margolis, K., Hogan, P., Wallace, R., Dailey, M., Freeman, R. and Hays, J. (2004). Conjugated Equine Estrogens and Global Cognitive Function in Postmenopausal

- Women: Womens Health Initiative Memory Study. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 59(10), pp.712-714.
- Etindele Sosso, F., Nakamura, O. and Nakamura, M. (2017). Epidemiology of Alzheimer's Disease: Comparison between Africa and South America. *Journal of Neurology and Neuroscience*, 08(04).
- Eur-lex.europa.eu. (2019). *EUR-Lex - 32014R0536 - EN - EUR-Lex*. [online] Available at: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?qid=1401310984740&uri=OJ:JOL\\_2014\\_158\\_R\\_0001](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?qid=1401310984740&uri=OJ:JOL_2014_158_R_0001) [Accessed 5 Apr. 2019].
- European Medicines Agency. (2018). *Targretin - European Medicines Agency*. [online] Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/targretin> [Accessed 10 Oct. 2018].
- Evans, D., Hebert, L., Beckett, L., Scherr, P., Albert, M., Chown, M., Pilgrim, D. and Taylor, J. (1997). Education and Other Measures of Socioeconomic Status and Risk of Incident Alzheimer Disease in a Defined Population of Older Persons. *Archives of Neurology*, 54(11), pp.1399-1405.
- Evans, D., Rank, K., Bhattacharya, K., Thomsen, D., Gurney, M. and Sharma, S. (2000). Tau Phosphorylation at Serine 396 and Serine 404 by Human Recombinant Tau Protein Kinase II Inhibits Tau's Ability to Promote Microtubule Assembly. *Journal of Biological Chemistry*, 275(32), pp.24977-24983.
- Faems, D. (2008). Open Innovation: Researching a New Paradigm - By H. Chesbrough, W. Vanhaverbeke and J. West. *Creativity and Innovation Management*, 17(4), pp.334-335.
- Fagan, A., Roe, C., Xiong, C., Mintun, M., Morris, J., Holtzman, D. (2007). Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid (42) ratio as a prediction of cognitive decline in

## BIBLIOGRAFÍA

- nondemented older adults. *Arch. Neurol.* 64, 343–349. doi: 10.1001/archneur.64.3.noc60123
- Falkevall, A., Alikhani, N., Bhushan, S., Pavlov, P., Busch, K., Johnson, K., Eneqvist, T., Tjernberg, L., Ankarcrona, M. and Glaser, E. (2006). Degradation of the Amyloid  $\beta$ -Protein by the Novel Mitochondrial Peptidasome, *PreP. Journal of Biological Chemistry*, 281(39), pp.29096-29104.
- Farrer, L. (1997). Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease. *JAMA*, 278(16), p.1349.
- Farris, W., Mansourian, S., Chang, Y., Lindsley, L., Eckman, E., Frosch, M., Eckman, C., Tanzi, R., Selkoe, D. and Guenette, S. (2003). Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid  $\beta$ -protein, and the  $\beta$ -amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(7), pp.4162-4167.
- Fda.gov. (2012). *Comunicado de la FDA sobre la seguridad de los medicamentos: Cambios importantes en la etiqueta de seguridad de los medicamentos para reducir el colesterol conocidos como estatinas.* [online] Available at: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm294600.htm> [Accessed 5 Apr. 2019].
- Feige, J., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B. and Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Progress in Lipid Research*, 45(2), pp.120-159.
- Fellin, T., Pascual, O., Gobbo, S., Pozzan, T., Haydon, P. and Carmignoto, G. (2004). Neuronal Synchrony Mediated by Astrocytic Glutamate through Activation of Extrasynaptic NMDA Receptors. *Neuron*, 43(5), pp.729-743.

- Fernandes, M., Proenca, M., Nogueira, A., Grazina, M., Oliveira, L., Fernandes, A., Santiago, B., Santana, I. and Oliveira, C. (1999). Influence of apolipoprotein E genotype on blood redox status of Alzheimer's disease patients. *International Journal of Molecular Medicine*.
- Ferri, C., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., et al (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*, 366(9503), pp.2112–7.
- Fillit, H., Weinreb, H., Cholst, I., Luine, V., McEwen, B., Amador, R. and Zabriskie, J. (1986). Observations in a preliminary open trial of estradiol therapy for senile dementia-alzheimer's type. *Psychoneuroendocrinology*, 11(3), pp.337-345.
- Finniss, D., Kaptchuk, T., Miller, F. and Benedetti, F. (2010). Biological, clinical, and ethical advances of placebo effects. *The Lancet*, 375(9715), pp.686-695.
- Fitzpatrick, L. (2003). Phytoestrogens—mechanism of action and effect on bone markers and bone mineral density. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 32(1), pp.233-252.
- Flicker, L. (2010). Modifiable Lifestyle Risk Factors for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(3), pp.803-811.
- Flórez, J., Armijo, J. and Mediavilla, A. (2014). *Farmacología humana*. Barcelona: Elsevier Masson.
- Folstein, M., Folstein, S. and McHugh, P. (1975). “Mini-mental state”. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), pp.189-198.
- Frances, A., Pincus, H. and First, M. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. Washington: American Psychiatric Association.

## BIBLIOGRAFÍA

- Franz, G., Beer, R., Kampfl, A., Engelhardt, K., Schmutzhard, E., Ulmer, H. and Deisenhammer, F. (2003). Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *Neurology*, 60(9), pp.1457-1461.
- Frautschy, S. (1998). *Microglial response to amyloid plaques in APPsw transgenic mice.* [online] PubMed Central (PMC). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1858113/> [Accessed 10 Feb. 2019].
- Frisoni, G., Galluzzi, S., Signorini, M., Garibotto, V., Paghera, B., Binetti, G., Canu, E., Geroldi, C. and Perani, D. (2010). Preliminary Evidence of Validity of the Revised Criteria for Alzheimer Disease Diagnosis. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 24(1), pp.108-114.
- Fundaciogrifols.org. (2019). [online] Available at: <https://www.fundaciogrifols.org/documents/4662337/4688901/cap17.pdf/db47f0c2-dbc4-419e-8fbb-51d8b4788dca> [Accessed 16 Mar. 2019].
- Gabin, J., Tambs, K., Saltvedt, I., Sund, E. and Holmen, J. (2017). Association between blood pressure and Alzheimer disease measured up to 27 years prior to diagnosis: the HUNT Study. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9(1).
- Galetto, R., Albajar, M., Polanco, J., Zakin, M. and Rodríguez-Rey, J. (2001). Identification of a peroxisome-proliferator-activated-receptor response element in the apolipoprotein E gene control region. *Biochemical Journal*, 357(2), p.521.
- Gamba, P., Leonarduzzi, G., Tamagno, E., Guglielmotto, M., Testa, G., Sottero, B., Gargiulo, S., Biasi, F., Mauro, A., Viña, J. and Poli, G. (2011). Interaction between 24-hydroxycholesterol, oxidative stress, and amyloid- $\beta$  in amplifying neuronal damage in Alzheimer's disease: three partners in crime. *Aging Cell*, 10(3), pp.403-417.

- Garcia-Alloza, M., Ferrara, B., Dodwell, S., Hickey, G., Hyman, B. and Bacskai, B. (2007). A limited role for microglia in antibody mediated plaque clearance in APP mice. *Neurobiology of Disease*, 28(3), pp.286-292.
- Garcia-Ptacek, S., Farahmand, B., Kåreholt, I., Religa, D., Cuadrado, M. and Eriksdotter, M. (2014). Mortality Risk after Dementia Diagnosis by Dementia Type and Underlying Factors: A Cohort of 15,209 Patients based on the Swedish Dementia Registry. *Journal of Alzheimer's Disease*, 41(2), pp.467-477.
- García-Ribas, G., Arbizu, J., Carrió, I., Garrastachu, P. and Martinez-Lage, P. (2017). Biomarcadores por tomografía por emisión de positrones (PET): imagen de la patología de Alzheimer y la neurodegeneración al servicio del diagnóstico clínico. *Neurología*, 32(5), pp.275-277.
- Gareri, P., Castagna, A., Cotroneo, A., Putignano, S., De Sarro, G. and Bruni, A. (2015). The role of citicoline in cognitive impairment: pharmacological characteristics, possible advantages, and doubts for an old drug with new perspectives. *Clinical Interventions in Aging*, p.1421.
- Garre Olmo, J. (2018). Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Revista de Neurología*, 66(11), p.377.
- Gasic-Milenkovic, J., Loske, C. and Münch, G. (2003). Advanced glycation endproducts cause lipid peroxidation in the human neuronal cell line SH-SY5Y. *Journal of Alzheimer's Disease*, 5(1), pp.25-30.
- Gaugler, J., Kane, R., Johnston, J. and Sarsour, K. (2013). Sensitivity and Specificity of Diagnostic Accuracy in Alzheimer's Disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 28(4), pp.337-347.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ghebranious, N., Mukesh, B., Giampietro, P., Glurich, I., Mickel, S., Waring, S. and McCarty, C. (2010). A Pilot Study of Gene/Gene and Gene/Environment Interactions in Alzheimer Disease. *Clinical Medicine & Research*, 9(1), pp.17-25.
- Ghisso, J., Shayo, M., Calero, M., Ng, D., Tomidokoro, Y., Gandy, S., Rostagno, A. and Frangione, B. (2004). Systemic Catabolism of Alzheimer's A $\beta$ 40 and A $\beta$ 42. *Journal of Biological Chemistry*, 279(44), pp.45897-45908.
- Gilley, D., Bienias, J., Wilson, R., Bennett, D., Beck, T. and Evans, D. (2004). Influence of behavioral symptoms on rates of institutionalization for persons with Alzheimer's disease. *Psychological Medicine*, 34(6), pp.1129-1135.
- Glenner, G. and Wong, C. (1984). Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 120(3), pp.885-890.
- Goate, A., Chartier-Harlin, M., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. and Hardy, J. (1991). Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349(6311), pp.704-706.
- Goedert, M., Spillantini, M. and Crowther, R. (1991). Tau Proteins and Neurofibrillary Degeneration. *Brain Pathology*, 1(4), pp.279-286.
- Goedert, M. and Jakes, R. (2005). Mutations causing neurodegenerative tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1739(2-3), pp.240-250.
- Goedert, M., Spillantini, M., Cairns, N. and Crowther, R. (1992). Tau proteins of alzheimer paired helical filaments: Abnormal phosphorylation of all six brain isoforms. *Neuron*, 8(1), pp.159-168.

- Gómez-Isla, T., Price, J., McKeel Jr., D., Morris, J., Growdon, J. and Hyman, B. (1996). Profound Loss of Layer II Entorhinal Cortex Neurons Occurs in Very Mild Alzheimer's Disease. *The Journal of Neuroscience*, 16(14), pp.4491-4500.
- Gonfrier, S., Andrieu, S., Renaud, D., Vellas, B. and Robert, P. (2011). Course of neuropsychiatric symptoms during a 4-year follow up in the REAL-FR cohort. *The journal of nutrition, health & aging*, 16(2), pp.134-137.
- Gong, C., Grundke-Iqbal, I., Damuni, Z. and Iqbal, K. (1994). Dephosphorylation of microtubule-associated protein tau by protein phosphatase-1 and -2C and its implication in Alzheimer disease. *FEBS Letters*, 341(1), pp.94-98.
- Gonzalez-Marrero, I., Gimenez-Llort, L., Johanson, C., Carmona-Calero, E., Castaneyra-Ruiz, L., Brito-Armas, J., Castaneyra-Perdomo, A. and Castro-Fuentes, R. (2015). Choroid plexus dysfunction impairs beta-amyloid clearance in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9.
- Good, P., Perl, D., Bierer, L. and Schmeidler, J. (1992). Selective accumulation of aluminum and iron in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: A laser microprobe (LAMMA) study. *Annals of Neurology*, 31(3), pp.286-292.
- Gotink, K. and Verheul, H. (2009). Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: what is their mechanism of action?. *Angiogenesis*, 13(1), pp.1-14.
- Gould, E., McEwen, B., Tanapat, P., Galea, L. and Fuchs, E. (1997). Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Tree Shrew Is Regulated by Psychosocial Stress and NMDA Receptor Activation. *The Journal of Neuroscience*, 17(7), pp.2492-2498.
- Graeber, M. and Mehraein, P. (1999). Reanalysis of the first case of Alzheimer's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 249(S3), pp.S10-S13.
- Green, R., Cupples, L., Kurz, A., Auerbach, S., Go, R., Sadovnick, D., Duara, R., Kukull, W., Chui, H., Edeki, T., Griffith, P., Friedland, R., Bachman, D. and Farrer, L. (2003).

## BIBLIOGRAFÍA

- Depression as a Risk Factor for Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 60(5), p.753.
- Gregori, L., Fuchs, C., Figueiredo-Pereira, M., Van Nostrand, W. and Goldgaber, D. (1995). Amyloid  $\beta$ -Protein Inhibits Ubiquitin-dependent Protein Degradation in Vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 270(34), pp.19702-19708.
- Grygiel-Górniak, B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications - a review. *Nutrition Journal*, 13(1).
- Gruden, M., Davidova, T., Mališauskas, M., Sewell, R., Voskresenskaya, N., Wilhelm, K., Elistratova, E., Sherstnev, V. and Morozova-Roche, L. (2007). Differential neuroimmune markers to the onset of Alzheimer's disease neurodegeneration and dementia: Autoantibodies to  $A\beta(25-35)$  oligomers, S100b and neurotransmitters. *Journal of Neuroimmunology*, 186(1-2), pp.181-192.
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y., Quinlan, M., Wisniewski, H. and Binder, L. (1987). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein? (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 1(3), p.202.
- Gtr.ukri.org. (2019). *GtR*. [online] Available at: [https://gtr.ukri.org/projects?ref=MC\\_PC\\_13091](https://gtr.ukri.org/projects?ref=MC_PC_13091) [Accessed 10 Feb. 2019].
- Guehne, U., Riedel-Heller, S. and Angermeyer, M. (2005). Mortality in Dementia. *Neuroepidemiology*, 25(3), pp.153-162.
- Guthold, R., Ono, T., Strong, K., Chatterji, S. and Morabia, A. (2008). Worldwide Variability in Physical Inactivity. *American Journal of Preventive Medicine*, 34(6), pp.486-494.
- Guyatt, G. (1991). Evidence-based medicine. *American College of Physicians Journal Club*, 114(2), pp.16.

- Hachinski, V. (1974). Multi-infarct dementia, a cause of mental deterioration in the elderly. *The Lancet*, 304(7874), pp.207-209.
- Hall, E. and Braughler, J. (1986). Role of Lipid Peroxidation in Post-Traumatic Spinal Cord Degeneration: A Review. *Central Nervous System Trauma*, 3(4), pp.281-294.
- Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *Journal of Neurochemistry*, 97(6), pp.1634-1658.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. (1988). Free Radicals and Antioxidant Protection: Mechanisms and Significance in Toxicology and Disease. *Human Toxicology*, 7(1), pp.7-13.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(1), pp.125-126.
- Hamer, M. and Chida, Y. (2008). Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychological Medicine*, 39(01), p.3.
- Hanns Hippus, G. (2003). *The discovery of Alzheimer's disease. Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5(1), pp 101–108.
- Han, S., Kim, Y. and Mook-Jung, I. (2011). RAGE: The beneficial and deleterious effects by diverse mechanisms of actions. *Molecules and Cells*, 31(2), pp.91-97.
- Harbour, R. and Miller, J. (2001). A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ*, 323(7308), pp.334-336.
- Harman, D. (1956). Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3), pp.298-300.
- Harris, J. (n.d.). *Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease*.
- Harris, J. (2012). *Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease* [recurso electrónico] Šc. Paisas Bajos: Springer Netherlands.

## BIBLIOGRAFÍA

- Harris, R. (2001). *Current methods of the US Preventive Services Task Force: a review of the process. American Journal of preventive medicine*, 20(3), pp.21-35.
- Harris, F., Brecht, W., Xu, Q., Tesseur, I., Kekonius, L., Wyss-Coray, T., Fish, J., Masliah, E., Hopkins, P., Scearce-Levie, K., Weisgraber, K., Mucke, L., Mahley, R. and Huang, Y. (2003). Carboxyl-terminal-truncated apolipoprotein E4 causes Alzheimer's disease-like neurodegeneration and behavioral deficits in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(19), pp.10966-10971.
- Hatters, D., Zhong, N., Rutenber, E. and Weisgraber, K. (2006). Amino-terminal Domain Stability Mediates Apolipoprotein E Aggregation into Neurotoxic Fibrils. *Journal of Molecular Biology*, 361(5), pp.932-944.
- Hayashi, H., Campenot, R., Vance, D. and Vance, J. (2007). Apolipoprotein E-Containing Lipoproteins Protect Neurons from Apoptosis via a Signaling Pathway Involving Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-1. *Journal of Neuroscience*, 27(8), pp.1933-1941.
- Hebert, L., Weuve, J., Scherr, P. and Evans, D. (2013). Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, 80(19), pp.1778-1783.
- Hebert, L., Bienias, J., Aggarwal, N., Wilson, R., Bennett, D., Shah, R. and Evans, D. (2010). Change in risk of Alzheimer disease over time. *Neurology*, 75(9), pp.786-791.
- Henderson, V. (1994). Estrogen Replacement Therapy in Older Women. *Archives of Neurology*, 51(9), p.896.
- Heneka, M. and Obanion, M. (2007). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 184(1-2), pp.69-91.
- Hensley, K., Carney, J., Mattson, M., Aksenova, M., Harris, M., Wu, J., Floyd, R. and Butterfield, D. (1994). A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity

- based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(8), pp.3270-3274.
- Hermon, M., Cairns, N., Egly, J., Fery, A., Olga Labudova and Lubec, G. (1998). Expression of DNA excision-repair-cross-complementing proteins p80 and p89 in brain of patients with Down Syndrome and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 251(1), pp.45-48.
- Hickman, S., Allison, E. and El Khoury, J. (2008). Microglial Dysfunction and Defective - Amyloid Clearance Pathways in Aging Alzheimer's Disease Mice. *Journal of Neuroscience*, 28(33), pp.8354-8360.
- Hodges, J. (1995). Semantic dementia: progressive fluent aphasia with temporal lobe atrophy. *Neurocase*, 1(1), pp.39g-54.
- Holmes, C., Arranz, M., Collier, D., Powell, J. and Lovestone, S. (2003). Depression in Alzheimer's disease: The effect of serotonin receptor gene variation. *American Journal of Medical Genetics*, 119B(1), pp.40-43.
- Holtzman, D., Bales, K., Tenkova, T., Fagan, A., Parsadonian, M., Sartorius, L., Mackey, B., Olney, J., McKeel, D., Wozniak, D. and Paul, S. (2000a). Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(6), pp.2892-2897.
- Holtzman, D., Fagan, A., Mackey, B., Tenkova, T., Sartorius, L., Paul, S., Bales, K., Hsiao Ashe, K., Irizarry, M. and Hyman, B. (2000b). Apolipoprotein E facilitates neuritic and cerebrovascular plaque formation in an Alzheimer's disease model. *Annals of Neurology*, 47(6), pp.739-747.
- Hoshi, M., Takashima, A., Noguchi, K., Murayama, M., Sato, M., Kondo, S., Saitoh, Y., Ishiguro, K., Hoshino, T. and Imahori, K. (1996). Regulation of mitochondrial

## BIBLIOGRAFÍA

pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3beta in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(7), pp.2719-2723.

Howard, R., McShane, R., Lindesay, J., Ritchie, C., Baldwin, A., Barber, R., Burns, A., Dening, T., Findlay, D., Holmes, C., Hughes, A., Jacoby, R., Jones, R., Jones, R., McKeith, I., Macharouthu, A., O'Brien, J., Passmore, P., Sheehan, B., Juszczak, E., Katona, C., Hills, R., Knapp, M., Ballard, C., Brown, R., Banerjee, S., Onions, C., Griffin, M., Adams, J., Gray, R., Johnson, T., Bentham, P. and Phillips, P. (2012). Donepezil and Memantine for Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 366(10), pp.893-903.

Hotamisligil, G., Arner, P., Caro, J., Atkinson, R. and Spiegelman, B. (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 95(5), pp.2409-2415.

Hoyer, S., Lannert, H., Nöldner, M. and Chatterjee, S. (1999). Damaged neuronal energy metabolism and behavior are improved by Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Journal of Neural Transmission*, 106(11-12), pp.1171-1188.

Huang, H., Zhao, J., Xu, B., Ma, X., Dai, Q., Li, T., Xue, F. and Chen, B. (2016). The TOMM40 gene rs2075650 polymorphism contributes to Alzheimer's disease in Caucasian, and Asian populations. *Neuroscience Letters*, 628, pp.142-146.

Huang, Y., Liu, X., Wyss-Coray, T., Brecht, W., Sanan, D. and Mahley, R. (2001). Apolipoprotein E fragments present in Alzheimer's disease brains induce neurofibrillary tangle-like intracellular inclusions in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(15), pp.8838-8843.

Huang, Y., Weisgraber, K., Mucke, L. and Mahley, R. (2004). Apolipoprotein E: Diversity of Cellular Origins, Structural and Biophysical Properties, and Effects in Alzheimer's Disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 23(3), pp.189-204.

- Huang, Y. and Mahley, R. (2014). Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiology of Disease*, 72, pp.3-12.
- Humphries, A., Streimann, I., Stojanovski, D., Johnston, A., Yano, M., Hoogenraad, N. and Ryan, M. (2005). Dissection of the Mitochondrial Import and Assembly Pathway for Human Tom40. *Journal of Biological Chemistry*, 280(12), pp.11535-11543.
- Hwang, C., Kwak, H., Lim, H., Lee, S., Kang, Y., Choe, T., Hur, H. and Han, K. (2006). Isoflavone metabolites and their in vitro dual functions: They can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 101(4-5), pp.246-253.
- Hyman, B. (2011). Amyloid-Dependent and Amyloid-Independent Stages of Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 68(8), p.1062.
- Ich.org. (2019). *Good Clinical Practice (GCP) : ICH*. [online] Available at: <https://www.ich.org/products/guidelines/efficacy/efficacy-single/article/integrated-addendum-good-clinical-practice.html> [Accessed 5 Mar. 2019].
- Ida, N., Masters, C. and Beyreuther, K. (1996). Rapid cellular uptake of Alzheimer amyloid  $\beta$ A4 peptide by cultured human neuroblastoma cells. *FEBS Letters*, 394(2), pp.174-178.
- Imbimbo, B. (2010). Are NSAIDs useful to treat Alzheimer's disease or mild cognitive impairment?. *Frontiers in Aging Neuroscience*.
- In 't Veld, B., Ruitenbergh, A., Hofman, A., Launer, L., van Duijn, C., Stijnen, T., Breteler, M. and Stricker, B. (2001). Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and the Risk of Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 345(21), pp.1515-1521.

## BIBLIOGRAFÍA

- INE.es. (2019). *Instituto Nacional de Estadística. (Spanish Statistical Office)*. [online] Available at: <https://www.ine.es/> [Accessed 23 Feb. 2019].
- Iqbal, K., Flory, M., Khatoon, S., Soininen, H., Pirttila, T., Lehtovirta, M., Alafuzoff, I., Blennow, K., Andreasen, N., Vanmechelen, E. and Grundke-Iqbal, I. (2005). Subgroups of Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid molecular markers. *Annals of Neurology*, 58(5), pp.748-757.
- Irizarry, M., Cheung, B., Rebeck, G., Paul, S., Bales, K. and Hyman, B. (2000). Apolipoprotein E affects the amount, form, and anatomical distribution of amyloid  $\beta$ -peptide deposition in homozygous APP V717F transgenic mice. *Acta Neuropathologica*, 100(5), pp.451-458.
- Iwata, N. (2001). Metabolic Regulation of Brain Abeta by Nephilysin. *Science*, 292(5521), pp.1550-1552.
- Jack, C., Knopman, D., Jagust, W., Shaw, L., Aisen, P., Weiner, M., Petersen, R. and Trojanowski, J. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9(1), pp.119-128.
- Jack, C., Bennett, D., Blennow, K., Carrillo, M., Dunn, B., Haeberlein, S., Holtzman, D., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K., Rowe, C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H., Sperling, R., Elliott, C., Masliah, E., Ryan, L. and Silverberg, N. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(4), pp.535-562.
- Janke, A., Zubizaray, G., Rose, S., Griffin, M., Chalk, J. and Galloway, G. (2001). 4D deformation modeling of cortical disease progression in Alzheimer's dementia. *Magnetic Resonance in Medicine*, 46(4), pp.661-666.

- Jellinger, K. (2008). Neuropathological Aspects of Alzheimer Disease, Parkinson Disease and Frontotemporal Dementia. *Neurodegenerative Diseases*, 5(3-4), pp.118-121.
- Jellinger, K. (2008b). The Pathology of “Vascular Dementia”: A Critical Update. *Journal of Alzheimer's Disease*, 14(1), pp.107-123.
- Jellinger, K., Paulus, W., Grundke-Iqbal, I., Riederer, P. and Youdim, M. (1990). Brain iron and ferritin in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Journal of neural transmission. Parkinson's disease and dementia.*, 2(4),pp.327-40.
- Jiang, Q., Lee, C., Mandrekar, S., Wilkinson, B., Cramer, P., Zelcer, N., Mann, K., Lamb, B., Willson, T., Collins, J., Richardson, J., Smith, J., Comery, T., Riddell, D., Holtzman, D., Tontonoz, P. and Landreth, G. (2008). ApoE Promotes the Proteolytic Degradation of A $\beta$ . *Neuron*, 58(5), pp.681-693.
- Jiménez Jiménez, F., Alonso Navarro, H., Ayuso Peralta, L. and Jabbour Wadih, T. (2006). Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 42(07), p.419.
- John, G., Lee, S. and Brosnan, C. (2003). Cytokines: Powerful Regulators of Glial Cell Activation. *The Neuroscientist*, 9(1), pp.10-22.
- Johnson, K. (1993). *The retinoids: Biology, chemistry and medicine (second edition)*.
- Johnson, K., Schultz, A., Betensky, R., Becker, J., Sepulcre, J., Rentz, D., Mormino, E., Chhatwal, J., Amariglio, R., Papp, K., Marshall, G., Albers, M., Mauro, S., Pepin, L., Alverio, J., Judge, K., Philiossaint, M., Shoup, T., Yokell, D., Dickerson, B., Gomez-Isla, T., Hyman, B., Vasdev, N. and Sperling, R. (2015). Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, 79(1), pp.110-119.

## BIBLIOGRAFÍA

- Johnson, W., Harris, S., Starr, J., Whalley, L. and Deary, I. (2008). PPARG Pro12Ala genotype and risk of cognitive decline in elders? Maybe with diabetes. *Neuroscience Letters*, 434(1), pp.50-55.
- Jorm, A., Van Duijn, C., Chandra, V., Fratiglioni, L., Graves, A., Heyman, A., Kokmen, E., Kondo, K., Mortimer, J., Rocca, W., Shalat, S. and Soininen, H. (1991). Psychiatric History and Related Exposures as Risk Factors for Alzheimer's Disease: A Collaborative Re-Analysis of Case-Control Studies. *International Journal of Epidemiology*, 20(Supplement 2), pp.S43-S47.
- Jorm, A. and Korten, A. (1988). Assessment of Cognitive Decline in the Elderly by Informant Interview. *British Journal of Psychiatry*, 152(02), pp.209-213.
- Jutten, R., Harrison, J., de Jong, F., Aleman, A., Ritchie, C., Scheltens, P. and Sikkes, S. (2017). A composite measure of cognitive and functional progression in Alzheimer's disease: Design of the Capturing Changes in Cognition study. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 3(1), pp.130-138.
- Kalaria, R. (2010). Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutrition Reviews*, 68, pp.S74-S87.
- Kalaria, R., Maestre, G., Arizaga, R., Friedland, R., Galasko, D., Hall, K., Luchsinger, J., Oggunniyi, A., Perry, E., Potocnik, F., Prince, M., Stewart, R., Wimo, A., Zhang, Z. and Antuono, P. (2008). Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *The Lancet Neurology*, 7(9), pp.812-826.
- Kalinin, S., González-Prieto, M., Scheiblich, H., Lisi, L., Kusumo, H., Heneka, M., Madrigal, J., Pandey, S. and Feinstein, D. (2018). Transcriptome analysis of alcohol-treated microglia reveals downregulation of beta amyloid phagocytosis. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1).

- Kamalinia, G., Khodagholi, F., Atyabi, F., Amini, M., Shaerzadeh, F., Sharifzadeh, M. and Dinarvand, R. (2013). Enhanced Brain Delivery of Deferasirox–Lactoferrin Conjugates for Iron Chelation Therapy in Neurodegenerative Disorders: In Vitro and in Vivo Studies. *Molecular Pharmaceutics*, 10(12), pp.4418-4431.
- Kamboh, M., Barmada, M., Demirci, F., Minster, R., Carrasquillo, M., Pankratz, V., Younkin, S., Saykin, A., Sweet, R., Feingold, E., DeKosky, S. and Lopez, O. (2011). Genome-wide association analysis of age-at-onset in Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*, 17(12), pp.1340-1346.
- Kamenetz, F., Tomita, T., Hsieh, H., Seabrook, G., Borchelt, D., Iwatsubo, T., Sisodia, S. and Malinow, R. (2003). APP Processing and Synaptic Function. *Neuron*, 37(6), pp.925-937.
- Kandiah, N., Ong, P., Yuda, T., Ng, L., Mamun, K., Merchant, R., Chen, C., Dominguez, J., Marasigan, S., Ampil, E., Nguyen, V., Yusoff, S., Chan, Y., Yong, F., Krairit, O., Suthisang, C., Senanarong, V., Ji, Y., Thukral, R. and Ihl, R. (2019). Treatment of dementia and mild cognitive impairment with or without cerebrovascular disease: Expert consensus on the use of Ginkgo biloba extract, EGb 761®. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 25(2), pp.288-298.
- Kang, J., Jiang, L., Goldman, S. and Nedergaard, M. (1998). Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission. *Nature Neuroscience*, 1(8), pp.683-692.
- Kang, J., Lemaire, H., Unterbeck, A., Salbaum, J., Masters, C., Grzeschik, K., Multhaup, G., Beyreuther, K. and Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 1(3), pp.206-207.

## BIBLIOGRAFÍA

- Kang, S., Choi, S., Lee, B., Jeong, Y., Hahm, D., Han, I., Cummings, J. and Na, D. (2004). Caregiver-Administered Neuropsychiatric Inventory (CGA-NPI). *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 17(1), pp.32-35.
- Kataoka, K., Hashimoto, H., Kawabe, J., Higashiyama, S., Akiyama, H., Shimada, A., Kai, T., Inoue, K., Shiomi, S. and Kiriike, N. (2010). Frontal hypoperfusion in depressed patients with dementia of Alzheimer type demonstrated on 3DSRT. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 64(3), pp.293-298.
- Kaufer, D. (2000). Validation of the NPI-Q, a Brief Clinical Form of the Neuropsychiatric Inventory. *Journal of Neuropsychiatry*, 12(2), pp.233-239.
- Kawahara, K., Suenobu, M., Ohtsuka, H., Kuniyasu, A., Sugimoto, Y., Nakagomi, M., Fukasawa, H., Shudo, K. and Nakayama, H. (2014). Cooperative Therapeutic Action of Retinoic Acid Receptor and Retinoid X Receptor Agonists in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 42(2), pp.587-605.
- Kearney, P., Whelton, M., Reynolds, K., Muntner, P., Whelton, P. and He, J. (2005). Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *The Lancet*, 365(9455), pp.217-223.
- Keene, C., Cudaback, E., Li, X., Montine, K. and Montine, T. (2011). Apolipoprotein E isoforms and regulation of the innate immune response in brain of patients with Alzheimer's disease. *Current Opinion in Neurobiology*, 21(6), pp.920-928.
- Keller, J., Hanni, K. and Markesbery, W. (2001). Impaired Proteasome Function in Alzheimer's Disease. *Journal of Neurochemistry*, 75(1), pp.436-439.
- Kellermann, A. and Kloft, C. (2011). Is There a Risk of Bleeding Associated with Standardized Ginkgo biloba Extract Therapy? A Systematic Review and Meta-analysis. *Pharmacotherapy*, 31(5), pp.490-502.

- Kelly, J., Filley, C., Wilson, R. and Bennett, D. (2004). Proneness to psychological distress is associated with risk of Alzheimer's disease. *Neurology*, 63(5), pp.941-941.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C., Reynolds, K. and He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity*, 32(9), pp.1431-1437.
- Keränen, T., Halkoaho, A., Itkonen, E. and Pietilä, A. (2015). Placebo-controlled clinical trials: how trial documents justify the use of randomisation and placebo. *BMC Medical Ethics*, 16(1).
- Kessler, R., Birnbaum, H., Shahly, V., Bromet, E., Hwang, I., McLaughlin, K., Sampson, N., Andrade, L., de Girolamo, G., Demyttenaere, K., Haro, J., Karam, A., Kostyuchenko, S., Kovess, V., Lara, C., Levinson, D., Matschinger, H., Nakane, Y., Browne, M., Ormel, J., Posada-Villa, J., Sagar, R. and Stein, D. (2010). Age differences in the prevalence and co-morbidity of DSM-IV major depressive episodes: results from the WHO World Mental Health Survey Initiative. *Depression and Anxiety*, 27(4), pp.351-364.
- Khan, A., Corbett, A. and Ballard, C. (2017). Emerging treatments for Alzheimer's disease for non-amyloid and non-tau targets. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 17(7), pp.683-695.
- Kiddle, S., Thambisetty, M., Simmons, A., Riddoch-Contreras, J., Hye, A., Westman, E., Pike, I., Ward, M., Johnston, C., Lupton, M., Lunnon, K., Soininen, H., Kloszewska, I., Tsolaki, M., Vellas, B., Mecocci, P., Lovestone, S., Newhouse, S. and Dobson, R. (2012). Plasma Based Markers of [11C] PiB-PET Brain Amyloid Burden. *PLoS ONE*, 7(9), p.e44260.
- Kiliaan, A., Arnoldussen, I. and Gustafson, D. (2018). *Adipokines: a link between obesity and dementia?*

## BIBLIOGRAFÍA

- Kim, J., Basak, J. and Holtzman, D. (2009). The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. *Neuron*, 63(3), pp.287-303.
- Kingsbury, T.J., Cunningham, K.W. *A conserved family of calcineurin regulators*. *Genes Dev* 2000;14:1595–1604.
- Kioumourtzoglou, M., Schwartz, J., Weisskopf, M., Melly, S., Wang, Y., Dominici, F. and Zanobetti, A. (2016). Long-term PM 2.5 Exposure and Neurological Hospital Admissions in the Northeastern United States. *Environmental Health Perspectives*, 124(1), pp.23-29.
- Kivipelto, M., Helkala, E., Hanninen, T., Laakso, M., Hallikainen, M., Alhainen, K., Soininen, H., Tuomilehto, J. and Nissinen, A. (2001). Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology*, 56(12), pp.1683-1689.
- Kothari, V., Luo, Y., Tornabene, T., O'Neill, A., Greene, M., Geetha, T. and Babu, J. (2017). High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(2), pp.499-508.
- Kliwer, S., Sundseth, S., Jones, S., Brown, P., Wisely, G., Koble, C., Devchand, P., Wahli, W., Willson, T., Lenhard, J. and Lehmann, J. (1997). Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors and. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(9), pp.4318-4323.
- Koehler, R., Gebremedhin, D. and Harder, D. (2006). Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *Journal of Applied Physiology*, 100(1), pp.307-317.
- Koistinaho, M., Lin, S., Wu, X., Esterman, M., Koger, D., Hanson, J., Higgs, R., Liu, F., Malkani, S., Bales, K. and Paul, S. (2004). Apolipoprotein E promotes astrocyte

- colocalization and degradation of deposited amyloid- $\beta$  peptides. *Nature Medicine*, 10(7), pp.719-726.
- Kondo, K., Niino, M. and Shido, K. (1994). A Case-Control Study of Alzheimer's Disease in Japan – Significance of Life-Styles. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 5(6), pp.314-326.
- Korff, A., Liu, C., Ghingina, C., Shi, M. and Zhang, J. (2013).  $\alpha$ -Synuclein in Cerebrospinal Fluid of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 36(4), pp.679-688.
- Kosik, K. (1993). The Molecular and Cellular Biology of Tau. *Brain Pathology*, 3(1), pp.39-43.
- Koyama, A., Okereke, O., Yang, T., Selkoe, D. and Grodstein, F. (2011). Plasma amyloid-beta as a predictor of dementia and cognitive decline: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia*, 7(4), p.S318.
- Kueper, J., Speechley, M. and Montero-Odasso, M. (2018). The Alzheimer's Disease Assessment Scale–Cognitive Subscale (ADAS-Cog): Modifications and Responsiveness in Pre-Dementia Populations. A Narrative Review. *Journal of Alzheimer's Disease*, 63(2), pp.423-444.
- LaDu, M., Pederson, T., Frail, D., Reardon, C., Getz, G. and Falduto, M. (1995). Purification of Apolipoprotein E Attenuates Isoform-specific Binding to  $\beta$ -Amyloid. *Journal of Biological Chemistry*, 270(16), pp.9039-9042.
- LaDu, M., Shah, J., Reardon, C., Getz, G., Bu, G., Hu, J., Guo, L. and Van Eldik, L. (2001). Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors modulate  $A\beta$ -induced glial neuroinflammatory responses. *Neurochemistry International*, 39(5-6), pp.427-434.

## BIBLIOGRAFÍA

- LaFerla, F., Green, K. and Oddo, S. (2007). Intracellular amyloid- $\beta$  in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(7), pp.499-509.
- Laterre, P. and François, B. (2015). Strengths and limitations of industry vs. academic randomized controlled trials. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(10), pp.906-909.
- Lattanzi, S., Luzzi, S., Provinciali, L. and Silvestrini, M. (2015). Blood Pressure Variability in Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia: The Effect on the Rate of Cognitive Decline. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(2), pp.387-394.
- Lauderback, C., Kanski, J., Hackett, J., Maeda, N., Kindy, M. and Butterfield, D. (2002). Apolipoprotein E modulates Alzheimer's  $A\beta(1-42)$ -induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner. *Brain Research*, 924(1), pp.90-97.
- Lautenschlager, N., Cupples, L., Rao, V., Auerbach, S., Becker, R., Burke, J., Chui, H., Duara, R., Foley, E., Glatt, S., Green, R., Jones, R., Karlinsky, H., Kukull, W., Kurz, A., Larson, E., Martelli, K., Sadovnick, A., Volicer, L., Waring, S., Growdon, J. and Farrer, L. (1996). Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: What is in store for the oldest old?. *Neurology*, 46(3), pp.641-650.
- Le, Y., Liu, S., Peng, M., Tan, C., Liao, Q., Duan, K., Ouyang, W. and Tong, J. (2014). Aging Differentially Affects the Loss of Neuronal Dendritic Spine, Neuroinflammation and Memory Impairment at Rats after Surgery. *PLoS ONE*, 9(9), p.e106837.
- Leahy, J. (2008). Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Yearbook of Endocrinology*, 2008, pp.38-39.
- Leduc, V., Jasmin-Bélanger, S. and Poirier, J. (2010). APOE and cholesterol homeostasis in Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 16(10), pp.469-477.

- Lee, G., Neve, R. and Kosik, K. (1989). The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron*, 2(6), pp.1615-1624.
- Lee, W., Liao, Y., Wang, Y., Lin, I., Wang, S. and Fuh, J. (2018). Plasma MCP-1 and Cognitive Decline in Patients with Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Two-year Follow-up Study. *Scientific Reports*, 8(1).
- Lee, E. (2011). Obesity, leptin, and Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1243(1), pp.15-29.
- Lee, W. and Kim, J. (2015). Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and the Heart: Lessons from the Past and Future Directions. *PPAR Research*, 2015, pp.1-18.
- Leibson, C., Rocca, W., Hanson, V., Cha, R., Kokmen, E., O'Brien, P. and Palumbo, P. (1997). The Risk of Dementia among Persons with Diabetes Mellitus: A Population-Based Cohort Study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 826(1 Cerebrovascul), pp.422-427.
- Levy-Lahad, E., Tsuang, D. and Bird, T. (1998). Recent Advances in the Genetics of Alzheimer's Disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 11(2), pp.42-54.
- Levy-Lahad, E., Wijsman, E., Nemens, E., Anderson, L., Goddard, K., Weber, J., Bird, T. and Schellenberg, G. (1995). A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science*, 269(5226), pp.970-973.
- Li, X., Hu, N., Tan, M., Yu, J. and Tan, L. (2014). Behavioral and Psychological Symptoms in Alzheimer's Disease. *Biomed Research International*, 2014: 927804
- Li, Y., Bohm, C., Dodd, R., Chen, F., Qamar, S., Schmitt-Ulms, G., Fraser, P. and St George-Hyslop, P. (2014). Structural biology of presenilin 1 complexes. *Molecular Neurodegeneration*, 9(1), p.59.

## BIBLIOGRAFÍA

- Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y. and Sheng, M. (2004). The Importance of Dendritic Mitochondria in the Morphogenesis and Plasticity of Spines and Synapses. *Cell*, 119(6), pp.873-887.
- Lidsky, T. (2014). Is the Aluminum Hypothesis Dead?. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 56, pp.S73-S79.
- Lippiello, P., Letchworth, S., Gatto, G., Traina, V. and Bencherif, M. (2006). Ispronicline: A Novel  $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptor-Selective Agonist With Cognition-Enhancing and Neuroprotective Properties. *Journal of Molecular Neuroscience*, 30(1-2), pp.19-20.
- Lithell, H., Hansson, L., Skoog, I., Elmfeldt, D., Hofman, A., Olofsson, B., Trenkwalder, P. and Zanchetti, A. (2003). The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE). *Journal of Hypertension*, 21(5), pp.875-886.
- Liu, C., Kanekiyo, T., Xu, H. and Bu, G. (2013). Correction: Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*, 9(4), pp.184-184.
- Lloret, A., Badía, M., Mora, N., Ortega, A., Pallardó, F., Alonso, M., Atamna, H. and Viña, J. (2008). Gender and age-dependent differences in the mitochondrial apoptogenic pathway in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(12), pp.2019-2025.
- Lloret, A., Fuchsberger, T., Giraldo, E. and Viña, J. (2015). Molecular mechanisms linking amyloid  $\beta$  toxicity and Tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 83, pp.186-191.
- Lobo, A. (2000). *Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research group.* *Neurology*, 54(11 Suppl 5), pp.S4-9.

- Loeffler, D., DeMaggio, A., Juneau, P., Brickman, C., Mashour, G., Finkelman, J., Pomara, N. and LeWitt, P. (1994). Ceruoplasmin Is Increased in Cerebrospinal Fluid in Alzheimer's Disease but Not Parkinson's Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 8(3), pp.190-197.
- Long R. Finding a path for the cure for dementia. [online] Available at: [https://worlddementiacouncil.org/.../DH\\_DementiaReport\\_acc.pdf](https://worlddementiacouncil.org/.../DH_DementiaReport_acc.pdf) [Accessed 01 Dec. 2019].
- López Mongil, R. and López Trigo, J. (2016). Pronóstico y proceso evolutivo del deterioro cognitivo. Medidas preventivas. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 51, pp.34-43.
- Lott, I. and Dierssen, M. (2010). Cognitive deficits and associated neurological complications in individuals with Down's syndrome. *The Lancet Neurology*, 9(6), pp.623-633.
- Lovestone, S., Boada, M., Dubois, B., Hüll, M., Rinne, J., Huppertz, H., Calero, M., Andrés, M., Gómez-Carrillo, B., León, T. and del Ser, T. (2015). A Phase II Trial of Tideglusib in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(1), pp.75-88.
- Loy, C., Schofield, P., Turner, A. and Kwok, J. (2014). Genetics of dementia. *The Lancet*, 383(9919), pp.828-840.
- Luber-Narod, J. and Rogers, J. (1988). Immune system associated antigens expressed by cells of the human central nervous system. *Neuroscience Letters*, 94(1-2), pp.17-22.
- Luchsinger, J., Reitz, C., Honig, L., Tang, M., Shea, S. and Mayeux, R. (2005). Aggregation of vascular risk factors and risk of incident Alzheimer disease. *Neurology*, 65(4), pp.545-551.
- Luchsinger, J., Patel, B., Tang, M., Schupf, N. and Mayeux, R. (2007). Measures of Adiposity and Dementia Risk in Elderly Persons. *Archives of Neurology*, 64(3), p.392.
- Lue, L. (2001). Modeling microglial activation in Alzheimer's disease with human postmortem microglial cultures. *Neurobiology of Aging*, 22(6), pp.945-956.

## BIBLIOGRAFÍA

- Luchsinger, J. (2008). Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 585(1), pp.119-129.
- Lund, S., Christensen, K., Hedtjárn, M., Mortensen, A., Hagberg, H., Falsig, J., Hasseldam, H., Schrattenholz, A., Pörzgen, P. and Leist, M. (2006). The dynamics of the LPS triggered inflammatory response of murine microglia under different culture and in vivo conditions. *Journal of Neuroimmunology*, 180(1-2), pp.71-87.
- Lundqvist, M., Carlsson, P., Sjö Dahl, R., Theodorsson, E. and Levin, L. (2017). Patient benefit of dog-assisted interventions in health care: a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1).
- Lynch, M. (2004). Long-Term Potentiation and Memory. *Physiological Reviews*, 84(1), pp.87-136.
- Mahley, R., Weisgraber, K. and Huang, Y. (2006). Apolipoprotein E4: A causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(15), pp.5644-5651.
- Mahoney, F., Barthel, D. and Callahan, J. (1955). Rehabilitation of the Hemiplegic Patient. *Southern Medical Journal*, 48(5), pp.472-479.
- Majumdar, A., Cruz, D., Asamoah, N., Buxbaum, A., Sohar, I., Lobel, P. and Maxfield, F. (2007). Activation of Microglia Acidifies Lysosomes and Leads to Degradation of Alzheimer Amyloid Fibrils. *Molecular Biology of the Cell*, 18(4), pp.1490-1496.
- Majumdar, A., Chung, H., Dolios, G., Wang, R., Asamoah, N., Lobel, P. and Maxfield, F. (2008). Degradation of fibrillar forms of Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide by macrophages. *Neurobiology of Aging*, 29(5), pp.707-715.
- Mandrekar-Colucci, S. and Landreth, G. (2010). Microglia and Inflammation in Alzheimers Disease. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 9(2), pp.156-167.
- Mandrekar-Colucci, S., Karlo, J. and Landreth, G. (2012). Mechanisms Underlying the Rapid Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- -Mediated Amyloid Clearance and Reversal of Cognitive Deficits in a Murine Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*, 32(30), pp.10117-10128.

- Marcus, D., Thomas, C., Rodriguez, C., Simberkoff, K., Tsai, J., Strafaci, J. and Freedman, M. (1998). Increased Peroxidation and Reduced Antioxidant Enzyme Activity in Alzheimer's Disease. *Experimental Neurology*, 150(1), pp.40-44.
- Markesbery, W. and Carney, J. (2006). Oxidative Alterations in Alzheimer's Disease. *Brain Pathology*, 9(1), pp.133-146.
- Martorell, L., Virgos, C., Valero, J., Coll, G., Figuera, L., Joven, J., Pocoví, M., Labad, A. and Vilella, E. (2001). Schizophrenic women with the APOE  $\epsilon$ 4 allele have a worse prognosis than those without it. *Molecular Psychiatry*, 6(3), pp.307-310.
- Martínez, G., Vernooij, R., Fuentes Padilla, P., Zamora, J., Flicker, L. and Bonfill Cosp, X. (2017). 18F PET with florbetaben for the early diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Martínez Nieto, C. and Abad Santos, F. (2017). *Ensayos clínicos*. [Madrid]: Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.
- Masters, C., Simms, G., Weinman, N., Multhaup, G., McDonald, B. and Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(12), pp.4245-4249.
- Matsunaga, S., Kishi, T. and Iwata, N. (2015). Combination Therapy with Cholinesterase Inhibitors and Memantine for Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(5).
- Matthews, F., Arthur, A., Barnes, L., Bond, J., Jagger, C., Robinson, L. and Brayne, C. (2013). A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. *The Lancet*, 382(9902), pp.1405-1412.
- Mattsson, N., Carrillo, M., Dean, R., Devous, M., Nikolcheva, T., Pesini, P., Salter, H., Potter, W., Sperling, R., Bateman, R., Bain, L. and Liu, E. (2015). Revolutionizing

## BIBLIOGRAFÍA

- Alzheimer's disease and clinical trials through biomarkers. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 1(4), pp.412-419.
- Maurer, K. and Maurer, U. (2003). *Alzheimer*. New York: Columbia University Press.
- Maust, D., Kim, H., Seyfried, L., Chiang, C., Kavanagh, J., Schneider, L. and Kales, H. (2015). Antipsychotics, Other Psychotropics, and the Risk of Death in Patients With Dementia. *JAMA Psychiatry*, 72(5), p.438.
- Mayeux, R. (2006). Genetic Epidemiology of Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 20(Supplement 2), pp.S58-S62.
- Mazanetz, M. and Fischer, P. (2007). Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(6), pp.464-479.
- McGeer, P., Itagaki, S. and McGeer, E. (1988). Expression of the histocompatibility glycoprotein HLA-DR in neurological disease. *Acta Neuropathologica*, 76(6), pp.550-557.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D. and Stadlan, E. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group\* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), pp.939-939.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D. and Stadlan, E. (2011). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS--ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 77(4), pp.333-333.
- McKeith, I. (2008). Dementia with Lewy bodies. *Psychiatry*, 7(1), pp.20-23.

- Mecocci, P., MacGarvey, U. and Beal, M. (1994). Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 36(5), pp.747-751.
- MedlinePlus enciclopedia médica*. [online] Medlineplus.gov. Available at: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000726.htm> [Accessed 29 Jan. 2019].
- Meguro, K., Ishii, H., Yamaguchi, S., Ishizaki, J., Shimada, M., Sato, M., Hashimoto, R., Shimada, Y., Meguro, M., Yamadori, A. and Sekita, Y. (2002). Prevalence of Dementia and Dementing Diseases in Japan. *Archives of Neurology*, 59(7), p.1109.
- Merchant, C., Tang, M., Albert, S., Manly, J., Stern, Y. and Mayeux, R. (1999). The influence of smoking on the risk of Alzheimer's disease. *Neurology*, 52(7), pp.1408-1408.
- Mehta, D., Jackson, R., Paul, G., Shi, J. and Sabbagh, M. (2017). Why do trials for Alzheimer's disease drugs keep failing? A discontinued drug perspective for 2010-2015. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 26(6), pp.735-739.
- Messina, M. and Redmond, G. (2006). Effects of Soy Protein and Soybean Isoflavones on Thyroid Function in Healthy Adults and Hypothyroid Patients: A Review of the Relevant Literature. *Thyroid*, 16(3), pp.249-258.
- Michalik, L., Desvergne, B. and Wahli, W. (2004). Peroxisome-proliferator-activated receptors and cancers: complex stories. *Nature Reviews Cancer*, 4(1), pp.61-70.
- Middelberg, R., Ferreira, M., Henders, A., Heath, A., Madden, P., Montgomery, G., Martin, N. and Whitfield, J. (2011). Genetic variants in LPL, OASL and TOMM40/APOE-C1-C2-C4 genes are associated with multiple cardiovascular-related traits. *BMC Medical Genetics*, 12(1).
- Migliore, L., Fontana, I., Trippi, F., Colognato, R., Coppedè, F., Tognoni, G., Nucciarone, B. and Siciliano, G. (2005). Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiology of Aging*, 26(5), pp.567-573.

## BIBLIOGRAFÍA

- Migliore, L. and Coppedè, F. (2009). Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), pp.73-84.
- Miller, G. (2012). Stopping Alzheimer's Before It Starts. *Science*, 337(6096), pp.790-792.
- Millum, J. and Grady, C. (2013). The ethics of placebo-controlled trials: Methodological justifications. *Contemporary Clinical Trials*, 36(2), pp.510-514.
- Minagar, A., Shapshak, P., Fujimura, R., Ownby, R., Heyes, M. and Eisdorfer, C. (2002). The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 202(1-2), pp.13-23.
- Miquel, J., Economos, A., Fleming, J. and Johnson, J. (1980). Mitochondrial role in cell aging. *Experimental Gerontology*, 15(6), pp.575-591.
- Moestrup, S., Gliemann, J. and Pallesen, G. (1992). Distribution of the  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein in human tissues. *Cell & Tissue Research*, 269(3), pp.375-382.
- Möller, H. and Graeber, M. (1998). The case described by Alois Alzheimer in 1911. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 248(3), pp.111-122.
- Molloy, D., Alemayehu, E. and Roberts, R. (1991). Reliability of a standardized Mini-Mental State Examination compared with the traditional Mini-Mental State Examination. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 5(3), pp.206-207.
- Mölsä, P., Marttila, R. and Rinne, U. (1986). Survival and cause of death in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Acta Neurologica Scandinavica*, 74(2), pp.103-107.

- Monllor Taltavull, P. (2019). [online] Roderic.uv.es. Available at: <http://roderic.uv.es/handle/10550/59487> [Accessed 17 Feb. 2019].)
- Monsell, S., Mock, C., Hassenstab, J., Roe, C., Cairns, N., Morris, J. and Kukull, W. (2014). Neuropsychological changes in asymptomatic persons with Alzheimer disease neuropathology. *Neurology*, 83(5), pp.434-440.
- Montgomery, W., Ueda, K., Jorgensen, M., Stathis, S., Cheng, Y. and Nakamura, T. (2017). Epidemiology, associated burden, and current clinical practice for the diagnosis and management of Alzheimer's disease in Japan. *ClinicoEconomics and Outcomes Research*, Volume 10, pp.13-28.
- Mora, F., Segovia, G. and del Arco, A. (2007). Aging, plasticity and environmental enrichment: Structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Research Reviews*, 55(1), pp.78-88.
- Mora Teruel, F., Segovia de Arana, J. (2002). Enfermedades neurodegenerativas. *Farmaindustria*, pp.213 p.
- Moraes, L., Piqueras, L. and Bishop-Bailey, D. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. *Pharmacology & Therapeutics*, 110(3), pp.371-385.
- Morris, J. (1993). The Clinical Dementia Rating (CDR): Current version and scoring rules. *Neurology*, 43(11), pp.2412-2412.ç
- Morris, J. (1997). Clinical Dementia Rating: A Reliable and Valid Diagnostic and Staging Measure for Dementia of the Alzheimer Type. *International Psychogeriatrics*, 9(S1), pp.173-176.
- Morrison, J. (1997). Life and Death of Neurons in the Aging Brain. *Science*, 278(5337), pp.412-419.

## BIBLIOGRAFÍA

- Morrow, J., Segall, M., Lund-Katz, S., Phillips, M., Knapp, M., Rupp, B. and Weisgraber, K. (2000). Differences in Stability among the Human Apolipoprotein E Isoforms Determined by the Amino-Terminal Domain†. *Biochemistry*, 39(38), pp.11657-11666.
- Morrow, J., Hatters, D., Lu, B., Höchtel, P., Oberg, K., Rupp, B. and Weisgraber, K. (2002). Apolipoprotein E4 Forms a Molten Globule. *Journal of Biological Chemistry*, 277(52), pp.50380-50385.
- Mosconi, L., Sorbi, S., de Leon, M., Li, Y., Nacmias, B., Myoung, P. (2006). Hypometabolism exceeds atrophy in presymptomatic early-onset familial Alzheimer's disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 47(11):1778-86.
- Mosti, M., Stunes, A., Ericsson, M., Pullisaar, H., Reseland, J., Shabestari, M., Eriksen, E. and Syversen, U. (2014). Effects of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)- $\delta$  Agonist GW501516 on Bone and Muscle in Ovariectomized Rats. *Endocrinology*, 155(6), pp.2178-2189.
- Moulton, P. and Yang, W. (2012). Air Pollution, Oxidative Stress, and Alzheimer's Disease. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012, pp.1-9.
- Moussa, C., Hebron, M., Huang, X., Ahn, J., Rissman, R., Aisen, P. and Turner, R. (2017). Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1).
- Mrak, R., Sheng, J. and T. Griffin, W. (1996). Correlation of Astrocytic S100 $\beta$  Expression with Dystrophic Neurites in Amyloid Plaques of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 55(3), pp.273-279.
- Mucke, L. and Selkoe, D. (2012). Neurotoxicity of Amyloid  $\beta$ -Protein: Synaptic and Network Dysfunction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(7), pp.a006338-a006338.

- Musicco, M., Adorni, F., Di Santo, S., Prinelli, F., Pettenati, C., Caltagirone, C., Palmer, K. and Russo, A. (2013). Inverse occurrence of cancer and Alzheimer disease: A population-based incidence study. *Neurology*, 81(4), pp.322-328.
- Muzio, L., Martino, G. and Furlan, R. (2007). Multifaceted aspects of inflammation in multiple sclerosis: The role of microglia. *Journal of Neuroimmunology*, 191(1-2), pp.39-44.
- Nagele, R., Wegiel, J., Venkataraman, V., Imaki, H., Wang, K. and Wegiel, J. (2004). Contribution of glial cells to the development of amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 25(5), pp.663-674.
- Nalivaeva, N., Fisk, L., Belyaev, N. and Turner, A. (2008). Amyloid-Degrading Enzymes as Therapeutic Targets in Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research*, 5(2), pp.212-224.
- Namekawa, Y., Baba, H., Maeshima, H., Nakano, Y., Satomura, E., Takebayashi, N., Nomoto, H., Suzuki, T. and Arai, H. (2013). Heterogeneity of elderly depression: Increased risk of Alzheimer's disease and A $\beta$  protein metabolism. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 43, pp.203-208.
- Nathan, C., Calingasan, N., Nezezon, J., Ding, A., Lucia, M., La Perle, K., Fuortes, M., Lin, M., Ehrt, S., Kwon, N., Chen, J., Vodovotz, Y., Kipiani, K. and Beal, M. (2005). Protection from Alzheimer's-like disease in the mouse by genetic ablation of inducible nitric oxide synthase. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(9), pp.1163-1169.
- National Institute on Aging. (2011). *Alzheimer's Disease Diagnostic Guidelines*. [online] Available at: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-diagnostic-guidelines> [Accessed 17 Feb. 2019].

## BIBLIOGRAFÍA

- National Institute on Aging. (2015). *Alzheimer's Disease and Related Dementias*. [online] Available at: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers> [Accessed 22 Mar. 2019].
- Navarro Moll, M. (2005). *Mecanismo de acción de las isoflavonas. Clínica e investigación en ginecología y obstetricia*, 6(3), pp:159-165.
- Neafsey, E. and Collins, M. (2011). Moderate alcohol consumption and cognitive risk. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, p.465.
- Nebel, A., Kleindorp, R., Caliebe, A., Nothnagel, M., Blanché, H., Junge, O., Wittig, M., Ellinghaus, D., Flachsbarth, F., Wichmann, H., Meitinger, T., Nikolaus, S., Franke, A., Krawczak, M., Lathrop, M. and Schreiber, S. (2011). A genome-wide association study confirms APOE as the major gene influencing survival in long-lived individuals. *Mechanisms of Ageing and Development*, 132(6-7), pp.324-330.
- Neschen, S., Morino, K., Dong, J., Wang-Fischer, Y., Cline, G., Romanelli, A., Rossbacher, J., Moore, I., Regittnig, W., Munoz, D., Kim, J. and Shulman, G. (2007). n-3 Fatty Acids Preserve Insulin Sensitivity In Vivo in a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- -Dependent Manner. *Diabetes*, 56(4), pp.1034-1041.
- Neurodegenerationresearch.eu. (2020). *Hisayama Study | JPND*. [online] Available at: <https://www.neurodegenerationresearch.eu/cohort/hisayama-study/> [Accessed 1 Mar. 2020].
- Newberg, A. and Alavi, A. (1996). The study of neurological disorders using positron emission tomography and single photon emission computed tomography. *Journal of the Neurological Sciences*, 135(2), pp.91-108.
- Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, Levälähti E, Ahtiluoto S, Antikainen R, Bäckman L, Hänninen T, Jula A, Laatikainen T, Lindström J, Mangialasche F, Paajanen T, Pajala S, Peltonen M, Rauramaa R, Stigsdotter-Neely A, Strandberg T, Tuomilehto J,

- Soininen H, Kivipelto M. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2015 Jun 6;385(9984):2255-63. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60461-5. Epub 2015 Mar 12.
- Nieuwenhuis-Mark, R. (2010). The Death Knoll for the MMSE: Has It Outlived Its Purpose?. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(3), pp.151-157.
- Nimmerjahn, A. (2005). Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. *Science*, 308(5726), pp.1314-1318.
- Niu, H., Álvarez-Álvarez, I., Guillén-Grima, F. and Aguinaga-Ontoso, I. (2017). Prevalence and incidence of Alzheimer's disease in Europe: A meta-analysis. *Neurología (English Edition)*, 32(8), pp.523-532.
- Nordberg, A., Hellström-Lindahl, E., Lee, M., Johnson, M., Mousavi, M., Hall, R., Perry, E., Bednar, I. and Court, J. (2002). Chronic nicotine treatment reduces  $\beta$ -amyloidosis in the brain of a mouse model of Alzheimer's disease (APPsw). *Journal of Neurochemistry*, 81(3), pp.655-658.
- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E., Jones, P., Ghanbari, H., Wataya, T., Shimohama, S., Chiba, S., Atwood, C., Petersen, R. and Smith, M. (2001). Oxidative Damage Is the Earliest Event in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 60(8), pp.759-767.
- Oddo, S., Caccamo, A., Smith, I., Green, K. and LaFerla, F. (2006). A Dynamic Relationship between Intracellular and Extracellular Pools of A $\beta$ . *The American Journal of Pathology*, 168(1), pp.184-194.
- Okun, E., Mattson, M. and Arumugam, T. (2009). Involvement of Fc Receptors in Disorders of the Central Nervous System. *NeuroMolecular Medicine*, 12(2), pp.164-178.

## BIBLIOGRAFÍA

- Olefsky, J. and Glass, C. (2010). Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annual Review of Physiology*, 72(1), pp.219-246.
- Olin, J. (2002). Galantamine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Onor, M., Trevisiol, M. and Aguglia, E. (2007). Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. *Clinical Interventions in Aging*, 2(1), pp.17-32.
- Opie, R., Ralston, R. and Walker, K. (2013). Adherence to a Mediterranean-style diet can slow the rate of cognitive decline and decrease the risk of dementia: a systematic review. *Nutrition & Dietetics*, p.n/a-n/a.
- Orange, J. (1994). *Alzheimer's disease. Physician-patient communication. Canadian family physician Medecin de famille canadien*, 40(4), pp. 1160-8.
- Organización Mundial de la Salud (1992). *The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders : clinical descriptions and diagnostic guidelines*. [online] Apps.who.int. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37958> [Accessed 16 Feb. 2019].
- Orgogozo, J.M, Dartigues, J.F., Lafont, S., Letenneur, L., Commenges, D. (1997). Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Rev. Neurol.* 153:185–92
- Ostrowitzki, S., Lasser, R., Dorflinger, E., Scheltens, P., Barkhof, F., Nikolcheva, T., Ashford, E., Retout, S., Hofmann, C., Delmar, P., Klein, G., Andjelkovic, M., Dubois, B., Boada, M., Blennow, K., Santarelli, L. and Fontoura, P. (2017). A phase III randomized trial of gantenerumab in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9(1).
- Ownby, R., Crocco, E., Acevedo, A., John, V. and Loewenstein, D. (2006). Depression and Risk for Alzheimer Disease. *Archives of General Psychiatry*, 63(5), p.530.

- Palmer, A. and Burns, M. (1994). Selective increase in lipid peroxidation in the inferior temporal cortex in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 645(1-2), pp.338-342.
- Paresce, D., Chung, H. and Maxfield, F. (1997). Slow Degradation of Aggregates of the Alzheimer's Disease Amyloid  $\beta$ -Protein by Microglial Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 272(46), pp.29390-29397.
- Pascual, G., Wadia, J., Zhu, X., Keogh, E., Kükreer, B., van Ameijde, J., Inganäs, H., Siregar, B., Perdok, G., Diefenbach, O., Nahar, T., Sprengers, I., Koldijk, M., der Linden, E., Peferoen, L., Zhang, H., Yu, W., Li, X., Wagner, M., Moreno, V., Kim, J., Costa, M., West, K., Fulton, Z., Chammas, L., Luckashenak, N., Fletcher, L., Holland, T., Arnold, C., Anthony Williamson, R., Hoozemans, J., Apetri, A., Bard, F., Wilson, I., Koudstaal, W. and Goudsmit, J. (2017). Immunological memory to hyperphosphorylated tau in asymptomatic individuals. *Acta Neuropathologica*, 133(5), pp.767-783.
- Payton, A., Sindrewicz, P., Pessoa, V., Platt, H., Horan, M., Ollier, W., Bubb, V., Pendleton, N. and Quinn, J. (2016). A TOMM40 poly-T variant modulates gene expression and is associated with vocabulary ability and decline in nonpathologic aging. *Neurobiology of Aging*, 39, pp.217.e1-217.e7.
- Pearson, H. and Peers, C. (2006). Physiological roles for amyloid  $\beta$  peptides. *The Journal of Physiology*, 575(1), pp.5-10.
- Pedrini, S., Carter, T., Prendergast, G., Petanceska, S., Ehrlich, M. and Gandy, S. (2005). Modulation of Statin-Activated Shedding of Alzheimer APP Ectodomain by ROCK. *PLoS Medicine*, 2(1), p.e18.
- Pensalfini, A., Albay, R., Rasool, S., Wu, J., Hatami, A., Arai, H., Margol, L., Milton, S., Poon, W., Corrada, M., Kawas, C. and Glabe, C. (2014). Intracellular amyloid and the neuronal origin of Alzheimer neuritic plaques. *Neurobiology of Disease*, 71, pp.53-61.

## BIBLIOGRAFÍA

- Peñalva, R., Morales, J., González-Navarro, C., Larrañeta, E., Quincoces, G., Peñuelas, I. and Irache, J. (2018). Increased Oral Bioavailability of Resveratrol by Its Encapsulation in Casein Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), p.2816.
- Pérez-Trullén, J. (2013). A Brief Biography of Alois Alzheimer. *Neurosciences and History*, 1(3), pp.125-136
- Perl, D. (2000). Neuropathology of Alzheimer's Disease and related disorders. *Neurologic Clinics*, 18(4), pp.847-864.
- Perry, G., Castellani, R., Hirai, K. and Smith, M. (1998). Reactive Oxygen Species Mediate Cellular Damage in Alzheimer Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 1(1), pp.45-55.
- Peskind, E., Wilkinson, C., Petrie, E., Schellenberg, G. and Raskind, M. (2001). Increased CSF cortisol in AD is a function of APOE genotype. *Neurology*, 56(8), pp.1094-1098.
- Peters, M., Rosenberg, P., Steinberg, M., Norton, M., Welsh-Bohmer, K., Hayden, K., Breitner, J., Tschanz, J. and Lyketsos, C. (2013). Neuropsychiatric Symptoms as Risk Factors for Progression From CIND to Dementia: The Cache County Study. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 21(11), pp.1116-1124.
- Petersen, R., Smith, G., Waring, S., Ivnik, R., Tangalos, E. and Kokmen, E. (1999). Mild Cognitive Impairment. *Archives of Neurology*, 56(3), p.303.
- Pfrieger, F. (1997). Synaptic Efficacy Enhanced by Glial Cells in Vitro. *Science*, 277(5332), pp.1684-1687.
- Pfrieger, F. (2003). Cholesterol homeostasis and function in neurons of the central nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60(6), pp.1158-1171.

- Phelps, C. (1972). Barbiturate-induced glycogen accumulation in brain. An electron microscopic study. *Brain Research*, 39(1), pp.225-234.
- Pieramico, V., Esposito, R., Cesinaro, S., Frazzini, V. and Sensi, S. (2014). Effects of non-pharmacological or pharmacological interventions on cognition and brain plasticity of aging individuals. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8.
- Pierrot, N. and Octave, J. (2004). P1-156 Intraneuronal amyloid- $\beta$ 1-42 production triggered by sustained increase of cytosolic calcium concentration induced neuronal death. *Neurobiology of Aging*, 25, p.S140.
- Pietrzik, C. and Jaeger, S. (2008). Functional Role of Lipoprotein Receptors in Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research*, 5(1), pp.15-25.
- Pike, K., Savage, G., Villemagne, V., Ng, S., Moss, S., Maruff, P., Mathis, C., Klunk, W., Masters, C. and Rowe, C. (2007).  $\beta$ -amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*, 130(11), pp.2837-2844.
- Pitas R.E., Boyles J.K., Lee S.H., Hui D., Weisgraber K.H. (1987). Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E(LDL) receptors in the brain. *J Biol Chem*, 262(69), pp.14352–14360.
- Plant, L., Boyle, J., Smith, I., Peers, C. and Pearson, H. (2003). The Production of Amyloid  $\beta$  Peptide Is a Critical Requirement for the Viability of Central Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 23(13), pp.5531-5535.
- Plassman, B., Havlik, R., Steffens, D., Helms, M., Newman, T., Drosdick, D., Phillips, C., Gau, B., Welsh-Bohmer, K., Burke, J., Guralnik, J. and Breitner, J. (2000). Documented head injury in early adulthood and risk of Alzheimer's disease and other dementias. *Neurology*, 55(8), pp.1158-1166.

## BIBLIOGRAFÍA

- Plutzky, J. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptors as therapeutic targets in inflammation\*\*Editorials published in the Journal of the American College of Cardiology reflect the views of the authors and do not necessarily represent the views of JACC or the American College of Cardiology. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(10), pp.1764-1766.
- Porsteinsson, A. and Antonsdottir, I. (2017). An update on the advancements in the treatment of agitation in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18(6), pp.611-620.
- Powell, E. and Geller, H. (1999). Dissection of astrocyte-mediated cues in neuronal guidance and process extension. *Glia*, 26(1), pp.73-83.
- Prasher, V., Sajith, S., Rees, S., Patel, A., Tewari, S., Schupf, N. and Zigman, W. (2008). Significant effect of APOE epsilon 4 genotype on the risk of dementia in Alzheimer's disease and mortality in persons with Down Syndrome. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(11), pp.1134-1140.
- Prestia, A., Caroli, A., Wade, S., van der Flier, W., Ossenkoppele, R., Van Berckel, B., Barkhof, F., Teunissen, C., Wall, A., Carter, S., Schöll, M., Choo, I., Nordberg, A., Scheltens, P. and Frisoni, G. (2015). Prediction of AD dementia by biomarkers following the NIA-AA and IWG diagnostic criteria in MCI patients from three European memory clinics. *Alzheimer's & Dementia*, 11(10), pp.1191-1201.
- Price, D. and Sisodia, S. (1998). Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annual Review of Neuroscience*, 21(1), pp.479-505.
- Puli, L., Tanila, H. and Relkin, N. (2014). Intravenous Immunoglobulins for Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 11(7), pp.626-636.
- Qin, W., Ho, L., Pompl, P., Peng, Y., Zhao, Z., Xiang, Z., Robakis, N., Shioi, J., Suh, J. and Pasinetti, G. (2003). Cyclooxygenase (COX)-2 and COX-1 Potentiate  $\beta$ -Amyloid

- Peptide Generation through Mechanisms That Involve  $\gamma$ -Secretase Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 278(51), pp.50970-50977.
- Qiu, W., Walsh, D., Ye, Z., Vekrellis, K., Zhang, J., Podlisny, M., Rosner, M., Safavi, A., Hersh, L. and Selkoe, D. (1998). Insulin-degrading Enzyme Regulates Extracellular Levels of Amyloid  $\beta$ -Protein by Degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 273(49), pp.32730-32738.
- Quintana Hernández, D., Miró Barrachina, M., Ibáñez Fernández, I., Santana del Pino, A., Rojas Hernández, J., Rodríguez García, J. and Quintana Montesdeoca, M. (2015). Estimulación basada en mindfulness en la enfermedad de Alzheimer avanzada: ensayo clínico piloto comparativo de equivalencia. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 50(4), pp.168-173.
- Raffaitin, C., Gin, H., Empana, J., Helmer, C., Berr, C., Tzourio, C., Portet, F., Dartigues, J., Alperovitch, A. and Barberger-Gateau, P. (2008). Metabolic Syndrome and Risk for Incident Alzheimer's Disease or Vascular Dementia: The Three-City Study. *Diabetes Care*, 32(1), pp.169-174.
- Rami, L., Molinuevo, J., Sanchez-Valle, R., Bosch, B. and Villar, A. (2007). Screening for amnesic mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease with M@T (Memory Alteration Test) in the primary care population. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 22(4), pp.294-304.
- Rami, L., Bosch, B., Sanchez-Valle, R. and Molinuevo, J. (2010). The memory alteration test (M@T) discriminates between subjective memory complaints, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 50(2), pp.171-174.
- Ravdin, L. and Katzen, H. (2007). A Review of: Taking stock of cognitive reserve: Factors affecting the brain's vulnerability to disease and trauma. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 30(1), pp.127-128.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ravinetto, R., De Nys, K., Boelaert, M., Diro, E., Meintjes, G., Adoke, Y., Tagbor, H. and Casteels, M. (2015). Sponsorship in non-commercial clinical trials: definitions, challenges and the role of Good Clinical Practices guidelines. *BMC International Health and Human Rights*, 15(1).
- Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos. Disponible en <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2015-14082>
- Reec.aemps.es. (2019). *REEC: Registro Español de Estudios Clínicos*. [online] Available at: <https://reec.aemps.es/reec/public/web.html> [Accessed 5 Mar. 2019].
- Reference, G. (2019). *APP gene*. [online] Genetics Home Reference. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/APP#location> [Accessed 2 Jan. 2019].
- Reference, G. (2019). *APOE gene*. [online] Genetics Home Reference. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/APOE#location> [Accessed 21 Jan. 2019].
- Reference, G. (2019). *MAPT gene*. [online] Genetics Home Reference. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MAPT#sourcesforpage> [Accessed 19 Jan. 2019].
- Reference, G. (2019). *PPARG gene*. [online] Genetics Home Reference. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PPARG#location> [Accessed 21 Jan. 2019].
- Reiman, E., Chen, K., Alexander, G., Caselli, R., Bandy, D., Osborne, D., Saunders, A. and Hardy, J. (2003). Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(1), pp.284-289.
- Reisberg, B., Ferris, S., de Leon, M., and Crook, T. (1982) The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *American Journal of Psychiatry*, 139(9), pp.1136-1139.

- Reisberg, B. (1988) Functional Assessment Staging (FAST). *Psychopharmacology Bulletin*, 24(4), pp.653-9.
- Reisberg, B., Franssen, E., Souren, L., Auer, S., Akram, I. and Kenowsky, S. (2002). Evidence and mechanisms of retrogenesis in Alzheimer's and other dementias: Management and treatment import. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 17(4), pp.202-212.
- Reitz, C., Tang, M., Luchsinger, J. and Mayeux, R. (2004). Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Archives of Neurology*, 61(5), pp.705.
- Reitz, C. (2013). Dyslipidemia and the Risk of Alzheimer's Disease. *Current Atherosclerosis Reports*, 15(3).
- Reitz, C. and Mayeux, R. (2014). Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), pp.640-651.
- Resnick, S., Maki, P., Rapp, S., Espeland, M., Brunner, R., Coker, L., Granek, I., Hogan, P., Ockene, J. and Shumaker, S. (2006). Effects of Combination Estrogen Plus Progestin Hormone Treatment on Cognition and Affect. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(5), pp.1802-1810.
- Reynolds, C., Nebreda, A., Gibb, G., Utton, M. and Anderton, B. (2002). Reactivating Kinase/p38 Phosphorylates  $\tau$  Protein In Vitro. *Journal of Neurochemistry*, 69(1), pp.191-198.
- Ritchie, C., Smailagic, N., Noel-Storr, A. H., Ukoumunne, O., Ladds, E. C., Martin, S. (2017). CSF tau and the CSF tau/ABeta ratio for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst. Rev.* 3:CD010803. doi: 10.1002/14651858.CD010803.pub2

## BIBLIOGRAFÍA

- Roberts, G., Gentleman, S., Lynch, A., Murray, L., Landon, M. and Graham, D. (1994). Beta amyloid protein deposition in the brain after severe head injury: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 57(4), pp.419-425.
- Roberts, R. (2009). Oxidative and nitrative stress: Role in the response to liver toxicants. *Toxicology Letters*, 189, p.S23.
- Robinson, D. and Keating, G. (2006). Memantine. *Drugs*, 66(11), pp.1515-1534.
- Robinson, S., Bishop, G., Lee, H. and Münch, G. (2004). Lessons from the AN 1792 Alzheimer vaccine: lest we forget. *Neurobiology of Aging*, 25(5), pp.609-615.
- Robles, A. (2002). [Proposal of criteria for clinical diagnosis of mild cognitive impairment, dementia and Alzheimer's disease]. *Neurología*, 17(1)pp.17-32.
- Rocca, W., Petersen, R., Knopman, D., Hebert, L., Evans, D., Hall, K., Gao, S., Unverzagt, F., Langa, K., Larson, E. and White, L. (2011). Trends in the incidence and prevalence of Alzheimer's disease, dementia, and cognitive impairment in the United States. *Alzheimer's & Dementia*, 7(1), pp.80-93.
- Roche.com. (2019). *Roche to discontinue Phase III CREAD 1 and 2 clinical studies of crenezumab in early Alzheimer's disease (AD) - other company programmes in AD continue*. [online] Available at: <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2019-01-30.htm> [Accessed 7 Mar. 2019].
- Rodríguez, M., Ringstad, L., Schäfer, P., Just, S., Hofer, H., Malmsten, M. and Siegel, G. (2007). Reduction of atherosclerotic nanoplaque formation and size by Ginkgo biloba (EGb 761) in cardiovascular high-risk patients. *Atherosclerosis*, 192(2), pp.438-444.

- Rogaeva, E., Fafel, K., Song, Y., Medeiros, H., Sato, C., Liang, Y., Richard, E., Rogaev, E., Frommelt, P., Sadovnick, A., Meschino, W., Rockwood, K., Boss, M., Mayeux, R. and St. George-Hyslop, P. (2001). Screening for PS1 mutations in a referral-based series of AD cases: 21 Novel mutations. *Neurology*, 57(4), pp.621-625.
- Röhrig, B., Prel, J., Wachtlin, D. and Blettner, M. (2009). Types of Study in Medical Research. *Deutsches Aerzteblatt Online*.
- Rosen, W., Mohs, R. and Davis, K. A new rating scale for Alzheimer's disease. (1984). *American Journal of Psychiatry*, 141(11), pp.1356-1364.
- Rossi, D. and Volterra, A. (2009). Astrocytic dysfunction: Insights on the role in neurodegeneration. *Brain Research Bulletin*, 80(4-5), pp.224-232.
- Rozman, K., Bhatia, J., Calafat, A., Chambers, C., Culty, M., Etzel, R., Flaws, J., Hansen, D., Hoyer, P., Jeffery, E., Kesner, J., Marty, S., Thomas, J. and Umbach, D. (2006). NTP-CERHR Expert Panel Report on the reproductive and developmental toxicity of soy formula. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 77(4), pp.280-397.
- Rubio, D., Schoenbaum, E., Lee, L., Schteingart, D., Marantz, P., Anderson, K., Platt, L., Baez, A. and Esposito, K. (2010). Defining Translational Research: Implications for Training. *Academic Medicine*, 85(3), pp.470-475.
- Rush, A., First, M. and Blacker, D. (2008). *Handbook of psychiatric measures*. Washington, DC: American Psychiatric Pub.
- Ruutiainen, J., Newcombe, J., Salmi, A., Dahl, D. and Frey, H. (2009). Measurement of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and anti-GFAP antibodies by solid-phase radioimmunoassays. *Acta Neurologica Scandinavica*, 63(5), pp.297-305.
- Sarazin, M., Berr, C., De Rotrou, J., Fabrigoule, C., Pasquier, F., Legrain, S., Michel, B., Puel, M., Volteau, M., Touchon, J., Verny, M. and Dubois, B. (2007). Amnestic

## BIBLIOGRAFÍA

syndrome of the medial temporal type identifies prodromal AD: A longitudinal study. *Neurology*, 69(19), pp.1859-1867.

Saunders, A., Strittmatter, W., Schmechel, D., St. George-Hyslop, P., Pericak-Vance, M., Joo, S., Rosi, B., Gusella, J., Crapper-MacLachlan, D., Alberts, M., Hulette, C., Crain, B., Goldgaber, D. and Roses, A. (1993). Association of apolipoprotein E allele 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), pp.1467-1467.

Sayre, L., Zelasko, D., Harris, P., Perry, G., Salomon, R. and Smith, M. (2002). 4-Hydroxynonenal-Derived Advanced Lipid Peroxidation End Products Are Increased in Alzheimer's Disease. *Journal of Neurochemistry*, 68(5), pp.2092-2097.

Schikowski, T., Vossoughi, M., Vierkötter, A., Schulte, T., Teichert, T., Sugiri, D., Fehsel, K., Tzivian, L., Bae, I., Ranft, U., Hoffmann, B., Probst-Hensch, N., Herder, C., Krämer, U. and Luckhaus, C. (2015). Association of air pollution with cognitive functions and its modification by APOE gene variants in elderly women. *Environmental Research*, 142, pp.10-16.

Schindler, S. and Fagan, A. (2015). Autosomal Dominant Alzheimer Disease: A Unique Resource to Study CSF Biomarker Changes in Preclinical AD. *Frontiers in Neurology*, 6.

Schneider, J., Arvanitakis, Z., Bang, W. and Bennett, D. (2007). Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology*, 69(24), pp.2197-2204.

Schneider, J., Arvanitakis, Z., Leurgans, S. and Bennett, D. (2009a). The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Annals of Neurology*, 66(2), pp.200-208.

- Schneider, L. and Sano, M. (2009b). Current Alzheimer's disease clinical trials: Methods and placebo outcomes. *Alzheimer's & Dementia*, 5(5), pp.388-397.
- Schneeweiss, S., Setoguchi, S., Brookhart, A., Dormuth, C. and Wang, P. (2007). Risk of death associated with the use of conventional versus atypical antipsychotic drugs among elderly patients. *Canadian Medical Association Journal*, 176(5), pp.627-632.
- Schmechel, D., Saunders, A., Strittmatter, W., Crain, B., Hulette, C., Joo, S., Pericak-Vance, M., Goldgaber, D. and Roses, A. (1993). Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(20), pp.9649-9653.
- ScienceDaily. (2018). *Brain injury may boost risk of Alzheimer's earlier in life*. [online] Available at: <https://www.sciencedaily.com/releases/2018/03/180301094832.htm> [Accessed 31 Dec. 2018].
- Sciencedirect.com. (2019). *Linkage Disequilibrium - an overview | ScienceDirect Topics*. [online] Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/linkage-disequilibrium> [Accessed 28 Jan. 2019].
- Schenk, D., Barbour, R., Dunn, W., Gordon, G., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Liao, Z., Lieberburg, I., Motter, R., Mutter, L., Soriano, F., Shopp, G., Vasquez, N., Vandeventer, C., Walker, S., Wogulis, M., Yednock, T., Games, D. and Seubert, P. (1999). Immunization with amyloid- $\beta$  attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 400(6740), pp.173-177.

## BIBLIOGRAFÍA

- Schofield, P., Tang, M., Marder, K., Bell, K., Dooneief, G., Chun, M., Sano, M., Stern, Y. and Mayeux, R. (1997). Alzheimer's disease after remote head injury: an incidence study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 62(2), pp.119-124.
- Scott, L. and Goa, K. (2000). Galantamine. *Drugs*, 60(5), pp.1095-1122.
- Seelaar, H., Rohrer, J., Pijnenburg, Y., Fox, N. and van Swieten, J. (2010). Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 82(5), pp.476-486.
- Secades, J. (1995). *CDP-choline: pharmacological and clinical review*. - PubMed - NCBI. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8709678> [Accessed 17 Mar. 2019].
- Secades, J. (2012). *Probably role of citicoline in stroke rehabilitation: review of the literature*. - PubMed - NCBI. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22278894> [Accessed 17 Mar. 2019].
- Sekita, A., Ninomiya, T., Tanizaki, Y., Doi, Y., Hata, J., Yonemoto, K., Arima, H., Sasaki, K., Iida, M., Iwaki, T., Kanba, S. and Kiyohara, Y. (2010). Trends in prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia in a Japanese community: the Hisayama Study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 122(4), pp.319-325.
- Selkoe, D. (2002). Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure. *Science*, 298(5594), pp.789-791.
- SEN.es (2018). *Inicio*. [online] Sen.es. Available at: <http://www.sen.es/> [Accessed 6 Feb. 2019].
- Sepehry, A., Lee, P., Hsiung, G., Beattie, B. and Jacova, C. (2012). Effect of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Alzheimer's Disease with Comorbid Depression. *Drugs & Aging*, 29(10), pp.793-806.

- Setchell, K. and Cassidy, A. (1999). Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *The Journal of Nutrition*, 129(3), pp.758S-767S.
- Setó-Salvia, N., Clarimón, J. (2010). [Genetics of Alzheimer's disease]. *Revista de Neurología*, 50(6), pp.360-4.
- Sevigny, J., Chiao, P., Bussière, T., Weinreb, P., Williams, L., Maier, M., Dunstan, R., Salloway, S., Chen, T., Ling, Y., O’Gorman, J., Qian, F., Arastu, M., Li, M., Chollate, S., Brennan, M., Quintero-Monzon, O., Scannevin, R., Arnold, H., Engber, T., Rhodes, K., Ferrero, J., Hang, Y., Mikulskis, A., Grimm, J., Hock, C., Nitsch, R. and Sandrock, A. (2016). The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer’s disease. *Nature*, 537(7618), pp.50-56.
- Shahani, N. and Brandt, R. (2002). Functions and malfunctions of the tau proteins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59(10), pp.1668-1680.
- Sharma, A. and Staels, B. (2007). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  and Adipose Tissue—Understanding Obesity-Related Changes in Regulation of Lipid and Glucose Metabolism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(2), pp.386-395.
- Sharrett, A., Patsch, W., Sorlie, P., Heiss, G., Bond, M. and Davis, C. (1994). Associations of lipoprotein cholesterol, apolipoproteins A-I and B, and triglycerides with carotid atherosclerosis and coronary heart disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology*, 14(7), pp.1098-1104.
- Shaw, J., Sicree, R. and Zimmet, P. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), pp.4-14.
- Sherrington, R., Rogaev, E., Liang, Y., Rogaeva, E., Levesque, G., Ikeda, M., Chi, H., Lin, C., Li, G., Holman, K., Tsuda, T., Mar, L., Foncin, J., Bruni, A., Montesi, M., Sorbi, S.,

## BIBLIOGRAFÍA

- Rainero, I., Pinessi, L., Nee, L., Chumakov, I., Pollen, D., Brookes, A., Sanseau, P., Polinsky, R., Wasco, W., Da Silva, H., Haines, J., Pericak-Vance, M., Tanzi, R., Roses, A., Fraser, P., Rommens, J. and St George-Hyslop, P. (1995). Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*, 375(6534), pp.754-760.
- Shibata, M., Yamada, S., Kumar, S., Calero, M., Bading, J., Frangione, B., Holtzman, D., Miller, C., Strickland, D., Ghiso, J. and Zlokovic, B. (2000). Clearance of Alzheimer's amyloid- $\beta$ 1-40 peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *Journal of Clinical Investigation*, 106(12), pp.1489-1499.
- Shimada, H., Ataka, S., Takeuchi, J., Mori, H., Wada, Y., Watanabe, Y. and Miki, T. (2011). Pittsburgh Compound B-Negative Dementia—A Possibility of Misdiagnosis of Patients With Non-Alzheimer Disease-Type Dementia as Having AD. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 24(3), pp.123-126.
- SIA-GAIA: Sistema de Información Ambulatoria de la Comunitat Valenciana). Disponible en <http://www.san.gva.es/web/sdg-i-d-i/introduccion>
- Sidera, C., Parsons, R. and Austen, B. (2005). The regulation of  $\beta$ -secretase by cholesterol and statins in Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 229-230, pp.269-273.
- Sies, H. (1986). Biochemistry of Oxidative Stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(12), pp.1058-1071.
- Silverberg, G., Mayo, M., Saul, T., Rubenstein, E. and McGuire, D. (2003). Alzheimer's disease, normal-pressure hydrocephalus, and senescent changes in CSF circulatory physiology: a hypothesis. *The Lancet Neurology*, 2(8), pp.506-511.

- Simpson, J., Ince, P., Lace, G., Forster, G., Shaw, P., Matthews, F., Savva, G., Brayne, C. and Wharton, S. (2010). Astrocyte phenotype in relation to Alzheimer-type pathology in the ageing brain. *Neurobiology of Aging*, 31(4), pp.578-590.
- Sign.ac.uk. (2019). *Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)*. [online] Available at: <https://www.sign.ac.uk/> [Accessed 9 Mar. 2019].
- Singh, B., Parsaik, A., Mielke, M., Erwin, P., Knopman, D., Petersen, R. and Roberts, R. (2014). Association of Mediterranean Diet with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 39(2), pp.271-282.
- Skovronsky, D., Doms, R. and Lee, V. (1998). Detection of a Novel Intraneuronal Pool of Insoluble Amyloid  $\beta$  Protein that Accumulates with Time in Culture. *The Journal of Cell Biology*, 141(4), pp.1031-1039.
- Slater, T. (1975). Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. *Biochemical Society Transactions*, 3(1), pp.62.1-62.
- Slooter, A., Cruts, M., Kalmijn, S., Hofman, A., Breteler, M., Van Broeckhoven, C. and van Duijn, C. (1998). Risk Estimates of Dementia by Apolipoprotein E Genotypes From a Population-Based Incidence Study: The Rotterdam Study. *Archives of Neurology*, 55(7), p.964.
- Smailagic, N., Vacante, M., Hyde, C., Martin, S., Ukoumunne, O. and Sachpekidis, C. (2015). 18F-FDG PET for the early diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Smith, M., Harris, P., Sayre, L. and Perry, G. (1997). Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(18), pp.9866-9868.

## BIBLIOGRAFÍA

- Smith, J., Nielson, K., Woodard, J., Seidenberg, M., Durgerian, S., Hazlett, K., Figueroa, C., Kandah, C., Kay, C., Matthews, M. and Rao, S. (2014). Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6.
- Smith, J. and Luo, Y. (2003). Elevation of oxidative free radicals in Alzheimer's disease models can be attenuated by Ginkgo biloba extract EGb 761. *Journal of Alzheimer's Disease*, 5(4), pp.287-300.
- Snowdon, D. (1996). Linguistic Ability in Early Life and Cognitive Function and Alzheimer's Disease in Late Life. *JAMA*, 275(7), p.528.
- Sociedad Española de Neurología (SEN) (2019). *Criterios de la SEN para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer – Neurología de la Conducta y Demencias*. [online] Available at: <http://demencias.sen.es/articulos/criterios-para-el-diagnostico-de-la-enfermedad-de-alzheimer-u-otras-demencias/criterios-de-la-sen-para-el-diagnostico-clinico-de-la-enfermedad-de-alzheimer/> [Accessed 24 Feb. 2019].
- Sofroniew, M. and Vinters, H. (2009). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), pp.7-35.
- Solfrizzi, V., Scafato, E., Capurso, C., D'Introno, A., Colacicco, A., Frisardi, V., Vendemiale, G., Baldereschi, M., Crepaldi, G., Di Carlo, A., Galluzzo, L., Gandin, C., Inzitari, D., Maggi, S., Capurso, A. and Panza, F. (2009). Metabolic syndrome and the risk of vascular dementia: the Italian Longitudinal Study on Ageing. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 81(4), pp.433-440.
- Song, F., Freemantle, N., Sheldon, T., House, A., Watson, P., Long, A. and Mason, J. (1993). Selective serotonin reuptake inhibitors: meta-analysis of efficacy and acceptability. *BMJ*, 306(6879), pp.683-687.

- Sontag, E., Luangpirom, A., Hladik, C., Mudrak, I., Ogris, E., Speciale, S. and White, C. (2004). Altered Expression Levels of the Protein Phosphatase 2A AB $\alpha$ C Enzyme Are Associated with Alzheimer Disease Pathology. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 63(4), pp.287-301.
- Soucek, T., Cumming, R., Dargusch, R., Maher, P. and Schubert, D. (2003). The Regulation of Glucose Metabolism by HIF-1 Mediates a Neuroprotective Response to Amyloid Beta Peptide. *Neuron*, 39(1), pp.43-56.
- Sperling, R., Johnson, K. (2010). Pro: Can biomarkers be gold standards in Alzheimers disease? *Alzheimers Research & Therapy*, 2(3):17
- Sperling, R., Aisen, P., Beckett, L., Bennett, D., Craft, S., Fagan, A., Iwatsubo, T., Jack, C., Kaye, J., Montine, T., Park, D., Reiman, E., Rowe, C., Siemers, E., Stern, Y., Yaffe, K., Carrillo, M., Thies, B., Morrison-Bogorad, M., Wagster, M. and Phelps, C. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3), pp.280-292.
- Sperling, R., Jack, C. and Aisen, P. (2011b). Testing the Right Target and Right Drug at the Right Stage. *Science Translational Medicine*, 3(111), pp.111cm33-111cm33.
- Squire, L., Stark, C. and Clark, R. (2004). The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience*, 27(1), pp.279-306.
- Sramek, J., Veroff, A. and Cutler, N. (2000). Mild Cognitive Impairment: Emerging Therapeutics. *Annals of Pharmacotherapy*, 34(10), pp.1179-1188.
- Steinberg, M., Shao, H., Zandi, P., Lyketsos, C., Welsh-Bohmer, K., Norton, M., Breitner, J., Steffens, D. and Tschanz, J. (2008). Point and 5-year period prevalence of

## BIBLIOGRAFÍA

- neuropsychiatric symptoms in dementia: the Cache County Study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(2), pp.170-177.
- Steis, M. and Schrauf, R. (2009). A Review of Translations and Adaptations of the Mini-Mental State Examination in Languages Other than English and Spanish. *Research in Gerontological Nursing*, 2(3), pp.214-224.
- Stirland, L., O'Shea, C. and Russ, T. (2017). Passive smoking as a risk factor for dementia and cognitive impairment: systematic review of observational studies. *International Psychogeriatrics*, 30(08), pp.1177-1187.
- Storr, C., Cheng, H., Alonso, J., Angermeyer, M., Bruffaerts, R., de Girolamo, G., de Graaf, R., Gureje, O., Karam, E., Kostyuchenko, S., Lee, S., Lepine, J., Medina Mora, M., Myer, L., Neumark, Y., Posada-Villa, J., Watanabe, M., Wells, J., Kessler, R. and Anthony, J. (2009). Smoking estimates from around the world: data from the first 17 participating countries in the World Mental Health Survey Consortium. *Tobacco Control*, 19(1), pp.65-74.
- Streit, W. and Xue, Q. (2009). Life and Death of Microglia. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 4(4), pp.371-379.
- Subramanian, S., Gottschalk, W., Kim, S., Roses, A. and Chiba-Falek, O. (2017). The effects of PPAR $\gamma$  on the regulation of the TOMM40 - APOE - C1 genes cluster. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(3), pp.810-816.
- Suchindran, S., Rivedal, D., Guyton, J., Milledge, T., Gao, X., Benjamin, A., Rowell, J., Ginsburg, G. and McCarthy, J. (2010). Genome-Wide Association Study of Lp-PLA2 Activity and Mass in the Framingham Heart Study. *PLoS Genetics*, 6(4), p.e1000928.
- Suh, S., Bergher, J., Anderson, C., Treadway, J., Fosgerau, K. and Swanson, R. (2007). Astrocyte Glycogen Sustains Neuronal Activity during Hypoglycemia: Studies with

- the Glycogen Phosphorylase Inhibitor CP-316,819 ([R-R\*,S\*]-5-Chloro-N-[2-hydroxy-3-(methoxymethylamino)-3-oxo-1-(phenylmethyl)propyl]-1H-indole-2-carboxamide). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321(1), pp.45-50.
- Sukonick, D., Pollock, B., Sweet, R., Mulsant, B., Rosen, J., Klunk, W., Kastango, K., DeKosky, S. and Ferrell, R. (2001). The 5-HT<sub>1A</sub> Polymorphism and Aggressive Behavior in Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 58(9), p.1425.
- Sun, J., Wei, Q., Zhou, Y., Wang, J., Liu, Q. and Xu, H. (2017). A systematic analysis of FDA-approved anticancer drugs. *BMC Systems Biology*, 11(S5).
- Sunyer, J., Esnaola, M., Alvarez-Pedrerol, M., Forn, J., Rivas, I., López-Vicente, M., Suades-González, E., Foraster, M., Garcia-Esteban, R., Basagaña, X., Viana, M., Cirach, M., Moreno, T., Alastuey, A., Sebastian-Galles, N., Nieuwenhuijsen, M. and Querol, X. (2015). Association between Traffic-Related Air Pollution in Schools and Cognitive Development in Primary School Children: A Prospective Cohort Study. *PLOS Medicine*, 12(3), p.e1001792.
- Takano, T., Han, X., Deane, R., Zlokovic, B. and Nedergaard, M. (2007). Two-Photon Imaging of Astrocytic Ca<sup>2+</sup> Signaling and the Microvasculature in Experimental Mice Models of Alzheimer's Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1097(1), pp.40-50.
- Tamaki, C., Ohtsuki, S., Iwatsubo, T., Hashimoto, T., Yamada, K., Yabuki, C. and Terasaki, T. (2006). Major Involvement of Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1 in the Clearance of Plasma Free Amyloid  $\beta$ -Peptide by the Liver. *Pharmaceutical Research*, 23(7), pp.1407-1416.
- Tan, J. (1999). Microglial Activation Resulting from CD40-CD40L Interaction After  $\beta$ -Amyloid Stimulation. *Science*, 286(5448), pp.2352-2355.

## BIBLIOGRAFÍA

- Tang, B. (2005). Alzheimer's disease: Channeling APP to non-amyloidogenic processing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 331(2), pp.375-378.
- Tang, M., Jacobs, D., Stern, Y., Marder, K., Schofield, P., Gurland, B., Andrews, H. and Mayeux, R. (1996). Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *The Lancet*, 348(9025), pp.429-432.
- Taniguchi, A., Fukushima, M., Sakai, M., Tokuyama, K., Nagata, I., Fukunaga, A., Kishimoto, H., Doi, K., Yamashita, Y., Matsuura, T., Kitatani, N., Okumura, T., Nagasaka, S., Nakaishi, S. and Nakai, Y. (2001). Effects of bezafibrate on insulin sensitivity and insulin secretion in non-obese Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism*, 50(4), pp.477-480.
- Tariot, P., Lopera, F., Langbaum, J., Thomas, R., Hendrix, S., Schneider, L., Rios-Romenets, S., Giraldo, M., Acosta, N., Tobon, C., Ramos, C., Espinosa, A., Cho, W., Ward, M., Clayton, D., Friesenhahn, M., Mackey, H., Honigberg, L., Sanabria Bohorquez, S., Chen, K., Walsh, T., Langlois, C. and Reiman, E. (2018). The Alzheimer's Prevention Initiative Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease Trial: A study of crenezumab versus placebo in preclinical PSEN1 E280A mutation carriers to evaluate efficacy and safety in the treatment of autosomal-dominant Alzheimer's disease, including a placebo-treated noncarrier cohort. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 4, pp.150-160.
- Teismann, P. and Schulz, J. (2004). Cellular pathology of Parkinson's disease: astrocytes, microglia and inflammation. *Cell and Tissue Research*, 318(1), pp.149-161.
- Tesseur, I., Van Dorpe, J., Bruynseels, K., Bronfman, F., Sciot, R., Van Lommel, A. and Van Leuven, F. (2000a). Prominent Axonopathy and Disruption of Axonal Transport in Transgenic Mice Expressing Human Apolipoprotein E4 in Neurons of Brain and Spinal Cord. *The American Journal of Pathology*, 157(5), pp.1495-1510.

- Tesseur, I., Van Dorpe, J., Spittaels, K., Van den Haute, C., Moechars, D. and Van Leuven, F. (2000b). Expression of Human Apolipoprotein E4 in Neurons Causes Hyperphosphorylation of Protein Tau in the Brains of Transgenic Mice. *The American Journal of Pathology*, 156(3), pp.951-964.
- Thal, D., Ghebremedhin, E., Orantes, M. and Wiestler, O. (2003). Vascular Pathology in Alzheimer Disease: Correlation of Cerebral Amyloid Angiopathy and Arteriosclerosis/Lipohyalinosis with Cognitive Decline. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 62(12), pp.1287-1301.
- Themedicalbiochemistrypage.org. (2019). *Lipoproteínas, las Lipoproteínas Metabolismo y Enfermedad [LDL, HDL, la Lp (a)]*. [online] Available at: <https://themedicalbiochemistrypage.org/es/lipoproteins-sp.php> [Accessed 4 Jan. 2019].
- Thiese, M. (2014). Observational and interventional study design types; an overview. *Biochemia Medica*, 24(2), pp.199-210.
- Thompson, P., Hayashi, K., de Zubicaray, G., Janke, A., Rose, S., Semple, J., Herman, D., Hong, M., Dittmer, S., Doddrell, D. and Toga, A. (2003). Dynamics of Gray Matter Loss in Alzheimer's Disease. *The Journal of Neuroscience*, 23(3), pp.994-1005.
- Thompson, B., Morton, D. and Kent, L. (2016). Don't Forget the Brain: Lifestyle Medicine in the Century of Neurodegeneration. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 11(4), pp.361-363.
- Thron, R. (1996). Direct and indirect exposure to air pollution. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 114(2), pp.281-285.
- Tombaugh, T. and McIntyre, N. (1992). The Mini-Mental State Examination: A Comprehensive Review. *Journal of the American Geriatrics Society*, 40(9), pp.922-935.

## BIBLIOGRAFÍA

- Torres-Perez, E., Ledesma, M., Garcia-Sobreviela, M., Leon-Latre, M. and Arbones-Mainar, J. (2016). Apolipoprotein E4 association with metabolic syndrome depends on body fatness. *Atherosclerosis*, 245, pp.35-42.
- Tseng, B., Green, K., Chan, J., Blurton-Jones, M. and LaFerla, F. (2008). A $\beta$  inhibits the proteasome and enhances amyloid and tau accumulation. *Neurobiology of Aging*, 29(11), pp.1607-1618.
- Tuppo, E., Forman, L., Spur, B., Chan-Ting, R., Chopra, A. and Cavalieri, T. (2001). Sign of lipid peroxidation as measured in the urine of patients with probable Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 54(5), pp.565-568.
- Tzivian, L., Winkler, A., Dlugaj, M., Schikowski, T., Vossoughi, M., Fuks, K., Weinmayr, G. and Hoffmann, B. (2015). Effect of long-term outdoor air pollution and noise on cognitive and psychological functions in adults. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(1), pp.1-11.
- Tzivian, L., Jokisch, M., Winkler, A., Weimar, C., Hennig, F., Sugiri, D., Soppa, V., Dragano, N., Erbel, R., Jöckel, K., Moebus, S. and Hoffmann, B. (2017). Associations of long-term exposure to air pollution and road traffic noise with cognitive function—An analysis of effect measure modification. *Environment International*, 103, pp.30-38.
- Toledo, J., Vanderstichele, H., Figurski, M., Aisen, P., Petersen, R., Weiner, M., Jack, C., Jagust, W., Decarli, C., Toga, A., Toledo, E., Xie, S., Lee, V., Trojanowski, J. and Shaw, L. (2011). Factors affecting A $\beta$  plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI. *Acta Neuropathologica*, 122(4), pp.401-413.
- Tower, D. and Young, O. (1973). The activities of butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase, the rate of anaerobic glycolysis, and the question of a constant density of glial cells in cerebral cortices of various mammalian species from mouse to whale. *Journal of Neurochemistry*, 20(2), pp.269-278.

- Trommsdorff, M., Borg, J., Margolis, B. and Herz, J. (1998). Interaction of Cytosolic Adaptor Proteins with Neuronal Apolipoprotein E Receptors and the Amyloid Precursor Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 273(50), pp.33556-33560.
- UN.org. (2015). *United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division*. [online] Available at: <http://www.un.org/en/development/desa/population/> [Accessed 23 Feb. 2019].
- Valentí Soler, M., Agüera-Ortiz, L., Olazarán Rodríguez, J., Mendoza Rebolledo, C., Pérez Muñoz, A., Rodríguez Pérez, I., Osa Ruiz, E., Barrios Sánchez, A., Herrero Cano, V., Carrasco Chillón, L., Felipe Ruiz, S., López Alvarez, J., León Salas, B., Cañas Plaza, J., Martín Rico, F., Abella Dago, G. and Martínez Martín, P. (2015). Social robots in advanced dementia. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 7.
- Valenzuela, M. (2008). Brain reserve and the prevention of dementia. *Current Opinion in Psychiatry*, 21(3), pp.296-302.
- Vallés, S., Borrás, C., Gambini, J., Furriol, J., Ortega, A., Sastre, J., Pallardó, F. and Viña, J. (2008). Oestradiol or genistein rescues neurons from amyloid beta-induced cell death by inhibiting activation of p38. *Aging Cell*, 7(1), pp.112-118.
- Vallés, S., Dolz-Gaiton, P., Gambini, J., Borrás, C., Lloret, A., Pallardo, F. and Viña, J. (2010). Estradiol or genistein prevent Alzheimer's disease-associated inflammation correlating with an increase PPAR $\gamma$  expression in cultured astrocytes. *Brain Research*, 1312, pp.138-144.
- Van Eldik, L., Carrillo, M., Cole, P., Feuerbach, D., Greenberg, B., Hendrix, J., Kennedy, M., Kozauer, N., Margolin, R., Molinuevo, J., Mueller, R., Ransohoff, R., Wilcock, D., Bain, L. and Bales, K. (2016). The roles of inflammation and immune mechanisms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 2(2), pp.99-109.

## BIBLIOGRAFÍA

- Van der Flier, W. (2005). Epidemiology and risk factors of dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 76(suppl\_5), pp.v2-v7.
- Van Dyck, C. (2018). Anti-Amyloid- $\beta$  Monoclonal Antibodies for Alzheimer's Disease: Pitfalls and Promise. *Biological Psychiatry*, 83(4), pp.311-319.
- Van Rensburg, S., Carstens, M., Potocnik, F., Aucamp, A. and Taljaard, J. (1993). Increased frequency of the transferrin C2 subtype in Alzheimer's disease. *NeuroReport*, 4(11), pp.1269-1271.
- Vance, J., Hayashi, H. and Karten, B. (2005). Cholesterol homeostasis in neurons and glial cells. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 16(2), pp.193-212.
- Vegeto, E., Benedusi, V. and Maggi, A. (2008). Estrogen anti-inflammatory activity in brain: A therapeutic opportunity for menopause and neurodegenerative diseases. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(4), pp.507-519.
- Vellas, B., Andrieu, S., Sampaio, C. and Wilcock, G. (2007). Disease-modifying trials in Alzheimer's disease: a European task force consensus. *The Lancet Neurology*, 6(1), pp.56-62.
- Verghese, P., Castellano, J. and Holtzman, D. (2011). Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *The Lancet Neurology*, 10(3), pp.241-252.
- Verme, J. (2005). The Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Mediates the Anti-Inflammatory Actions of Palmitoylethanolamide. *Molecular Pharmacology*, 67(1), pp.15-19.
- Viceconti, M., Henney, A. and Morley-Fletcher, E. (2016). In silico clinical trials: how computer simulation will transform the biomedical industry. *International Journal of Clinical Trials*, 3(2), p.37.

- Vidal-Puig, A., Considine, R., Jimenez-Liñan, M., Werman, A., Pories, W., Caro, J. and Flier, J. (1997). Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *Journal of Clinical Investigation*, 99(10), pp.2416-2422.
- Villarejo, A., Benito-León, J., Trincado, R., Posada, I., Puertas-Martín, V., Boix, R., Medrano, M. and Bermejo-Pareja, F. (2011). Dementia-Associated Mortality at Thirteen Years in the NEDICES Cohort Study. *Journal of Alzheimer's Disease*, 26(3), pp.543-551.
- Villemagne, V., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K., Salvado, O., Szoek, C., Macaulay, S., Martins, R., Maruff, P., Ames, D., Rowe, C. and Masters, C. (2013). Amyloid  $\beta$  deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(4), pp.357-367.
- Viña, J. (2004). Molecular bases of the treatment of Alzheimer's disease with antioxidants: prevention of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(1-2), pp.117-123.
- Viña, J., Lloret, A., Vallés, S., Borrás, C., Badía, M., Pallardó, F., Sastre, J. and Alonso, M. (2007). Mitochondrial Oxidant Signalling in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 11(2), pp.175-181.
- Viña, J. and Lloret, A. (2010). Why Women Have More Alzheimer's Disease Than Men: Gender and Mitochondrial Toxicity of Amyloid- $\beta$  Peptide. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(s2), pp.S527-S533.
- Viña, J. and Sanz-Ros, J. (2018). Alzheimer's disease: Only prevention makes sense. *European Journal of Clinical Investigation*, 48(10):e13005.

## BIBLIOGRAFÍA

- Vinters, H., Ellis, W., Zarow, C., Zaias, B., Jagust, W., Mack, W. and Chui, H. (2000). Neuropathologic Substrates of Ischemic Vascular Dementia. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(11), pp.931-945.
- Virués-Ortega, J., de Pedro-Cuesta, J., Vega, S., Seijo-Martínez, M., Saz, P., Rodríguez, F., Rodríguez-Laso, Á., Reñé, R., de las Heras, S., Mateos, R., Martínez-Martín, P., Mahillo-Fernández, I., López-Pousa, S., Lobo, A., Reglà, J., Gascón, J., García, F., Fernández-Martínez, M., Boix, R., Bermejo-Pareja, F., Bergareche, A., Sánchez-Sánchez, F., de Arce, A. and del Barrio, J. (2011). Prevalence and European comparison of dementia in a ≥75-year-old composite population in Spain. *Acta Neurologica Scandinavica*, 123(5), pp.316-324.
- Von Rosenstiel, P. (2018). Aducanumab 48-month analyses from PRIME, a Phase 1b study in patients with early Alzheimer's disease. [Resultados en] 11th Clinical Trials on Alzheimer's Disease (CTAD). October 24-27, 2018 (Barcelona, Spain)
- Vos, P., de Boer, W., Wurzer, J. and van Gijn, J. (1991). Subdural hematoma after lumbar puncture: two case reports and review of the literature. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 93(2), pp.127-132.
- Volterra, A. and Meldolesi, J. (2005). Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(8), pp.626-640.
- Whalley, L., Starr, J., Athawes, R., Hunter, D., Pattie, A. and Deary, I. (2000). Childhood mental ability and dementia. *Neurology*, 55(10), pp.1455-1459.
- Walker, D., Kim, S. and McGeer, P. (1995). Complement and cytokine gene expression in cultured microglia derived from postmortem human brains. *Journal of Neuroscience Research*, 40(4), pp.478-493.

- Walker, D. and Lue, L. (2005). Investigations with cultured human microglia on pathogenic mechanisms of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Journal of Neuroscience Research*, 81(3), pp.412-425.
- Walle, T. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 32(12), pp.1377-1382.
- Walsh, D., Hartley, D., Kusumoto, Y., Fezoui, Y., Condron, M., Lomakin, A., Benedek, G., Selkoe, D. and Teplow, D. (1999). Amyloid  $\beta$ -Protein Fibrillogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 274(36), pp.25945-25952.
- Walsh, D., Klyubin, I., Fadeeva, J., Cullen, W., Anwyl, R., Wolfe, M., Rowan, M. and Selkoe, D. (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 416(6880), pp.535-539.
- Wang, J., Grundke-Iqbal, I. and Iqbal, K. (2007). Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *European Journal of Neuroscience*, 25(1), pp.59-68.
- Wang, Y., Lee, C., Tjep, S., Yu, R., Ham, J., Kang, H. and Evans, R. (2003). Peroxisome-Proliferator-Activated Receptor  $\delta$  Activates Fat Metabolism to Prevent Obesity. *Cell*, 113(2), pp.159-170.
- Wang, J., Tanila, H., Puoliväli, J., Kadish, I. and Groen, T. (2003). Gender differences in the amount and deposition of amyloid $\beta$  in APPswe and PS1 double transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 14(3), pp.318-327.
- Ward, A., Crean, S., Mercaldi, C., Collins, J., Boyd, D., Cook, M. and Arrighi, H. (2012). Prevalence of Apolipoprotein E4 Genotype and Homozygotes (APOE e4/4) among Patients Diagnosed with Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*, 38(1), pp.1-17.

## BIBLIOGRAFÍA

- Watson, G., Peskind, E., Asthana, S., Purganan, K., Wait, C., Chapman, D., Schwartz, M., Plymate, S. and Craft, S. (2003). Insulin increases CSF A $\beta$ 42 levels in normal older adults. *Neurology*, 60(12), pp.1899-1903.
- Watt, F. (1996). Nuclear microscope analysis in Alzheimer's and Parkinson's disease: A review. *Cellular and Molecular Biology*, 42(1), pp.17-26.
- Weber, W., Merino, J. and Loder, E. (2015). Trial registration 10 years on. *BMJ*, p.h3572.
- Weingarten, M., Lockwood, A., Hwo, S. and Kirschner, M. (1975). A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(5), pp.1858-1862.
- Wernette-Hammond, M., Garcia, Z., Arnold, K. and Innerarity, T. (1989). Beta-very low density lipoprotein uptake in cultured fibroblasts and smooth muscle cells from Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arteriosclerosis: An Official Journal of the American Heart Association, Inc.*, 9(4), pp.501-510.
- Wertkin, A., Turner, R., Pleasure, S., Golde, T., Younkin, S., Trojanowski, J. and Lee, V. (1993). Human neurons derived from a teratocarcinoma cell line express solely the 695-amino acid amyloid precursor protein and produce intracellular beta-amyloid or A $\beta$ 4 peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(20), pp.9513-9517.
- Westfall, J., Mold, J. and Fagnan, L. (2007). Practice-Based Research—"Blue Highways" on the NIH Roadmap. *JAMA*, 297(4), p.403.
- Whitehouse, P., Price, D., Struble, R., Clark, A., Coyle, J. and Delon, M. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 215(4537), pp.1237-1239.
- Who.int. (2015). *Demencia*. [online] Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia> [Accessed 16 Feb. 2019].

- Whocc.no. (2019). *WHOCC - ATC/DDD Index*. [online] Available at: [https://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](https://www.whocc.no/atc_ddd_index/) [Accessed 10 Feb. 2019].
- William Rebeck, G., Reiter, J., Strickland, D. and Hyman, B. (1993). Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: Allelic variation and receptor interactions. *Neuron*, 11(4), pp.575-580.
- Willson, T., Brown, P., Sternbach, D. and Henke, B. (2000). The PPARs: From Orphan Receptors to Drug Discovery†. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(4), pp.527-550.
- Wirhth, O., Multhaup, G. and Bayer, T. (2004). A modified beta-amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide - the first step of a fatal cascade. *Journal of Neurochemistry*, 91(3), pp.513-520.
- Wirhth, O., Multhaup, G., Czech, C., Blanchard, V., Moussaoui, S., Tremp, G., Pradier, L., Beyreuther, K. and Bayer, T. (2001). Intraneuronal A $\beta$  accumulation precedes plaque formation in  $\beta$ -amyloid precursor protein and presenilin-1 double-transgenic mice. *Neuroscience Letters*, 306(1-2), pp.116-120.
- Wisniewski, T. and Frangione, B. (1992). Apolipoprotein E: A pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neuroscience Letters*, 135(2), pp.235-238.
- Wolfe, M. (2012). Processive proteolysis by  $\gamma$ -secretase and the mechanism of Alzheimer's disease. *Biological Chemistry*, 393(9).
- Wong-ekkabut, J., Xu, Z., Triampo, W., Tang, I., Peter Tieleman, D. and Monticelli, L. (2007). Effect of Lipid Peroxidation on the Properties of Lipid Bilayers: A Molecular Dynamics Study. *Biophysical Journal*, 93(12), pp.4225-4236.
- Wu, Y., Wu, Z., Butko, P., Christen, Y., Lambert, M., Klein, W., Link, C. and Luo, Y. (2006). Amyloid-Induced Pathological Behaviors Are Suppressed by Ginkgo biloba

## BIBLIOGRAFÍA

- Extract EGb 761 and Ginkgolides in Transgenic *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neuroscience*, 26(50), pp.13102-13113.
- Wyss-Coray, T. and Mucke, L. (2002). Inflammation in Neurodegenerative Disease—A Double-Edged Sword. *Neuron*, 35(3), pp.419-432.
- Wyss-Coray, T., Loike, J., Brionne, T., Lu, E., Anankov, R., Yan, F., Silverstein, S. and Husemann, J. (2003). Adult mouse astrocytes degrade amyloid- $\beta$  in vitro and in situ. *Nature Medicine*, 9(4), pp.453-457.
- Xu, H., Lambert, M., Montana, V., Plunket, K., Moore, L., Collins, J., Oplinger, J., Kliewer, S., Gampe, R., McKee, D., Moore, J. and Willson, T. (2001). Structural determinants of ligand binding selectivity between the peroxisome proliferator-activated receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(24), pp.13919-13924.
- Xu, P., Schmechel, D., Rothrock-Christian, T., Burkhart, D., Qiu, H., Popko, B., Sullivan, P., Maeda, N., Saunders, A., Roses, A. and Gilbert, J. (1996). Human Apolipoprotein E2, E3, and E4 Isoform-Specific Transgenic Mice: Human-like Pattern of Glial and Neuronal Immunoreactivity in Central Nervous System Not Observed in Wild-Type Mice. *Neurobiology of Disease*, 3(3), pp.229-245.
- Yamaguchi, H., Nakazato, Y., Shoji, M., Takatama, M. and Hirai, S. (1991). Ultrastructure of diffuse plaques in senile dementia of the Alzheimer type: comparison with primitive plaques. *Acta Neuropathologica*, 82(1), pp.13-20.
- Yan, Q., Zhang, J., Liu, H., Babu-Khan, S., Vassar, R., Biere, A., Citron, M. and Landreth, G. (2003). Anti-Inflammatory Drug Therapy Alters  $\beta$ -Amyloid Processing and Deposition in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *The Journal of Neuroscience*, 23(20), pp.7504-7509.

- Yarchoan, M., James, B., Shah, R., Arvanitakis, Z., Wilson, R., Schneider, J., Bennett, D. and Arnold, S. (2017). Association of Cancer History with Alzheimer's Disease Dementia and Neuropathology. *Journal of Alzheimer's Disease*, 56(2), pp.699-706.
- Yarkony, G., Roth, E., Heinemann, A. and Lovell, L. (1988). Spinal cord injury rehabilitation outcome: the impact of age. *Journal of Clinical Epidemiology*, 41(2), pp.173-177.
- Yin, F. and Wang, X. (2009). Microglia in pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 29(2), pp.208-212.
- Yu, C., Seltman, H., Peskind, E., Galloway, N., Zhou, P., Rosenthal, E., Wijsman, E., Tsuang, D., Devlin, B. and Schellenberg, G. (2007). Comprehensive analysis of APOE and selected proximate markers for late-onset Alzheimer's disease: Patterns of linkage disequilibrium and disease/marker association. *Genomics*, 89(6), pp.655-665.
- Yue, L., Rasouli, N., Ranganathan, G., Kern, P. and Mazzone, T. (2004). Divergent Effects of Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Agonists and Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  on Adipocyte ApoE Expression. *Journal of Biological Chemistry*, 279(46), pp.47626-47632.
- Zahodne, L., Ornstein, K., Cosentino, S., Devanand, D. and Stern, Y. (2015). Longitudinal Relationships Between Alzheimer Disease Progression and Psychosis, Depressed Mood, and Agitation/Aggression. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(2), pp.130-140.
- Zhong, N. and Weisgraber, K. (2008). Understanding the Association of Apolipoprotein E4 with Alzheimer Disease: Clues from Its Structure. *Journal of Biological Chemistry*, 284(10), pp.6027-6031.
- Zhou, Q., Zhao, F., Lv, Z., Zheng, C., Zheng, W., Sun, L., Wang, N., Pang, S., de Andrade, F., Fu, M., He, X., Hui, J., Jiang, W., Yang, C., Shi, X., Zhu, X., Pang, G., Yang, Y., Xie, H.,

## BIBLIOGRAFÍA

Zhang, W., Hu, C. and Yang, Z. (2014). Association between APOC1 Polymorphism and Alzheimer's Disease: A Case-Control Study and Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 9(1), p.e87017.

Zimmermann, M. (2017). *The poetics and politics of Alzheimer's disease life-writing*. London (UK): Palgrave Macmillan.