

Diana Alicia Jerusalinsky, María Verónica
Báez, Magali Cercato y Cecilia Frecha
Instituto de Biología Celular y Neurociencias Profesor
Eduardo De Robertis (IBCN), UBA-Conicet

Búsqueda de nuevas terapias para el mal de Alzheimer

La enfermedad identificada por primera vez por el médico bávaro Aloisius Alzheimer (1864-1915), que hoy se conoce por su nombre, es la principal causa de deterioro cognitivo y demencia en personas añosas. Se caracteriza clínicamente por la dificultad de formar nuevas memorias, por cambios en el comportamiento, por la disminución de la capacidad de aprender y por dificultades para recordar lo vivido, lo cual conduce finalmente a la demencia. La Primera Conferencia Ministerial de la OMS para la Acción Mundial contra la Demencia (2015) estimó que 47,5 millones de personas la padecen actualmente en el mundo. En los Estados Unidos, se aprecia que hay unos 5,4 millones de enfermos de ella (5,2 millones son mayores de 65 años). Disponemos de escasas cifras para la Argentina y para Sudamérica.



Aloisius Alzheimer, 1915. Wikimedia Commons

¿DE QUÉ SE TRATA?

Avanza el conocimiento de los procesos bioquímicos cerebrales de la enfermedad de Alzheimer y se realizan intentos de encontrar un camino terapéutico que se vale de la ingeniería genética.

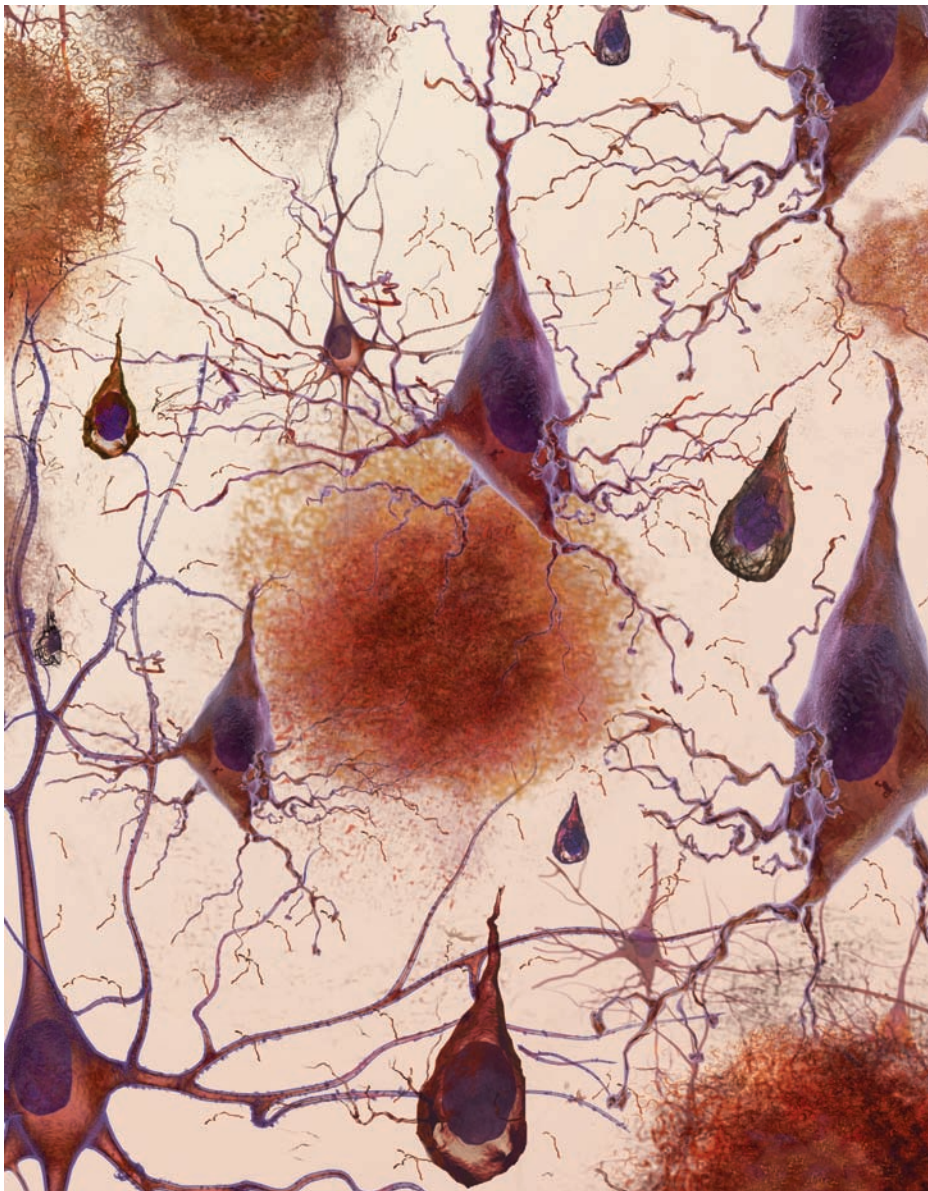
El mal de Alzheimer es una dolencia neurodegenerativa que se caracteriza por la acumulación en el sistema nervioso, dentro y fuera de sus células, de ciertas proteínas anormales que el organismo tiene dificultades de degradar o remover. En particular, en el cerebro de los enfermos de Alzheimer se producen acumulaciones anormales del péptido *amiloide beta*, un producto habitual de las células que se encuentra en baja concentración en todos los cerebros. (Los péptidos son moléculas algo más pequeñas que las proteínas y, como ellas, están compuestos por aminoácidos.) Cuando aumenta su concentración, dichos péptidos se reúnen en el espacio entre las neuronas, primero en grupos de pocas unidades –genéricamente llamados *oligómeros*– que luego se van agregando, forman fibras cada vez más gruesas y terminan constituyendo las *placas seniles*.

Además, una proteína de las neuronas llamada *proteína tau*, que es esencial para el normal funcionamiento de esas células, en los enfermos de Alzheimer adquiere una disposición anormal que altera la estructura y la función de las neuronas afectadas, las cuales terminan muriendo. No sabemos si el aumento de los péptidos amiloides beta ocurre antes o después de la modificación de la proteína tau.

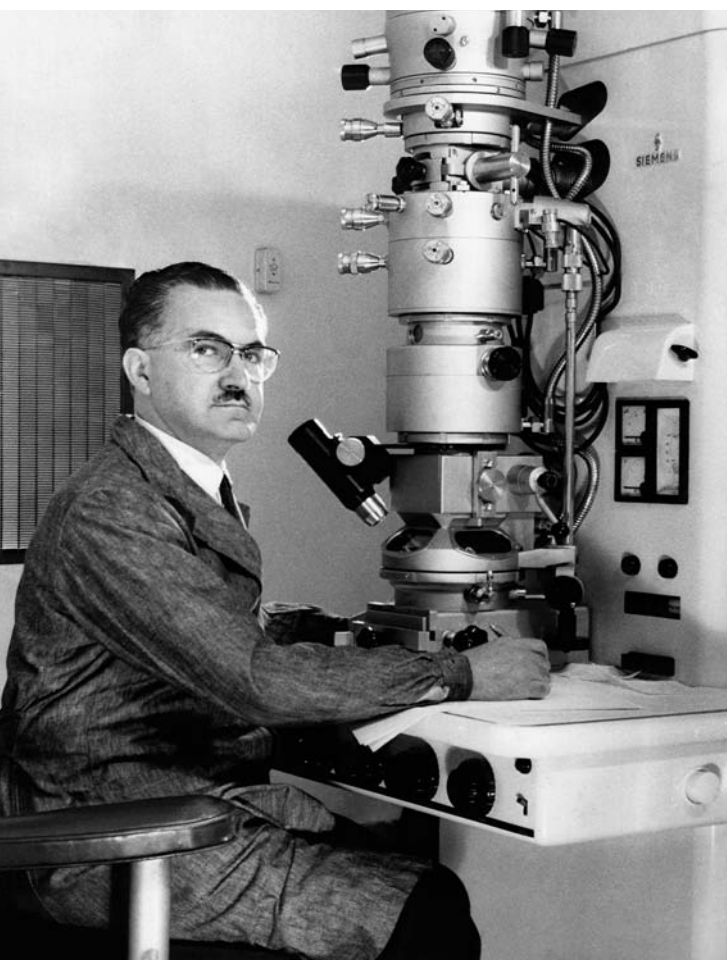
El mal de Alzheimer se presenta en dos formas: una familiar, heredable, y otra esporádica. La primera origina por lo menos el 5% de los casos, aparece en edades más tempranas y, la mayoría de las veces, es causada por mutaciones en los genes que gobiernan sea una proteína precursora de dicho péptido amiloide (conocida por APP, siglas de *amyloid precursor protein*), sea las enzimas participantes en el procesamiento de las mencionadas proteínas. La

forma esporádica de Alzheimer, responsable de más del 90% de los casos, aparece por lo general después de los sesenta y cinco años, sin causas genéticas conocidas ni una asociación claramente demostrada con otro tipo de antecedentes. En ambas formas se producen las anomalías descritas.

Si bien las causas de la dolencia no han sido establecidas, la hipótesis más difundida en el medio científico es que los oligómeros del péptido amiloide beta, al unirse con las membranas de las neuronas, generarían cambios en el funcionamiento de estas, se producirían las modificaciones de la proteína tau y se acumularía patológicamente el amiloide. Esa unión de los oligómeros con las membranas de las neuronas se produce en las *sinapsis*, los lugares en los que se transmite el impulso nervioso de una neurona a otra sin que ellas se toquen, pues están separadas por un pequeño *espacio sináptico*. La transmisión de la señal nerviosa, sin embargo, se da porque, en su extremo, el *axón* de la neurona que emite el impulso –o *neurona presináptica*– contiene unas vesículas submicroscópicas llamadas *vesículas sinápticas*, cuyo funcionamiento explica esa transmisión.



Placas amiloides (manchas rojizas) entre las neuronas cerebrales de un paciente del mal de Alzheimer. Foto National Institutes of Health



Eduardo De Robertis con el primer microscopio electrónico adquirido por la UBA, ca. 1961. Foto Grete Stern

El descubrimiento de las vesículas sinápticas, realizado en 1954, resultó crucial para el advenimiento de las neurociencias modernas. Realizaron ese hallazgo Henry Stanley Bennet (1911-1992) y Eduardo De Robertis (1913-1988) trabajando en colaboración en la Universidad de Washington, en Seattle. (Se puede consultar el artículo en que lo publicaron en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2223594/pdf/47.pdf>.) Del segundo proviene el nombre del instituto en que se desempeñan las autoras, puesto en 1992 como reconocimiento a una labor que dio gran impulso a la investigación local en biología celular y en neurociencias.

Las vesículas sinápticas contienen los neurotransmisores (las sustancias que producen las neuronas para comunicarse químicamente con otras neuronas). Cada vez que llega un impulso nervioso a la porción terminal del axón de la neurona emisora, las vesículas se unen a la cara interna de la membrana de esa neurona y a través de ella liberan el neurotransmisor al espacio sináptico. En la membrana de la neurona que recibe el impulso nervioso, o neurona postsináptica, hay proteínas que reconocen

a ese neurotransmisor, llamadas *neurorreceptores*, los cuales provocan en la neurona receptora los cambios por los que ese impulso nervioso sigue su viaje. Ese es el mecanismo normal de transmisión del impulso nervioso entre neuronas, y también es normal que el cerebro se adecue a distintas circunstancias mediante cambios en la estructura o en la bioquímica de las sinapsis que alteran los efectos de la transmisión sobre las neuronas postsinápticas (fenómeno denominado *plasticidad sináptica*).

Volviendo al Alzheimer, sucede que los oligómeros de amiloide beta se unen a ciertos neurorreceptores de las sinapsis que son determinantes en la transmisión nerviosa. Como consecuencia, se producen alteraciones persistentes de esa transmisión, del funcionamiento de las sinapsis y de la plasticidad sináptica. Se considera que la memoria está sustentada por diferentes formas de plasticidad sináptica, que resultan perturbadas por los oligómeros de amiloide beta. ¿Cómo sucede?

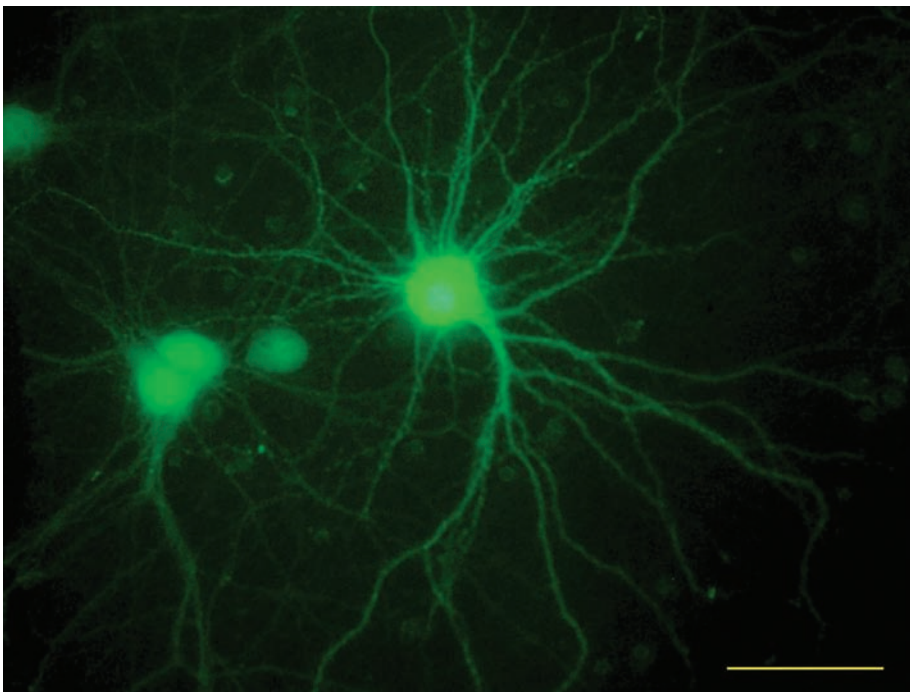
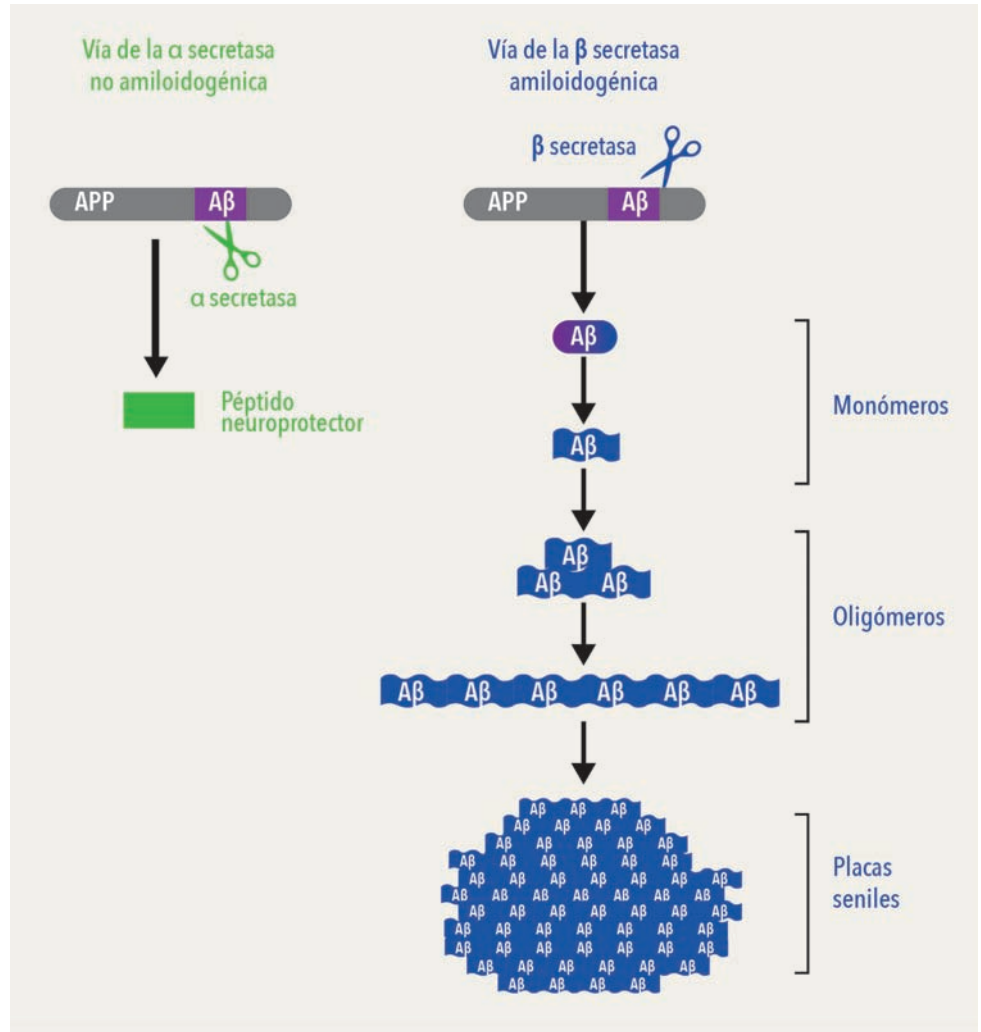
En un gran número de las sinapsis que existen entre las neuronas cerebrales, el neurotransmisor liberado es el aminoácido *glutamato*, que ejerce su acción uniéndose con varios tipos de neurorreceptores de la membrana de la neurona postsináptica. Los neurorreceptores de glutamato participan en la plasticidad sináptica y en el procesamiento de la memoria, especialmente en el hipocampo y la corteza cerebral.

Los oligómeros del péptido amiloide beta se comportan en parte como el neurotransmisor glutamato, pero ocasionan una estimulación exagerada de ciertos neurorreceptores de glutamato llamados NMDA, que son proteínas abundantes en muchas sinapsis del cerebro. Esa sobreestimulación produce un ingreso masivo de iones de calcio (Ca^{2+}) en la célula, lo que da lugar a importantes cambios en su interior, entre ellos, alteraciones en la estructura y función de las sinapsis. Dichas alteraciones impiden la adecuada transmisión de información entre las células nerviosas, inhiben la plasticidad sináptica y dan lugar a cambios en el interior de las neuronas que las llevan finalmente a la muerte.

En otras palabras, las alteraciones producidas en las sinapsis mucho antes de la muerte de las neuronas serían, posiblemente, la causa más temprana de las leves alteraciones de la memoria y del comportamiento, síntomas que aparecen en las primeras etapas de la enfermedad de Alzheimer.

Investigaciones realizadas en nuestro laboratorio permitieron demostrar la necesidad de que estén presentes los neurorreceptores NMDA en las membranas de las células nerviosas para que los oligómeros del péptido amiloide beta se unan a las sinapsis. Para hacerlo, anulamos esos neurorreceptores y constatamos que en esas condiciones dichos oligómeros no se unían a las neuronas y no se producían las alteraciones.

Origen de los amiloides. La proteína precursora del amiloide (APP) se encuentra en la membrana de las células y tiene algunas funciones importantes durante el desarrollo del organismo. La figura esquematiza los dos posibles cambios que experimenta la APP: el de la izquierda, en verde, que no produce péptido amiloide, y el de la derecha, en azul, que lo produce. La APP es cortada por enzimas llamadas *secretasas*, de las que interesan dos clases: la α y la β . Cuando la primera en cortar la APP es la α secretasa, se generan pequeños péptidos que son neuroprotectores. En cambio, cuando la APP es cortada inicialmente por la β -secretasa, aparecen los amiloides beta ($A\beta$) en forma de monómeros, los cuales, a medida que aumenta su concentración, se unen entre sí y forman oligómeros. Los oligómeros, a su vez, se van agregando para constituir fibras que se depositan entre las células del tejido nervioso y constituyen las placas seniles. Los oligómeros de amiloide beta son potentes toxinas que dañan primero a las sinapsis y luego a toda la neurona.



Neuronas de hipocampo de rata cultivadas in vitro e infectadas en el laboratorio de neuroplasticidad y neurotoxinas por un virus que produce una proteína fluorescente verde. La barra que da la escala mide 50 micrómetros. Foto tomada en un microscopio de fluorescencia del IBCN.

Nuevas terapias

A pesar de los esfuerzos realizados y de los recursos invertidos, actualmente no existen terapias capaces de prevenir o curar la enfermedad. En 2001 se intentó una vacuna con oligómeros del péptido amiloide beta, la que produjo anticuerpos capaces de neutralizar su toxicidad. Pero cuando se llegó a la etapa de ensayar la vacuna en seres humanos, luego de haberse obtenido resultados promisorios en ratones, los anticuerpos naturales producidos por el organismo en respuesta a dicha vacuna también generaron una inflamación cerebral extremadamente dañina en algunos pacientes, por lo que los ensayos se suspendieron.

En estos momentos se intentan nuevos enfoques terapéuticos basados en los avances de la inmunología y la biología molecular. Uno de ellos es la

construcción en laboratorio de anticuerpos que incluyan fragmentos de los generados naturalmente por el organismo y sean capaces de unirse con los péptidos pero tengan reducida o nula capacidad de provocar reacciones inflamatorias. Esos fragmentos son más pequeños que un anticuerpo natural, por lo que pueden distribuirse ampliamente por el cuerpo, en particular por el cerebro.

En nuestro laboratorio desarrollamos vectores virales capaces de generar pequeños anticuerpos artificiales con la efectiva capacidad de reconocer y neutralizar los oligómeros del péptido amiloide beta. Procuramos así definir una terapia experimental que logre detener los efectos tóxicos de los oligómeros en las sinapsis, a ser aplicada en ciertos animales en los que se investiga la enfermedad (o animales modelo) y así evitar los pasos tempranos de ella.

El procedimiento se basa en las propiedades de ciertos virus de entrar fácilmente en las neuronas, lo que hizo pensar que se los puede convertir en vehículos para

introducir sustancias en el sistema nervioso. La manera de hacerlo es, primero, anular la toxicidad del virus, lo que se logra quitándole los genes que le dan la capacidad de enfermar. Luego, introducirle genes que no son suyos (llamados *transgenes*) con la información que les permite fabricar las proteínas deseadas, en este caso, anticuerpos artificiales contra oligómeros de los péptidos amiloides beta. Esperamos aportar, de esta manera, conocimiento que permita explorar una nueva vía de ataque al mal de Alzheimer. **[H]**

En algunas de las investigaciones llevadas a cabo en el laboratorio de neuroplasticidad y neurotoxinas (LNN) del IBCN, además de las autoras, participaron Edgar Kornisiuk, Cecilia Vázquez, Alejandra Aguirre, María Clara Sellés y Alejandro Josiowicz, así como Adriano Sebollela de la Universidad de São Paulo. El LNN es parte, desde hace quince años, de un esfuerzo colaborativo internacional con el objetivo de desarrollar vectores que actúen sobre las células nerviosas y sean aprovechables para fines de investigación científica y terapéuticos. Coordinan esas tareas Anna Salvetti (INSERM, Lyon), Alberto Epstein (Université de Versailles Saint Quentin), Sergio Ferreira (Universidad Federal de Río de Janeiro) y Diana Jerusalinsky.

LECTURAS SUGERIDAS

DECKER H et al., 2010, 'N-methyl-D-aspartate receptors are required for synaptic targeting of Alzheimer's toxic amyloid- β peptide oligomers', *Journal of Neurochemistry*, 115, 6: 1520-1529.

GOEDERT M & SPILLANTINI MG, 2006, 'A century of Alzheimer's disease', *Science*, 314, 5800: 777-781.

JAIM ETCHEVERRY G, 1988, 'La vida y la obra de Eduardo De Robertis (1913-1988): un desafío a la juventud', *Medicina*, 48, 4: 429-432.

JERUSALINSKY D, BÁEZ MV & EPSTEIN AL, 2012, 'Herpes simplex virus type 1-based amplicon vectors for fundamental research in neurosciences and gene therapy of neurological diseases', *Journal of Physiology Paris*, 106, 1-2: 2-11.

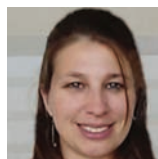
Página de la Alzheimer's Disease Association, <http://www.alz.org>.

Página de la Alzheimer's Society, <http://www.alzheimers.org.uk>.



Diana Alicia Jerusalinsky

Doctora en ciencias biológicas, FCEN, UBA.
Investigadora principal en el IBCN, UBA-Conicet.
Profesora titular, Ciclo Básico Común, UBA.



María Verónica Báez

Doctora en bioquímica, FFB, UBA.
Investigadora asistente en el IBCN, UBA-Conicet.
Docente auxiliar, Facultad de Medicina, UBA.



Magali Cercato

Biotecnóloga, Universidad Nacional de Quilmes.
Becaria doctoral en el IBCN, UBA-Conicet.



Cecilia Frecha

Doctora en bioquímica, FFB, UBA.
Investigadora adjunta en el IBCN, UBA-Conicet.