

ENVEJECIMIENTO CEREBRAL: ¿UN PROCESO IRREVERSIBLE?

por ANTONIA GUTIÉRREZ

DPTO. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. CAMPUS DE TEATINOS 29071. MÁLAGA (ESPAÑA). CATEDRÁTICA DE BIOLOGÍA CELULAR E INVESTIGADORA PRINCIPAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE MÁLAGA (IBIMA) Y DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED SOBRE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS (CIBERNED).

AGUTIERREZ@UMA.ES

Palabras clave: envejecimiento, cerebro, memoria, Alzheimer, parabiosis
Keywords: aging, brain, memory, Alzheimer, parabiosis

Enviado: 2 de Diciembre de 2016
Aceptado: 2 de Diciembre de 2016

La población mundial está envejeciendo rápidamente. El envejecimiento cerebral conlleva un deterioro de la memoria y la función cognitiva, que no se asocian con una pérdida masiva de neuronas sino con cambios sinápticos y con una reducción de la población de células madres/progenitoras neurales y del proceso de neurogénesis. La edad es el principal factor de riesgo para desarrollar la enfermedad de Alzheimer (AD), un trastorno neurodegenerativo devastador que culmina en un estado de demencia y total dependencia de los pacientes y para el cual aún no existe un tratamiento farmacológico efectivo. El número de personas mayores de 80 años se triplicará en el 2050, y aproximadamente la mitad sufrirá de AD. Los efectos del envejecimiento habían sido considerados tradicionalmente inmutables, sin embargo las investigaciones recientes demuestran que las intervenciones sistémicas extrínsecas, tales como el ejercicio físico, la restricción calórica y los cambios en la composición de la sangre mediante parabiosis heterocrónica o administración de plasma de individuos jóvenes, tienen el potencial de contrarrestar la pérdida de plasticidad en el cerebro de ratones viejos, mejorando significativamente la memoria y la función cognitiva. Por lo tanto, los potenciales factores rejuvenecedores sistémicos podrían ser la base de futuras estrategias para revertir el deterioro cognitivo durante el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas.

The world population is aging rapidly. Aging brain is associated with cognitive and memory impairments which are linked, not to a general loss of neurons, but to synaptic changes and reduction in adult stem/progenitor cells and neurogenesis. Aging is the strongest risk factor for the development of Alzheimer's disease (AD), a devastating neurodegenerative disorder that culminates in dementia and total dependence of patients and for which effective pharmacological treatment is not yet available. The number of elderly people over 80 years is projected to triple globally by 2050 and nearly half will be afflicted with AD. The effects of aging were traditionally thought to be immutable, however current research provides an increasing body of evidence supporting extrinsic systemic manipulations such as physical exercise, caloric restriction, and changing blood composition by heterochronic parabiosis or young plasma administration to have the potential to counteract this age-related loss of plasticity in the mice aged brain, significantly improving memory and cognition. Therefore, potential systemic rejuvenating factors may constitute the basis for future therapies to reverse cognitive decline during aging and neurodegenerative diseases.

Introducción

El envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo de las formas esporádicas de las enfermedades neurodegenerativas, principal causa de discapacidad y dependencia en personas mayores de 60 años. Actualmente existen en el mundo cerca de 900 millones de personas (177 millones en Europa y unos 148 millones en el continente americano) que tienen más de 60 años (12% de la población mundial), y se estima que en el año 2050 esta cifra puede llegar a alcanzar los dos mil millones (21% de la población mundial). El aumento de la esperanza de vida está contribuyendo significativamente a este rápido aumento de la población de edad avanzada y en

consecuencia de las enfermedades crónicas entre ellas los procesos neurodegenerativos. Esta mayor longevidad de la población no ha ido acompañada de un aumento de los años de vida con buena salud de los individuos. De hecho el envejecimiento conlleva un deterioro progresivo de las funciones celulares y de los órganos en general, siendo el cerebro particularmente vulnerable. Aproximadamente el 10-20% de las personas con edad comprendida entre 60-80 años tiene alguna enfermedad neurológica, siendo la enfermedad de Alzheimer (AD) una de las más prevalentes junto con los accidentes cerebrovasculares. La AD representa la forma más común de demencia, y según el Informe Mundial del Alzheimer de 2015 se calcula que actualmente existen 46,8 millo-

nes de personas que padecen demencia y se prevé que aumente hasta los 131,5 millones en el año 2050. Identificar los cambios que determinan la transición entre un proceso de envejecimiento cerebral normal a otro patológico es sin duda una prioridad en la investigación biomédica actual teniendo en cuenta el gran impacto sanitario, económico y social que supondrá en un futuro cercano el acelerado envejecimiento poblacional.

Nuestra sociedad demanda urgentemente que se desarrollen herramientas para el diagnóstico preclínico de aquellos individuos en riesgo de padecer Alzheimer, o cualquier otra enfermedad neurodegenerativa asociada con la edad, así como de terapias innovadoras capaces de prevenir, frenar o retrasar la progresión de la enfermedad. Hoy conocemos que las alteraciones patológicas de la AD comienzan en el cerebro décadas antes de que se manifiesten los primeros síntomas clínicos, es por ello que la intervención terapéutica temprana en los estadios preclínicos es una oportunidad única para modificar con éxito el curso de la enfermedad antes de que el daño cerebral sea significativo e irreversible.

A falta de una terapia farmacológica efectiva contra estas enfermedades, se están explorando nuevas líneas de actuación dirigidas a potenciar la capacidad regenerativa y la plasticidad sináptica del cerebro y así contrarrestar la pérdida de funciones cognitivas. Entre estas aproximaciones es de destacar los efectos «rejuvenecedores» que sobre el cerebro y otros órganos produce la administración de plasma sanguíneo procedente de personas jóvenes. Identificar cuáles son estos factores circulantes en sangre con capacidad de disminuir/revertir los signos del envejecimiento, así como su origen y mecanismos de acción, abre una nueva era para combatir el envejecimiento cerebral y las patologías neurodegenerativas mediante aplicaciones terapéuticas sistémicas. La anhelada fuente de la juventud podría estar en nuestra propia sangre antes de envejecer.

Esta revisión pretende ofrecer una visión general sobre los conocimientos actuales en relación a los cambios que de forma progresiva y natural tienen lugar en el cerebro con la edad (envejecimiento normal), así como durante la enfermedad de Alzheimer como ejemplo del proceso neurodegenerativo más prevalente asociado a la edad (envejecimiento patológico). Finalmente, se discutirá la posibilidad de contrarrestar los efectos del envejecimiento y proteger a nuestro cerebro del deterioro neuronal y cognitivo (rejuvenecimiento cerebral).

Envejecimiento cerebral normal

El envejecimiento es un proceso complejo y multifactorial caracterizado por la pérdida progresiva de la integridad fisiológica que conduce a una disminución funcional y a una mayor vulnerabilidad a la muerte. A nivel cerebral se asocia generalmente con una disminución de la atención y la velocidad en el procesamiento de información, con déficits de la memoria espacial y de trabajo, y con deterioro de la función motora. La pérdida de memoria normal asociada con la edad se distingue de la patológica por el grado de estos déficits y la tasa de declive cognitivo. Los estudios de neuroimagen estructural por resonancia magnética (MRI) asocian estos cambios funcionales con una disminución en el volumen cerebral, en especial en regiones del lóbulo temporal medial. En concreto, en individuos de 70-80 años sanos (monitorizados cognitivamente y mediante análisis de potenciales marcadores patológicos en el líquido cefalorraquídeo) se ha determinado una disminución media de 0,3-0,5 % por año en el volumen cerebral completo. La mayoría de las áreas cerebrales se ven afectadas por esta atrofia, alcanzando el hipocampo y la amígdala una reducción del 1 % y en regiones de la corteza cerebral un 0,5 %. Sin embargo, la velocidad de atrofia cerebral es mucho mayor en el caso de un envejecimiento patológico, así por ejemplo en el hipocampo de pacientes de Alzheimer la reducción anual es del 3-4 % de su volumen. Durante el envejecimiento normal, y de forma más acusada en situaciones patológicas, la reducción del volumen cerebral va acompañada de otros cambios macroscópicos como son dilatación de los ventrículos, engrosamiento de las meninges y aumento del espacio subaracnoideo. A nivel microscópico, y en contraposición a los primeros estudios que describieron una notable pérdida neuronal durante el envejecimiento normal del 10-60 % (dependiendo de la región cerebral y del grupo neuronal estudiado), los trabajos más recientes utilizando técnicas mucho más precisas de recuento celular, como son las técnicas estereológicas, descartan la existencia de muerte neuronal, o bien es relativamente escasa, en el cerebro de los ancianos sanos. Si no hay apenas muerte neuronal en el cerebro envejecido, ¿cuál es la causa de la atrofia cerebral y el deterioro cognitivo?. En la actualidad existen numerosas evidencias científicas de cambios estructurales/morfológicos en las neuronas durante el envejecimiento fisiológico. Estos cambios se traducen en una reducida arborización dendrítica y axonal y en consecuencia del tamaño/volumen global de las neuronas. De hecho, se ha descrito una reducción significativa del número de espinas dendríticas y de contactos si-

nápticos en diversas regiones cerebrales siendo más marcada en la corteza prefrontal (responsable de mediar funciones ejecutivas complejas como la memoria de trabajo y la planificación) y en el hipocampo (crucial en la memoria espacial y consolidación de la memoria a largo plazo). Los cambios regresivos en el árbol dendrítico (longitud de los segmentos, complejidad de las arborizaciones, y en especial el número y tamaño de las espinas dendríticas) podrían ser responsable del deterioro cognitivo que manifiestan los individuos de edad avanzada. Las espinas dendríticas son el componente postsináptico de las sinapsis excitadoras glutamatérgicas sobre las neuronas piramidales de la neocorteza y del hipocampo, y son los sitios donde tienen lugar los mecanismos de plasticidad sináptica que subyacen a los procesos de memoria y aprendizaje como son la potenciación a largo plazo (intensificación de la comunicación sináptica) y la depresión a largo plazo (reducción de la eficacia sináptica). Estudios cuantitativos a microscopía electrónica de transmisión han revelado pérdida de contactos sinápticos asociados al proceso de envejecimiento normal en la corteza prefrontal y en diversas subregiones del hipocampo. Previo a esta pérdida estructural de sinapsis, el cerebro envejecido manifiesta una disfunción sináptica con reducción del tamaño de las densidades postsinápticas, bajada en los niveles de proteínas sinápticas, incluidos los receptores para neurotransmisores, y defectos en los fenómenos de plasticidad sináptica (refuerzo de las conexiones existentes o formación de nuevas sinapsis). Queda por determinar aún hasta qué grado estas alteraciones sinápticas hacen a las neuronas más vulnerables a la degeneración y que el individuo pase de un envejecimiento exitoso a otro patológico. El cerebro conserva durante la vida adulta una considerable plasticidad, la capacidad de sufrir cambios estructurales y funcionales en respuesta a nuevas experiencias o a un daño, y hoy sabemos que esta plasticidad puede ser promovida positivamente por diferentes factores relacionados con el estilo de vida como por ejemplo el ejercicio físico. El proceso de neurogénesis, formación de nuevas neuronas a partir de células madre neurales, representa otra forma de plasticidad morfológica y funcional en el cerebro adulto de mamíferos y se encuentra sustancialmente disminuida en el envejecimiento. Aunque la neurogénesis adulta tiene lugar en regiones muy discretas del sistema nervioso central, como son la zona subventricular (SVZ) de los ventrículos laterales y en la zona subgranular (SGZ) del giro dentado del hipocampo, la pérdida

de neurogénesis en el hipocampo es otra de las posibles causas del declive cognitivo asociado a la edad. Diversos estudios apoyan la práctica de actividad física regular por su efecto protector sobre la función cerebral y es de particular relevancia durante el envejecimiento. El ejercicio físico tiene el potencial de estimular la neurogénesis hipocampal probablemente a través de un aumento de los niveles séricos del factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), que juega un papel fundamental en neuroplasticidad y neuroprotección. Se ha demostrado que el ejercicio físico regular (programa de entrenamiento aeróbico consistente en andar 40 minutos varias veces por semana) en personas mayores de 60 años puede llegar a incrementar el volumen de hipocampo hasta un 2% en un año y producir una mejora significativa de la función cognitiva.

En relación con los mecanismos moleculares que subyacen al proceso de envejecimiento cerebral numerosos estudios han demostrado que el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial son dos factores claves. Debido a su alta demanda de oxígeno (20%), elevada concentración de ácidos grasos poliinsaturados y reducida capacidad de síntesis de antioxidantes endógenos el cerebro es uno de los órganos más vulnerables al estrés oxidativo. Con el envejecimiento la capacidad de las células de eliminar las especies reactivas de oxígeno y radicales libres disminuye. Las especies reactivas del oxígeno (ROS) como el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), tienen un gran potencial para causar daño oxidativo a los lípidos, las proteínas y el ADN. Estas especies reactivas se generan como subproductos de la respiración mitocondrial y por tanto estos orgánulos son la diana principal de este daño oxidativo. La disfunción mitocondrial provoca que las células tengan menos energía disponible para invertir en el mantenimiento y reparación cerebral llevando a la muerte celular. El envejecimiento normal se acompaña también de alteraciones en la homeostasis del calcio neuronal, lo cual podría estar relacionado con la oxidación de las proteínas implicadas en la homeostasis celular iónica. Esto es importante, ya que un aumento sostenido de las concentraciones intracelulares de calcio puede causar degeneración sináptica y muerte neuronal, y al hacerlo, contribuir con las deficiencias relacionadas con la edad en el aprendizaje y la memoria. Las terapias basadas en antioxidantes para frenar los signos del envejecimiento y mejorar las capacidades cognitivas están siendo objeto de intenso estudio actualmente.

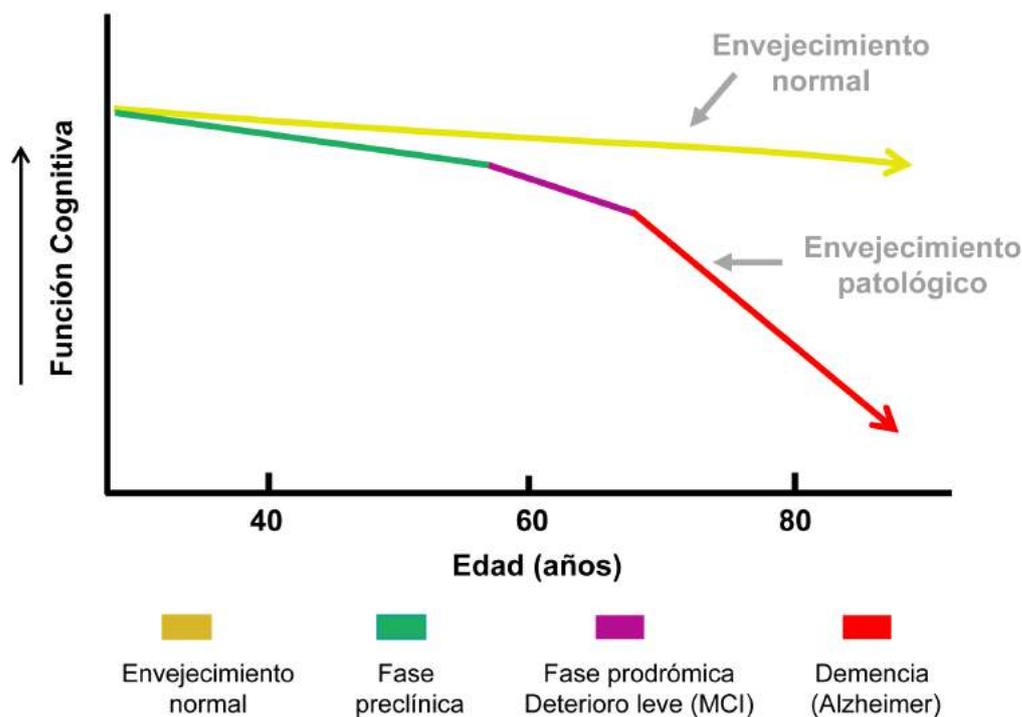


Figura 1. Evolución de la función cognitiva durante el envejecimiento Con la edad se produce una ligera pérdida de funciones cognitivas, siendo la memoria uno de los dominios cognitivos más afectados durante el proceso de envejecimiento normal. Esta pérdida de memoria se ve muy acentuada en la enfermedad de Alzheimer (envejecimiento patológico). Los pacientes de Alzheimer presentan una fase inicial asintomática (preclínica) que progresa hacia fases sintomáticas, primero manifiestan deterioro cognitivo leve (fase prodrómica) y finalmente un estado de demencia. Una compleja combinación de factores biológicos, genéticos, medioambientales y estilo de vida condicionan el curso de un envejecimiento normal o un envejecimiento patológico. Fuente: Elaboración propia.

Otra de las características moleculares del envejecimiento cerebral es la elevada acumulación de lipofuscina (pigmento marrón, electrodensito y autofluorescente compuesto por una compleja mezcla de lípidos y proteínas oxidadas) y de proteínas ubiquitinadas en el citoplasma de las neuronas. El incremento con la edad de estas sustancias en el interior celular es un claro reflejo de alteraciones en la vía de degradación autofágica-lisosomal. Esta vía juega un papel crucial en la homeostasis celular eliminando proteínas dañadas, agregados proteicos potencialmente tóxicos así como orgánulos obsoletos, promoviendo el reciclaje de macromoléculas para proporcionar nuevos nutrientes y energía. Numerosos estudios han demostrado que el envejecimiento conlleva una disfunción del sistema de autofagia, esto es además especialmente problemático en el cerebro ya que las neuronas son células postmitóticas que no se dividen y por tanto no pueden diluir el material de desecho que se va acumulando en su citoplasma con el tiempo. A edades avanzadas, la autofagia es insuficiente bien por una disminución del flujo autofágico o por la elevada cantidad de material a eliminar acumulado. La inducción de este proceso mediante manipulación farmacológica (rapamicina, inhibidor na-

tural del regulador negativo de la autofagia mTOR) o genética (estimulación de genes reguladores de la autofagia) ha demostrado un aumento de la longevidad de los individuos. La restricción calórica (reducción de ingesta de alimentos sin malnutrición) es una forma fisiológica de inducir autofagia, y ha demostrado tener un alto potencial anti-envejecimiento ya que prolonga la vida en la mayoría de los animales probados hasta ahora, reduciendo la atrofia cerebral así como la incidencia de diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Esta acción beneficiosa de la restricción calórica se debe probablemente a una disminución en la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondrial y la correspondiente disminución en sus efectos perjudiciales sobre proteínas, lípidos y ADN. La acumulación de agregados proteicos tóxicos se ve exacerbada en el envejecimiento patológico, siendo una característica histopatológica clave de todas las enfermedades neurodegenerativas y de ahí que se denominen como proteinopatías. Un número de inductores del proceso de autofagia, incluyendo rapamicina, valproato y litio, reducen la acumulación de estas proteínas tóxicas y la muerte celular en modelos animales de estas enfermedades.

Las lesiones histopatológicas clásicas del Alzheimer, como son la acumulación extracelular de péptidos β -amiloide ($A\beta$) en forma de placas seniles, y la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares de agregados de la proteína Tau hiperfosforilada, están presentes en el cerebro de aproximadamente un tercio de las personas ancianas sin que éstas manifiesten demencia o deterioro cognitivo. Estos hallazgos indican que ciertos factores compensatorios (por ejemplo, nivel de estudios elevado, actividad social y buena salud cardiovascular) pueden proporcionar reserva cerebral (relacionada con el tamaño del cerebro, el número de neuronas o la densidad de conexiones) y reserva cognitiva (relacionada con la capacidad del cerebro para utilizar los circuitos neuronales de manera más eficiente o reclutar redes alternativas en presencia de patología), lo que podría permitir a los individuos tolerar una cantidad sustancial de patología sin experimentar un síndrome de demencia evidente, incluso en los portadores de genes de susceptibilidad para el Alzheimer, como es el alelo 4 de la apolipoproteína E (APOE).

La extensión de los cambios que sufre nuestro cerebro con el curso de la edad es muy variable y se ve influenciado por una compleja interacción de factores genéticos y ambientales. Sin embargo, es posible disfrutar de un envejecimiento cerebral exitoso manteniendo hábitos de vida saludable a lo largo de nuestra vida como por ejemplo controlar la composición y calidad de la dieta, realizar ejercicio físico de forma regular, no fumar, reducir el estrés y mantener una vida social y emocional activa.

Envejecimiento cerebral patológico

El envejecimiento es un proceso fisiológico que puede progresar sin la aparición de enfermedades concurrentes. Sin embargo, una proporción considerable de las personas mayores (10-30% de la población mayor de 65 años y casi el 50% de los que superan los 85 años de edad) sufren de pérdida de memoria y deterioro cognitivo acelerado hasta llegar a un estado de demencia, síntomas clásicos de la enfermedad de Alzheimer (AD), el trastorno neurodegenerativo más común asociado a la edad. La AD es responsable del 50-70% de los casos de demencia en las personas mayores de 65 años. Los estudios epidemiológicos y genéticos han identificado muchos factores que aumentan el riesgo de AD, algunos de ellos no son modificables (edad, factores genéticos) pero aquellos otros relacionados con el estilo de vida (presión arterial alta, obesidad, inactividad física y dietas poco saludables) sí lo son. Es de máxima importancia desde un punto de vista de prevención

primaria la actuación sobre los factores de riesgo modificables para retrasar el inicio de la AD y reducir así la prevalencia general de la demencia. En la actualidad no existe ningún tratamiento farmacológico efectivo que modifique el curso de la enfermedad. Los diversos fármacos aprobados para el tratamiento se basan en la modulación de la neurotransmisión colinérgica (inhibidores de la colinesterasa) o glutamatergica (antagonistas no competitivos de los receptores N-metil D-Aspartato o NMDA), y aunque tienen efectos modestos sobre la función cognitiva, no detienen ni revierten la patología subyacente. El desarrollo de terapias que frenen o retrasen el avance de la patología asociada al Alzheimer es uno de los principales retos biomédicos a los que se enfrenta nuestra sociedad. La AD de inicio temprano (antes de los 65 años de edad) representa un 2% de todos los casos, se denomina de tipo familiar y es causada por mutaciones en los genes de la proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN1) o presenilina 2 (PSEN2) que se heredan de forma autosómica dominante. La AD de tipo esporádico es más tardía (a partir de los 65 años de edad), representa aproximadamente el 98% de todos los casos y no se conocen las causas que la originan aunque probablemente es el resultado de una compleja combinación de factores ambientales y genes de riesgo. Independientemente del origen (familiar u esporádico) los pacientes desarrollan lesiones histopatológicas similares. A nivel microscópico, el cerebro de los pacientes de AD se caracteriza por la pérdida de sinapsis y la muerte neuronal masiva, eventos claves que subyacen a las manifestaciones clínicas, junto con la acumulación anómala de proteínas agregadas (péptidos $A\beta$ y proteína Tau hiperfosforilada) y un proceso neuroinflamatorio con activación glial (microglía y astrogliá). El deterioro cognitivo inicial parece ser consecuencia de un proceso de pérdida de sinapsis y daño axonal mientras que la fase de demencia se correspondería mejor con el de la muerte neuronal. Las regiones más severamente afectadas incluyen el hipocampo, la corteza entorrinal, la amígdala, la neocorteza y algunas áreas subcorticales. Como resultado de este daño neuronal, el cerebro de los pacientes de AD muestra una atrofia bien definida, sobre todo en la región hippocampal y en áreas de la corteza asociativa, junto con unos ventrículos muy expandidos. Las causas que determinan la muerte de las neuronas sigue sin conocerse, aunque numerosas evidencias apuntan al estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, alteraciones de la homeostasis iónica, disfunción del citoesqueleto y el transporte axonal, junto con fallos del sistema de degradación autofagia-lisosomal. La contribución diferencial de las formas oligoméricas

tóxicas de $A\beta$ y de fosfo-Tau al proceso de muerte neuronal no ha sido esclarecida aún. Otro aspecto importante es determinar cuáles son las causas de la vulnerabilidad selectiva que muestran las diferentes poblaciones neuronales al proceso degenerativo. En este sentido, se conoce que las neuronas colinérgicas del telencéfalo basal son muy susceptibles y es precisamente en este hecho donde se fundamenta la hipótesis colinérgica del Alzheimer y el subsecuente desarrollo de los inhibidores de la colinesterasa como terapia. Las neuronas piramidales (glutamatérgicas) de capa II de la corteza entorrinal, junto con las del hipocampo, son también altamente vulnerables. Numerosas evidencias han demostrado la implicación de alteraciones en los circuitos GABAérgicos en la AD. Dentro del circuito del hipocampo, la subpoblación de interneuronas que expresan el neuropéptido somatostatina (SOM), como son las células *oriens-*

lacunosum moleculare (células O-LM), producen inhibición de las dendritas distales de las neuronas piramidales glutamatérgicas modulando la plasticidad sináptica, la señalización intracelular y la expresión génica requerida para la formación de memoria. La pérdida o actividad disfuncional (por degeneración de las aferencias colinérgicas) de las células O-LM sin duda contribuye a los déficits de memoria y aprendizaje. Diversos estudios han demostrado que tanto en el envejecimiento normal, y de forma mucho más acusada en la enfermedad de Alzheimer, las interneuronas SOM sufren un proceso degenerativo selectivo. Por tanto, proteger y/o incrementar la actividad de estas interneuronas sería una estrategia terapéutica prometedora para mejorar los ritmos cerebrales y la función cognitiva con la edad y en situación patológica.

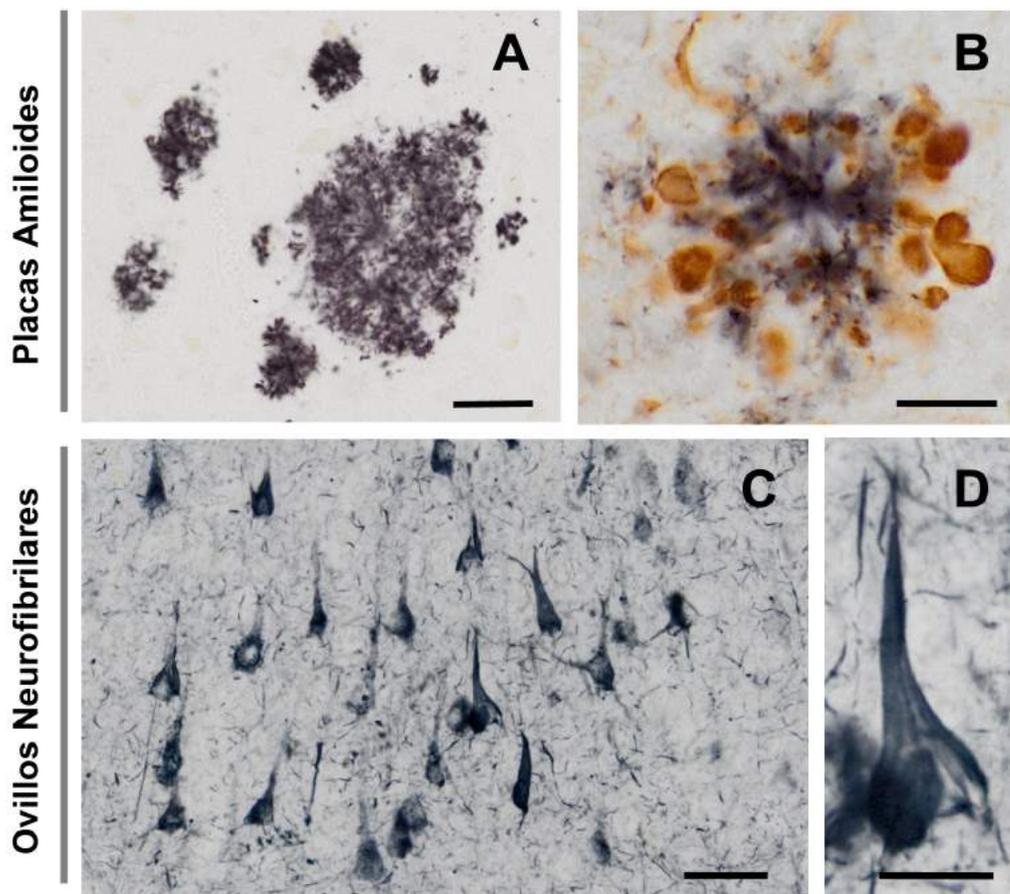


Figura 2. Lesiones histopatológicas clásicas de la enfermedad de Alzheimer. A) Placas amiloides en el parénquima cerebral inmunoteñidas para $A\beta$; B) Placa neurítica identificada mediante inmunotinción para $A\beta$ (en azul) y neuritas distróficas (en marrón); C) Neuronas piramidales con ovillos neurofibrilares intracelulares visualizados con un anticuerpo para fosfo-tau; D) Detalle de una neurona piramidal con ovillos. Imágenes a microscopía óptica de secciones de cerebro postmortem de un paciente de Alzheimer (Braak V-VI). Barras de escala, A y C, 50 μm ; B y D, 20 μm . *Imágenes originales obtenidas en el laboratorio de la Dra. A. Gutiérrez de la Universidad de Málaga*

Como ya se ha comentado, una característica distintiva de la patología cerebral en la AD es la presencia a nivel extracelular de las denominadas placas amiloides. Estos depósitos en el parénquima cerebral están compuestos por fibrillas formadas por el fragmento proteico $A\beta$, resultado de la acción secuencial de las enzimas β - y γ -secretasa sobre la proteína APP. Existen diferentes variantes de $A\beta$, y se cree que una de las formas más largas, el $A\beta_{42}$, es particularmente tóxica al promover la agregación y formar oligómeros de $A\beta$. El deterioro cognitivo que manifiestan los pacientes se correlaciona bien con los niveles de $A\beta$ oligomérico soluble en el cerebro, no así con la cantidad de placas (depósitos proteicos insolubles) en el parénquima. Aproximadamente un tercio de los ancianos sanos, el 60% de los individuos con deterioro cognitivo leve (MCI, del inglés *Mild Cognitive Impairment*) y todos los pacientes con demencia presentan depósitos de amiloide en el cerebro, como se demuestra mediante neuroimagen con PET (tomografía por emisión de positrones) utilizando radioligandos que se unen a $A\beta$ tales como el compuesto Pittsburgh B (PiB). El otro signo histopatológico principal de la enfermedad es la acumulación dentro de las neuronas de la proteína Tau asociada a microtúbulos (MAPT) hiperfosforilada dentro de las neuronas, formando los ovillos neurofibrilares (NFTs). La patología Tau, a diferencia de la patología $A\beta$, sigue un patrón espacial y temporal bien definido comenzado en la región transentorrinal, seguido por el hipocampo y posteriormente por regiones neocorticales, que ha permitido clasificar la progresión de la enfermedad en una serie de estadios (de Braak I a Braak VI). Las placas amiloides y la patología Tau están presentes no sólo en la AD, sino también en otros trastornos neurodegenerativos, lo que sugiere un papel central para estas proteínas en la neurodegeneración. Las proteínas codificadas por los genes APP, PSEN1 y PSEN2 están implicadas en la producción de $A\beta$, y las mutaciones en estos genes producen una sobreproducción de los péptidos $A\beta$. La hipótesis de la cascada amiloide que postula que el $A\beta$ dispara una serie de eventos moleculares de efectos tóxicos que lleva a la neurodegeneración y las consiguientes manifestaciones clínicas de la AD, ha dominado los últimos 25 años el debate sobre la patogénesis del Alzheimer y ha sido la base para la mayoría de los esfuerzos terapéuticos y ensayos clínicos realizados hasta la fecha. Desafortunadamente, ninguna aproximación terapéutica dirigida al péptido $A\beta$ (bloquear su producción o agregación, potenciar su eliminación mediante inmunoterapias) ha tenido éxito hasta ahora, por lo tanto, la cuestión de si es una buena diana para el tratar la AD está bajo

debate y se necesitan más esfuerzos a nivel de la investigación básica para comprender las posibilidades y limitaciones de este enfoque. También, es fundamental descifrar las funciones biológicas de APP, el precursor proteico de $A\beta$ y de sus metabolitos, incluyendo $A\beta$, en los individuos sanos para conocer los riesgos potenciales de bloquear su producción.

La formación de los ovillos neurofibrilares en las neuronas ha sido considerada como un evento secundario en la patología del Alzheimer a pesar de su correlación directa con la muerte neuronal y la progresión de la enfermedad. No se han encontrado mutaciones en el gen de la proteína Tau que causen directamente la AD. La proteína Tau regula el ensamblaje, la dinámica y organización espacial de los microtúbulos, y participa en el transporte axonal de orgánulos y vesículas. La actividad biológica de Tau está regulada por su grado de fosforilación, y su hiperfosforilación la convierte en una proteína desestabilizadora de microtúbulos, promueve su agregación y la formación de los NFTs en el interior de las neuronas. Todo ello conlleva graves alteraciones en la organización del citoesqueleto y en el transporte de proteínas y vesículas comprometiendo la viabilidad neuronal. Múltiples aproximaciones terapéuticas anti-Tau como son inhibidores de quinasas, anti-agregantes e inmunoterapias se están probando en ensayos clínicos, sin embargo al igual que ocurre para aquellas terapias dirigidas contra $A\beta$, ninguna ha tenido éxito hasta la fecha a pesar de que en los ensayos preclínicos con modelos animales si se han visto efectos beneficiosos. Se desconocen las razones de la falta de traslación exitosa de los estudios preclínicos a los clínicos en el tratamiento de la AD. Tanto en los enfoques basados en $A\beta$ como en los basados en Tau, la escasez de buenos modelos animales predictivos de la enfermedad, de buenos biomarcadores de la progresión de la enfermedad y de poblaciones bien definidas para los ensayos clínicos han sido desafíos importantes a la hora de demostrar beneficios potenciales en los ensayos clínicos. La AD se desarrolla durante un largo período preclínico de varias décadas, seguido de una fase prodrómica con deterioro cognitivo leve y finalmente una fase de demencia (de leve a severa). Es necesario disponer de herramientas de diagnóstico eficaces para detectar los individuos en fases muy iniciales, asintomáticos o con MCI, donde probar posiblemente con mayor éxito la eficacia preventiva o curativa de los tratamientos ya que la mayoría de los ensayos hasta ahora han seleccionado individuos en fases avanzadas de la enfermedad en los cuales el daño cerebral es ya irreversible. Una importante línea de investigación actual está centrada en la búsqueda de bio-

marcadores de la progresión de la enfermedad en el líquido cefalorraquídeo, plasma o por neuroimagen, así como la identificación de genes de susceptibilidad mediante estudios epidemiológicos de asociación del genoma completo (GWAs). Actualmente, hay en marcha varios ensayos clínicos basados en inmunoterapias en poblaciones clasificadas en riesgo (positivas para algunos de estos biomarcadores y/o portadoras de genes de riesgo) y en poblaciones presintomáticas afectadas por alguna de las mutaciones asociadas al Alzheimer familiar. APOE4 es el principal factor de riesgo genético para la enfermedad de Alzheimer de tipo esporádico, siendo portadores de este alelo entre el 60-80% de los pacientes. El riesgo es de más del 50% para los individuos homocigotos para APOE4 y del 20-30% para los heterocigotos APOE3/APOE4. Entre los efectos deletéreos de APOE4 sobre A β se incluyen fomentar la formación de fragmentos neurotóxicos e interferir en su eliminación. Los recientes estudios de GWAs han identificado que además de APOE4 existen más de 20 loci genéticos de riesgo para el Alzheimer esporádico. Estos genes apuntan hacia el sistema inmune y la respuesta neuroinflamatoria, el metabolismo lipídico y del colesterol, el reciclaje de vesículas y la endocitosis, como vías implicadas en el desarrollo/progresión de la patología y por tanto potenciales dianas terapéuticas. Estas variantes genéticas afectan a un gran número de personas pero en general contribuyen poco al riesgo individual de padecer la enfermedad. Entre los nuevos factores genéticos de riesgo identificados uno de los más validados y que confiere un aumento sustancial de riesgo a los portadores, son las variantes en el gen TREM2 (del inglés *Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2*). Este gen codifica para un receptor microglial implicado en la eliminación A β . La microglía son las células del sistema inmune innato cerebral, y se encargan de la protección y mantenimiento del tejido mediante la eliminación de sustancias extrañas, proteínas agregadas tóxicas y restos celulares, junto con la liberación de factores neurotróficos. Además, estas células gliales juegan un papel fundamental en la protección y remodelación de las sinapsis, contribuyendo así a la plasticidad de los circuitos neuronales. La existencia de una respuesta neuroinflamatoria mediada por la activación de las células microgliales y astrogliales en el cerebro de los pacientes de Alzheimer es un hecho aceptado y actualmente es una de las vías alternativas en el desarrollo de nuevas terapias. Estas células gliales activadas se localizan alrededor de las placas amiloides de tipo neurítico. Sin embargo, el papel beneficioso o perjudicial de la neuroinflamación en el Alzheimer es aún materia de debate. Las células de la microglía son activadas por el A β

oligomérico o fibrilar pudiendo dar lugar a diferentes fenotipos funcionales de forma similar a los macrófagos periféricos: el fenotipo clásico M1 o proinflamatorio asociado a la expresión de genes citotóxicos y el fenotipo M2 o alternativo de naturaleza neuroprotectora. El fenotipo M1 microglial se caracteriza por la producción de citoquinas proinflamatorias como el TNF, IL-1, IL-6 e IL-12 entre otras, y presenta una escasa capacidad fagocítica. Por el contrario, el fenotipo M2 se caracteriza por la secreción de citoquinas anti-inflamatorias como IL-4, IL-10, IL-13 y TGF β , y además presenta una alta actividad fagocítica. La visión dominante en la actualidad sobre el proceso neuroinflamatorio en la enfermedad de Alzheimer otorga un papel neurotóxico a la activación de la microglía. Esta visión está basada principalmente en los estudios realizados en modelos transgénicos de Alzheimer basados en sobreproducción de A β , donde se observa una respuesta microglial muy marcada con carácter neurotóxico. Sin embargo, un estudio reciente avala la hipótesis según la cual en el cerebro de los pacientes, al menos en el hipocampo, no ocurre esta activación microglial sino que por el contrario tiene lugar un marcado proceso de degeneración microglial, mediado por las formas solubles de fosfo-Tau. Esta patología microglial conduciría a una menor protección del parénquima cerebral y a una reducida capacidad de eliminación de las formas tóxicas de A β potenciándose así la progresión de la enfermedad. Por tanto, la patología cerebral en los pacientes se vería disparada por un estado de inmunosupresión. Esta hipótesis explicaría el continuo fracaso de las terapias anti-inflamatorias en los ensayos clínicos. Por tanto, sería necesario reevaluar el papel de la respuesta neuroinflamatoria en la enfermedad y enfocar las terapias hacia la protección de la microglía y su polarización hacia un fenotipo neuroprotector. Por otro lado, se cree que los astrocitos también tienen un papel importante en el proceso neuroinflamatorio, observándose una fuerte reactividad astrogliar en el cerebro de pacientes de Alzheimer, aunque los posibles fenotipos funcionales de los astrocitos aún no se conocen. Los astrocitos participan en la homeostasis, defensa y mantenimiento del cerebro y por tanto una disfunción de esta población glial tendría graves repercusiones en la integridad de los circuitos neurales. Por tanto, en los próximos años es de esperar importantes avances en la comprensión de la extraordinaria plasticidad de las células microgliales y astrogliales y su contribución al desarrollo o progresión de la enfermedad, lo que abrirá nuevas perspectivas terapéuticas. Una de las prioridades en la investigación básica es sin duda desarrollar nuevos modelos animales de la en-

fermedad que conjuntamente a la patología de $A\beta$ y de fosfo-Tau también mimeticen la respuesta glial observada en pacientes. Por último, hay que tener en cuenta que la respuesta inmune cerebral se ve influenciada por los eventos sistémicos, por tanto, hay que potenciar el estudio de los efectos que las enfermedades sistémicas (inflamación sistémica, diabetes, hipertensión, etc.) tienen sobre la patología del Alzheimer con objeto de abrir nuevas rutas potenciales que permitan retrasar su aparición o progresión.

En resumen, a pesar de los grandes avances que se han realizado sobre la biología molecular y celular de la enfermedad de Alzheimer aún no existe un tratamiento farmacológico efectivo, siendo sin duda su desarrollo uno de los principales retos a los que se enfrenta la medicina moderna en los próximos años. Una terapia efectiva contra la AD probablemente requerirá de tratamientos combinados dirigidos a múltiples mecanismos biológicos, como la respuesta inflamatoria, la homeostasis proteica, la disfunción mitocondrial, el mantenimiento sináptico y la neuroprotección, para bloquear y contrarrestar la diversidad de procesos patogénicos que tienen lugar en esta compleja enfermedad.

Rejuvenecimiento cerebral

El envejecimiento cerebral se ve afectado por factores genéticos y medioambientales, siendo un fenómeno plástico con potencial de ser modificado. Los efectos del envejecimiento no ocurren exclusivamente en el cerebro; más del 70% de las personas mayores de 65 años padecen dos o más condiciones crónicas tales como artritis, diabetes o enfermedad cardiovascular (envejecimiento sistémico). Numerosas evidencias han demostrado que «manipulaciones» sistémicas como el ejercicio físico y la restricción calórica pueden contrarrestar parcialmente los signos del envejecimiento. En base a esto, se ha planteado la posibilidad de reactivar la plasticidad latente en el cerebro envejecido como medio de rejuvenecer la función cognitiva, sináptica y regenerativa a edades avanzadas. El Dr. Wyss-Coray y sus colegas de la Universidad de Stanford en California han revolucionado y dado un giro a la idea tradicional de que el envejecimiento es un proceso lineal e irreversible, demostrando un potente efecto rejuvenecedor en el cerebro de ratones viejos tras la administración de sangre de animales jóvenes. Mediante la conexión del sistema circulatorio de un ratón joven al de otro viejo, proceso conocido como parabiosis heterocrónica, han conseguido inducir en el individuo envejecido cambios significativos a nivel cerebral, pero también en el corazón, en el músculo y en casi to-

dos los tejidos y órganos examinados. La sangre de los animales jóvenes aumentaba la capacidad regenerativa y funcional del cerebro de ratones viejos. A nivel cerebral, los ratones viejos parabiontes que recibieron sangre joven mostraron un aumento de la densidad de espinas dendríticas, con incremento de la plasticidad sináptica y de la capacidad cognitiva. Además, se observó un mayor proceso de mielinización en la médula espinal (reclutando monocitos jóvenes periféricos y promoviendo la diferenciación de progenitores de oligodendrocitos), contrarrestando así la desmielinización asociada a la edad y su repercusión en la actividad muscular y sensorial. En las dos zonas neurogénicas cerebrales, SVZ y SGZ, se observaba un aumento en la producción de nuevas neuronas en los ratones viejos tratados con la sangre joven.

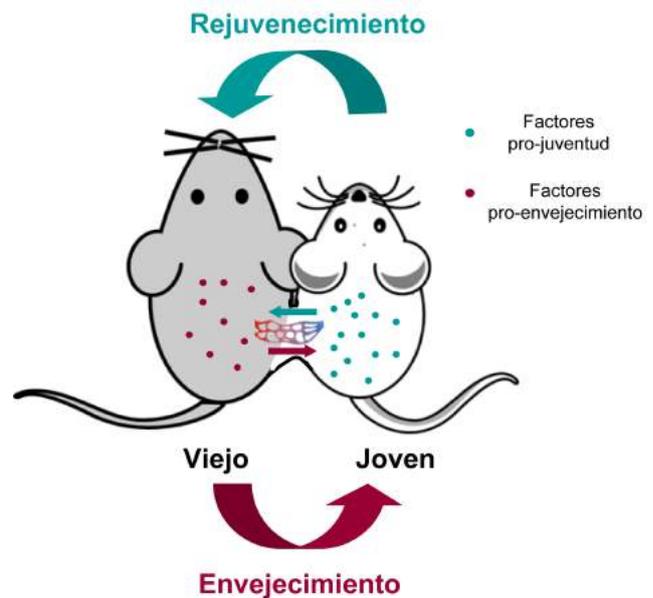


Figura 3. Parabiosis heterocrónica y rejuvenecimiento cerebral. El esquema ilustra la parabiosis heterocrónica mediante la cual se conectan los sistemas circulatorios de un ratón joven y de otro viejo. Los factores «rejuvenecedores» presentes en la sangre del ratón joven pasan a la circulación del animal viejo e inducen un aumento de la plasticidad sináptica, formación de nuevas neuronas y mejora de la capacidad cognitiva contrarrestando los efectos del envejecimiento. Del mismo modo los factores «pro-envejecimiento» del animal viejo pasan al joven induciendo algunos de los efectos negativos asociados a la edad. Fuente: Elaboración propia.

La relevancia funcional de estos efectos rejuvenecedores en el cerebro es muy destacada, ya que los cambios inducidos se traducían en una significativa mejora cognitiva de los ratones viejos lo que demuestra la importancia de factores sistémicos periféricos en la regulación de la actividad de las células madre neuronales. Estos mismos efectos han sido reprodu-

cidos mediante la transfusión de plasma de personas jóvenes a ratas envejecidas (una dosis de 15 μ l cada tres días durante tres semanas). ¿Sería posible entonces que este efecto rejuvenecedor de la sangre joven se pueda reproducir en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer?. La respuesta a esta pregunta se conocerá en un futuro cercano. Actualmente, la compañía Alkahest de California, fundada por Wyss-Coray, está llevando a cabo el primer ensayo clínico para evaluar el efecto del plasma de donantes jóvenes en pacientes de Alzheimer. Los pacientes están recibiendo una vez a la semana una unidad de plasma (200mL) procedente de jóvenes menores de 30 años, y están siendo evaluados mediante técnicas de neuroimagen cerebral, biomarcadores en sangre y pruebas de memoria, lenguaje, orientación espacial y atención visual. Mientras tanto, diversos grupos de investigación están explorando cuestiones fundamentales como ¿cuáles con los factores en la sangre que inducen este efecto rejuvenecedor?, ¿cuánto duran los efectos de la sangre joven en un cerebro viejo?, ¿qué cambios induce la sangre joven en el cerebro viejo para promover ese rejuvenecimiento?, y ¿existe algún efecto secundario negativo de este tratamiento?. Respecto a los posibles factores «pro-juventud», se ha aislado del plasma sanguíneo un potencial candidato, la proteína GDF11 (del inglés *growth differentiation factor 11*). Esta proteína regula la actividad de las células madre y es muy abundante en individuos jóvenes, pero sus niveles parecen disminuir en individuos viejos. La administración de GDF11 a ratones viejos reduce el engrosamiento de las paredes del corazón, e induce la formación de nuevos vasos sanguíneos y de neuronas olfatorias en el cerebro. Aunque existen algunos estudios contradictorios, sería interesante comprobar si la administración sistémica de esta proteína tiene efectos beneficiosos en el cerebro humano. Otros potenciales factores rejuvenecedores son la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La administración sistémica de estas proteínas produce un aumento de la neurogénesis, resultando en una mejora de la función cognitiva en ratones. Muchas otras proteínas o moléculas en el plasma po-

drían tener también efectos beneficiosos y su identificación es objeto de intensa investigación. Otra línea de interés es determinar posibles factores pro-envejecimiento en la sangre de los individuos viejos sobre los que actuar bloqueando su efecto. En este sentido, se ha identificado la proteína β 2 microglobulina (B2M), un componente del complejo principal de histocompatibilidad de la clase I y por tanto del sistema inmunitario, como un factor circulante en sangre que regula negativamente la regeneración y función cognitiva del hipocampo de ratones. Los ratones manipulados genéticamente que no expresan B2M envejecen sin deterioro cognitivo aparente. Sin embargo, cuando esta proteína se inyecta intracerebralmente a ratones jóvenes se produce pérdida de memoria y reducción en el proceso de neurogénesis. Por tanto, el desarrollo de estrategias terapéuticas anti-envejecimiento dirigidas al bloqueo de esta proteína podría ser de interés.

Aunque aún quedan muchas incógnitas por resolver, resulta excitante la posibilidad de poder combatir el envejecimiento cerebral mediante manipulación sistémica de factores pro-juventud o pro-envejecimiento y así modular la plasticidad cerebral y restaurar la capacidad cognitiva en individuos viejos o en pacientes de la enfermedad de Alzheimer.

Para mas información

¹Castellano JM y otros. Blood-borne revitalization of the aged brain. *JAMA Neurol* 72(10):1191-1194, 2015.

²Heneka M y otros. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 14:388-405, 2015.

³López-Otín C y otros. The hallmarks of aging. *Cell* 153:1194-1217, 2013.

⁴Morrison JH y Baxter MG. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature* 13:240-250, 2012.

⁵Scheltens P y otros. Alzheimer's disease. *Lancet* 388(10043):505-517, 2016.

⁶Smith LK y otros. 2-microglobulin is a systemic pro-aging factor that impairs cognitive function and neurogenesis. *Nature Med* 21(8):932-937, 2015.

⁷Winblad B y otros. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol* 15(5):455-532, 2016.

⁸Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 539:180-186, 2016.