

# **TERAPIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

## **CELL THERAPY IN ALZHEIMER'S DISEASE**



Trabajo de Fin de Grado  
**LAURA RODRÍGUEZ DÍAZ**

Tutorizado por Ricardo Reyes Rodríguez.  
Universidad de La Laguna. Grado en Biología.  
Curso académico 2018-2019

# ÍNDICE

1. RESUMEN .....	3
2. ABSTRACT .....	4
3. INTRODUCCIÓN .....	6
3.1. Hipótesis etiológicas .....	6
I. Hipótesis amiloide .....	7
II. Hipótesis Tau .....	8
III. Hipótesis del estrés oxidativo y mitocondrial .....	9
IV. Hipótesis inflamatoria .....	10
V. Hipótesis epigenética .....	11
3.2. Aproximación a los diferentes abordajes terapéuticos .....	13
3.3. Aproximación a las terapias farmacológicas .....	15
4. OBJETIVOS .....	17
5. MATERIAL Y MÉTODOS .....	17
6. TRATAMIENTOS ACTUALES INDICADOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER .....	17
6.1. Tratamiento cognitivo .....	17
6.2. Tratamiento farmacológico .....	18
7. TERAPIA CELULAR .....	20
7.1. Aproximaciones experimentales en terapia celular en la enfermedad de Alzheimer.....	22
8. CONCLUSIONES .....	27
9. CONCLUSIONS .....	27
10. AGRADECIMIENTOS .....	28
11. BIBLIOGRAFÍA .....	29

## 1. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia y consiste en un trastorno neurodegenerativo relacionado con la edad que se caracteriza por un deterioro progresivo de las funciones cognitivas. Neuropatológicamente, se caracteriza por la presencia en el cerebro de placas seniles o amiloides, ovillos neurofibrilares y gliosis. Actualmente la etiopatogenia de la enfermedad continúa siendo un misterio, no obstante, la investigación de las últimas décadas ha mejorado nuestro conocimiento de la enfermedad hasta el punto de contemplar la posibilidad de desarrollar en un futuro no muy lejano alguna forma de terapia capaz de modificar, detener e incluso revertir el curso de la enfermedad. Estos avances se han construido sobre una sólida comprensión de los mecanismos de la enfermedad a partir de hallazgos genéticos, moleculares y clinicopatológicos, y han permitido generar hipótesis sobre las posibles causas y factores implicados en la enfermedad, posibilitando el desarrollo de terapias farmacológicas y de estimulación cognitiva. Las terapias farmacológicas aprobadas actualmente solo resultan eficaces para aliviar los síntomas y ralentizar el deterioro, pero no curan la enfermedad. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de encontrar terapias eficaces y seguras que consigan frenar la progresión, detener y revertir el curso de la enfermedad, y es en este punto donde la investigación actual en terapia celular toma especial relevancia.

**Palabras clave:** Enfermedad de Alzheimer, demencia, trastorno neurodegenerativo, funciones cognitivas, placas amiloides, ovillos neurofibrilares, terapia de estimulación cognitiva, terapia farmacológica, terapia celular

## 2. ABSTRACT

Alzheimer's disease is the most common form of dementia and consists of a neurodegenerative disorder related to age that is characterized by a progressive deterioration of cognitive functions. Neuropathologically, it is characterized by the presence in the brain of senile or amyloid plaques, neurofibrillary tangles and gliosis. Currently, the etiopathogenesis of the disease remains a mystery however, the research of recent decades has improved our knowledge of the disease to the point of think about the possibility of developing not too far some form of therapy that modifies, stops and even reverse the course of the disease. These advances have been built on a solid understanding of the mechanisms of the disease from genetic, molecular and clinico-pathological findings, and have allowed us to outline hypotheses about the possible causes and factors involved in the disease, enabling the development of pharmacological and cognitive stimulation therapies. Currently, approved pharmacological therapies are effective only in relieving symptoms and slowing down deterioration, but they do not cure the disease. Therefore, there is an urgent need to find effective and safe therapies that can stop the progression and reverse the course of the disease, and it is at this point where the current research in cell therapy takes special relevance.

**Keywords:** Alzheimer's disease, dementia, neurodegenerative disorder, cognitive function, amyloid plaques, neurofibrillary tangles, therapy, cognitive stimulation, pharmacological therapies, cell therapy.

### 3. INTRODUCCIÓN.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia, siendo una enfermedad neurodegenerativa en la que las capacidades cognitivas del individuo como el habla, la memoria y la capacidad de pensamiento sufren un deterioro gradual, incapacitándolo para realizar actividades cotidianas (Alzheimer's Association 2017). La enfermedad progresa a través de diferentes estadios. La pérdida de la memoria reciente y episodios de amnesia es el síntoma común en la fase inicial de la enfermedad. Los pacientes afectados desarrollarán eventualmente un descenso en otras esferas cognitivas. Estas incluyen alteraciones del lenguaje (afasia), la habilidad navegacional (función visual-espacial), reconocimiento de objetos comunes (agnosia), programación motora (apraxia) y alteración de las funciones ejecutivas (Crespo *et al.*, 2014).

Las tareas complejas como el control de las finanzas, la utilización de aparatos domésticos y el desarrollo de las tareas familiares, se ven a menudo perjudicadas al comienzo de la enfermedad. La afectación conductual y los cambios en la personalidad, que incluyen el desinterés por las actividades de ocio y las actividades sociales, acompañan o siguen en un espacio más o menos corto de tiempo a la afectación cognitiva. La afectación de las funciones básicas de la vida diaria como la movilidad, el aseo personal y la alimentación, no se ven afectadas hasta que la demencia está en una fase avanzada (Crespo *et al.*, 2014).

Fue en el año 1.906 cuando el Dr. Alois Alzheimer describió e identificó por primera vez la EA mediante el estudio del caso de la mujer Auguste Dete, mujer que mostraba una rara enfermedad mental cuyos síntomas eran la paranoia, problemas con el lenguaje y la memoria, desorientación y comportamientos erráticos. Al fallecer, la autopsia del cuerpo y la observación del tejido cerebral evidenciaban un grave deterioro de éste. Existía una atrofia generalizada, masas anormales y numerosos bultos retorcidos de fibras. Por primera vez en la historia de la neuropatología, se habían observado las placas seniles o amiloides (PS) y los ovillos neurofibrilares (ON), dos lesiones histopatológicas básicas que caracterizan al Alzheimer (<https://www.igb.es/neurologia/enfermedades/alzheimer/>). Desde el punto de vista neuropatológico, hay tres hallazgos característicos que se han encontrado de forma general en el examen de cerebros post-mortem: placas seniles (amiloides) (PS), consistentes en acumulaciones del péptido  $\beta$ -amiloide; ovillos neurofibrilares (ON), compuestos por filamentos

helicoidales formados principalmente por la proteína Tau ( $\tau$ ) hiperfosforilada; y degeneración neuronal o atrofia de la corteza cerebral con pérdida de neuronas corticales y subcorticales. El deterioro cognitivo de los pacientes con EA presenta una correlación directa con la presencia y el número de estas formaciones, particularmente notables a nivel del hipocampo y en zonas asociativas de la corteza cerebral, mientras que la pérdida neuronal afecta particularmente a las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert (Laurence *et al.*, 2007).

Las PS, de localización extracelular, formadas por la acumulación del péptido  $\beta$ -amiloide. Por otro lado, los ON, consisten en agregados insolubles de proteínas dentro del soma neuronal formados principalmente por la proteína Tau ( $\tau$ ) hiperfosforilada, una proteína de unión a los microtúbulos (Fernández, 2011).

Además de las PS extracelulares y los ON intracelulares, tiene gran importancia la gliosis, fenómeno inespecífico que se produce en respuesta a cualquier lesión en el SNC e implica la actuación y, a menudo, la proliferación de las células gliales (Frost *et al.*, 2017). Se cree que la gliosis es desencadenada por las PS, ya que hay una gran cantidad de astrocitos reactivos que las rodean.

No fue hasta los años 70 cuando el Alzheimer se identificó como causa común de demencia y muerte, convirtiéndose así en un área importante de estudio e investigación en el campo científico (Alzheimer's Association, 2017).

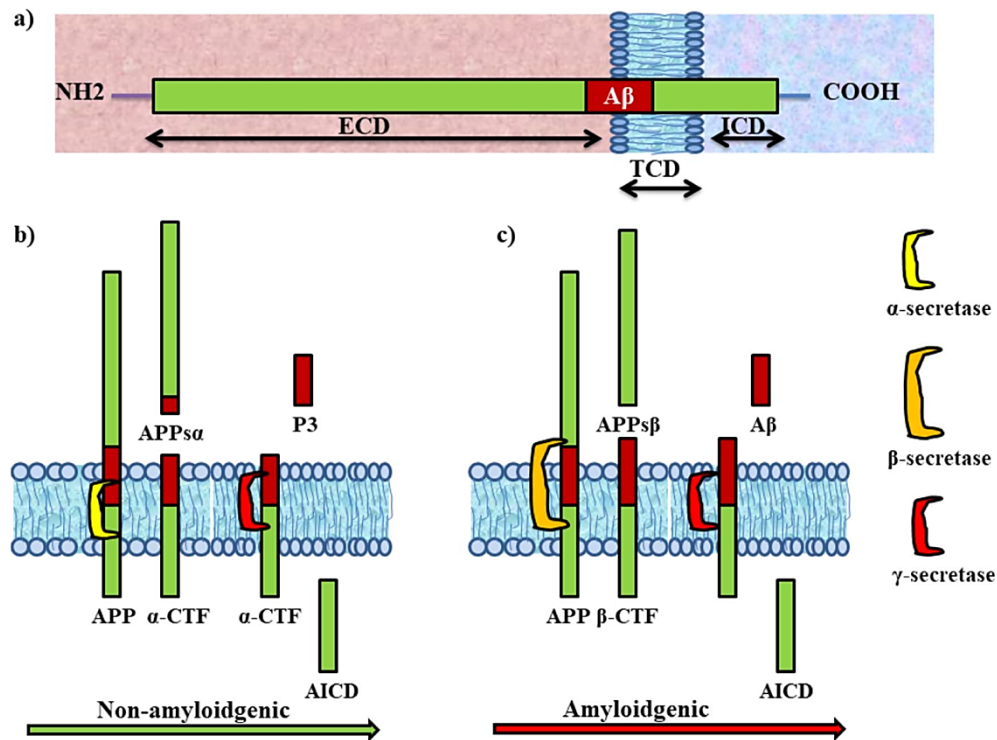
### **3.1. Hipótesis etiológicas.**

A día de hoy se han llevado a cabo numerosos avances en la comprensión y el conocimiento de la enfermedad, pero sigue habiendo muchas preguntas sin resolver: ¿Cuál es el verdadero origen de Alzheimer?, ¿Qué cambios biológicos lo causan?, ¿Se puede prevenir, ralentizar o incluso detener su desarrollo?

Las hipótesis más relevantes expuestas hasta el momento para intentar dar respuesta a todas estas preguntas sobre la EA han sido revisadas recientemente por Kumar *et al.*, (2018). Las cinco hipótesis que tiene actualmente mayor aceptación por parte de la comunidad científica

son: La hipótesis amiloide, la hipótesis Tau ( $\tau$ ), la hipótesis del estrés oxidativo y mitocondrial, la hipótesis inflamatoria y la hipótesis epigenética de la EA.

### I. Hipótesis amiloide.



*Ilustración 1. Hipótesis amiloide.* Imagen tomada de Kumar *et al.* (2018).

La producción y acumulación de  $\beta$ -amiloide tiene gran importancia en la etiopatogenia de la EA. Aunque no se conocen bien las causas por las que esto ocurre, probablemente se deba a una interrelación de factores genéticos, ambientales y biológicos (edad avanzada, factores de riesgo vascular, etc).

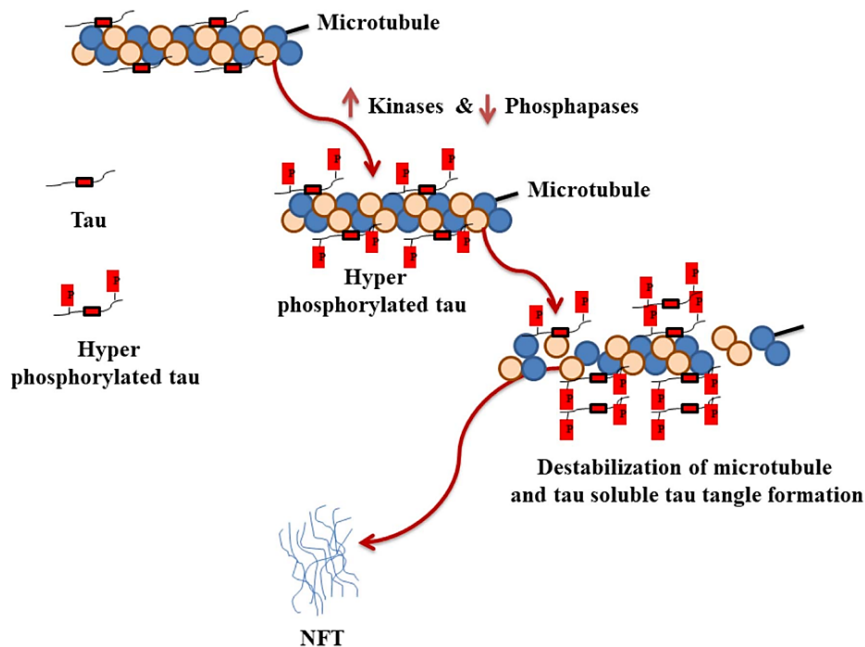
La acumulación de  $\beta$ -amiloide se produce en forma de placas, desencadenando fenómenos inflamatorios, daño oxidativo y alteraciones de la homeostasis neuronal, provocando degeneración neurofibrilar por fosforilación de la proteína Tau ( $\tau$ ), alteración de la neurotransmisión y aparición de los síntomas (Fernández, 2011).

Las placas amiloides están compuestas principalmente por un componente proteico llamado péptido A $\beta$ . Los péptidos beta amiloides (A $\beta$ ) son péptidos de 39 a 43 aminoácidos que se

obtienen por clivaje proteolítico mediante la acción de  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas sobre la proteína transmembrana precursora de amiloide (APP). La longitud del péptido  $A\beta$  varía en el extremo C-terminal de acuerdo con el patrón de escisión de la APP. La isoforma  $A\beta$ 1–40 es la más prevalente, seguida de  $A\beta$ 1–42, que es de naturaleza hidrófoba y que se agrega a mayor velocidad que la  $A\beta$ 1–40. Ambos fragmentos peptídicos tienen un papel muy importante en la formación de placas amiloides, características de la patogénesis de la EA (Kumar *et al.*, 2018).

$A\beta$ 1-40 se encuentra mayoritariamente en cerebros sanos, es soluble y menos neurotóxico; mientras que  $A\beta$ 1-42 es altamente neurotóxico, tiene mayor propensión a agregarse y se encuentra predominantemente en cerebros con EA. Recientemente se ha descrito la existencia de una nueva isoforma, el péptido  $A\beta$ 1-43, altamente amiloidogénico, neurotóxico y que se deposita antes que los otros dos productos de escisión. Además, también se ha descrito que los depósitos de péptidos amiloides interactúan con la membrana neuronal, lo que resulta en la formación de poros y un flujo anormal de iones que conduce a la muerte neuronal y a la progresión de la EA (Kumar *et al.*, 2018).

## II. Hipótesis Tau ( $\tau$ ).



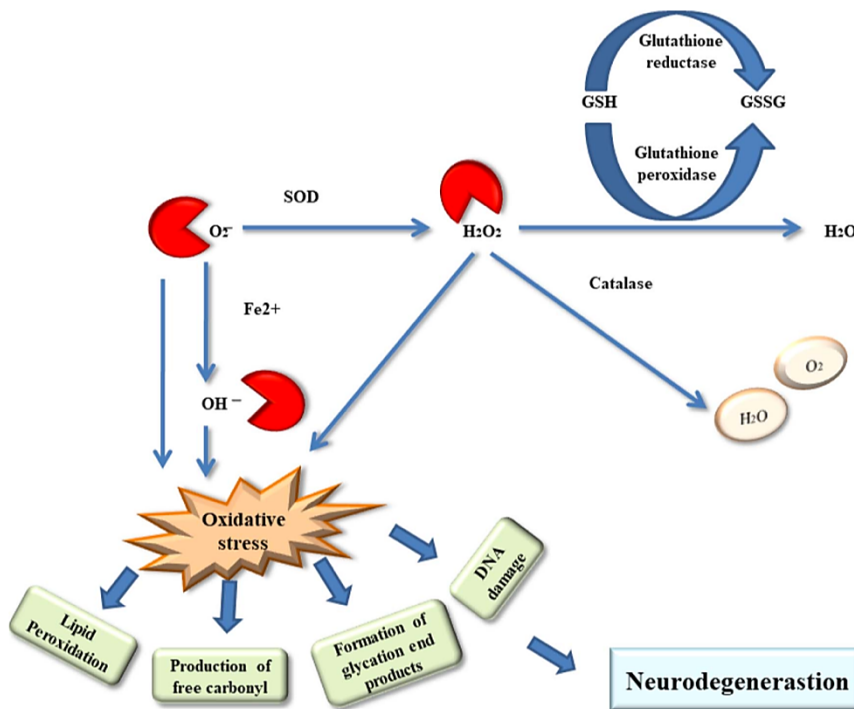
**Ilustración 2.** Hipótesis Tau ( $\tau$ ). Imagen tomada de Kumar *et al.* (2018).

La proteína Tau ( $\tau$ ) es una proteína soluble de unión a microtúbulos que se haya presente en las células nerviosas y que es responsable de la organización de los microtúbulos en el interior del



axón (Kumar *et al.*, 2018). En condiciones normales, el equilibrio entre las quinasas y las fosfatasas asociadas a los microtúbulos se encarga de mantener los estados de fosforilación y desfosforilación de Tau ( $\tau$ ). El equilibrio que existe entre los estados fosforilados y desfosforilados de la proteína Tau ( $\tau$ ) es dinámico. En condiciones patológicas, la regulación al alza de la actividad quinasa y la regulación a la baja de la actividad fosfatasa dan como resultado una hiperfosforilación de la proteína Tau ( $\tau$ ) que genera agregados insolubles dentro del soma neuronal formando estructuras conocidas como ovillos neurofibrilares (ON) (Fernández, 2011). La degeneración neuronal aumenta de forma progresiva con la edad, y fundamentalmente en la región cortical. Estos complejos de proteína relativamente insolubles pueden llegar a permanecer incluso después de la muerte de las neuronas afectadas, liberándose al medio extracelular. Después de la liberación, estos ON extracelulares son rodeados por astrocitos y células de microglía (Fernández, 2011; Kumar *et al.*, 2018).

### III. Hipótesis del estrés oxidativo y mitocondrial.



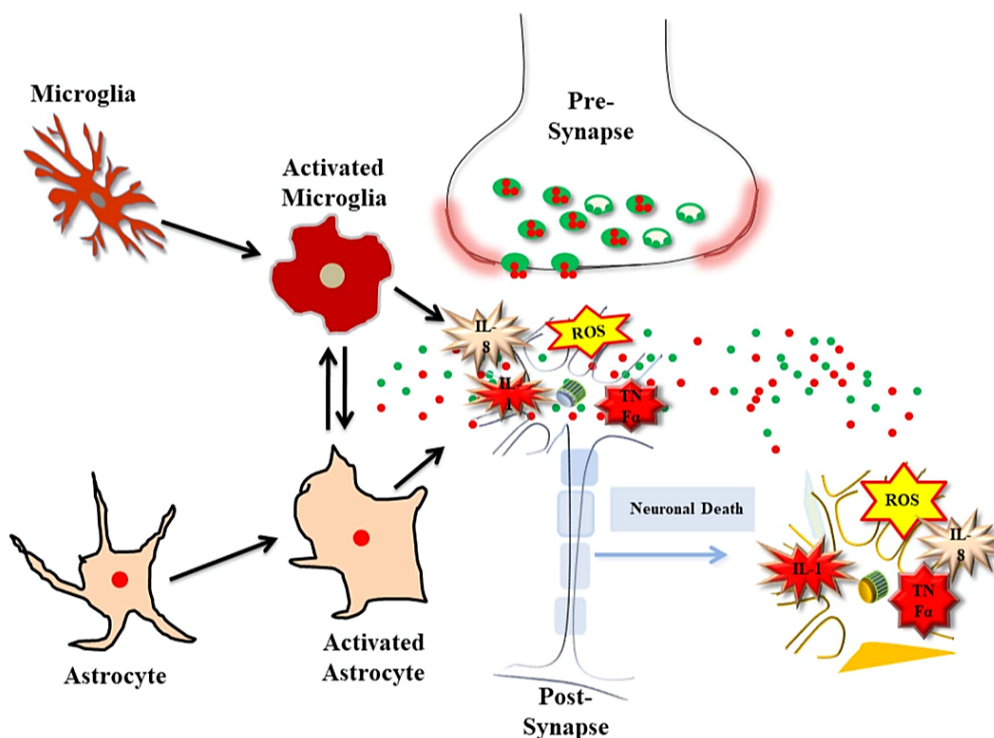
**Ilustración 3.** Hipótesis del estrés oxidativo y mitocondrial. Imagen tomada de Kumar *et al.* (2018).

El estrés oxidativo es causado por la alta acumulación en las mitocondrias de peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y radical superóxido, subproductos de la cadena de transporte de electrones. Estos pueden llegar a inducir lesiones celulares oxidativas, como cambios en la

estructura del ADN y rotura de las cadenas, así como cambios estructurales en las proteínas, y por ende muerte celular y neurodegeneración (Kumar *et al.*, 2018). La evidencia acumulada sugiere que las placas de péptido A $\beta$  interfieren directamente con la cadena de transporte de electrones y producen radicales libres, aumentando de esta forma el estrés oxidativo. Al ser altamente reactivos, algunos de estos radicales como el radical superóxido, reaccionan también con el óxido nítrico, dando lugar a la formación de radicales peroxinitrito, otra especie oxidativa altamente reactiva (Kumar *et al.*, 2018).

Por otro lado, el estrés oxidativo también promueve la glicosilación de ciertas proteínas y lípidos y podría conducir a la formación de productos finales de glicosilación avanzada, que intensifican aún más el estrés oxidativo y la neuroinflamación. Se ha observado que las neuronas presentes en el hipocampo, la corteza frontal y la amígdala son más propensas a sufrir daños por el estrés oxidativo-nitrosante, siendo por tanto este hecho un aspecto importante en apoyo de esta hipótesis como posible origen de la EA.

#### IV. Hipótesis inflamatoria.



*Ilustración 4. Hipótesis inflamatoria. Imagen tomada de Kumar et al. (2018).*

Durante la progresión de la EA, las PS y los ON activan las células de microglía y los astrocitos. La activación de la microglía aumenta la expresión de citoquinas proinflamatorias y quimiocinas como la interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), la interleucina-6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), y la interleucina-8 (IL-8). Por otro lado, los astrocitos activados liberan también interleucinas además de otros mediadores proinflamatorios como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos que aumentan aún más la respuesta inflamatoria.

Se ha visto que el péptido A $\beta$  estimula la producción de óxido nítrico (Kumar *et al.*, 2018), lo que conduce a inflamación y daño neuronal. Por otra parte, algunos autores (Heppner *et al.*, 2015) han descrito que la inflamación en la EA está relacionada con la respuesta inmunitaria innata, a diferencia de las enfermedades neuroinflamatorias típicas, como la esclerosis múltiple y las encefalitis. Por lo tanto, el concepto de inflamación en la EA necesita evidencias adicionales que apoyen de manera más sólida su papel en la etiología de ésta enfermedad.

## **V. Hipótesis epigenética de la EA.**

Las modificaciones epigenéticas de metilación del ADN y la acetilación de histonas que regulan la expresión génica a nivel transcripcional juegan un papel importante en la patogénesis de la EA. La metilación del ADN se produce en residuos de citosina (C) y guanina (G) en las islas CpG. La metilación está catalizada por la ADN metil transferasa que transfiere el grupo metilo de la S-adenosil metionina a los residuos de citosina. Las metil transferasas se clasifican en DNMTs de novo o de mantenimiento. Las DNMTs de novo, DNMT3a y DNMT3b, establecen patrones de metilación iniciales en ADN previamente no metilado; y la DNMT de mantenimiento, DNMT1 establece patrones de metilación en el ADN replicado hemimetilado (Moore *et al.*, 2013).

La metilación del ADN ha sido implicada en un mecanismo neuropatológico relacionado con la demencia de Alzheimer, por el hecho de que la expresión de la DNMT1 disminuye en pacientes con EA. Este hecho se ha asociado con una reducción en la metilación del ADN en la corteza, particularmente en neuronas que contienen ON en comparación con individuos sanos. Además, las mutaciones en el gen DNMT1 causan una metilación aberrante del ADN y conducen a demencia, pérdida de audición y neurodegeneración en humanos. Se ha demostrado que la EA está asociada con una metilación anormal en el cerebro (Wang *et al.*, 2008; Bakulski *et al.*, 2012).

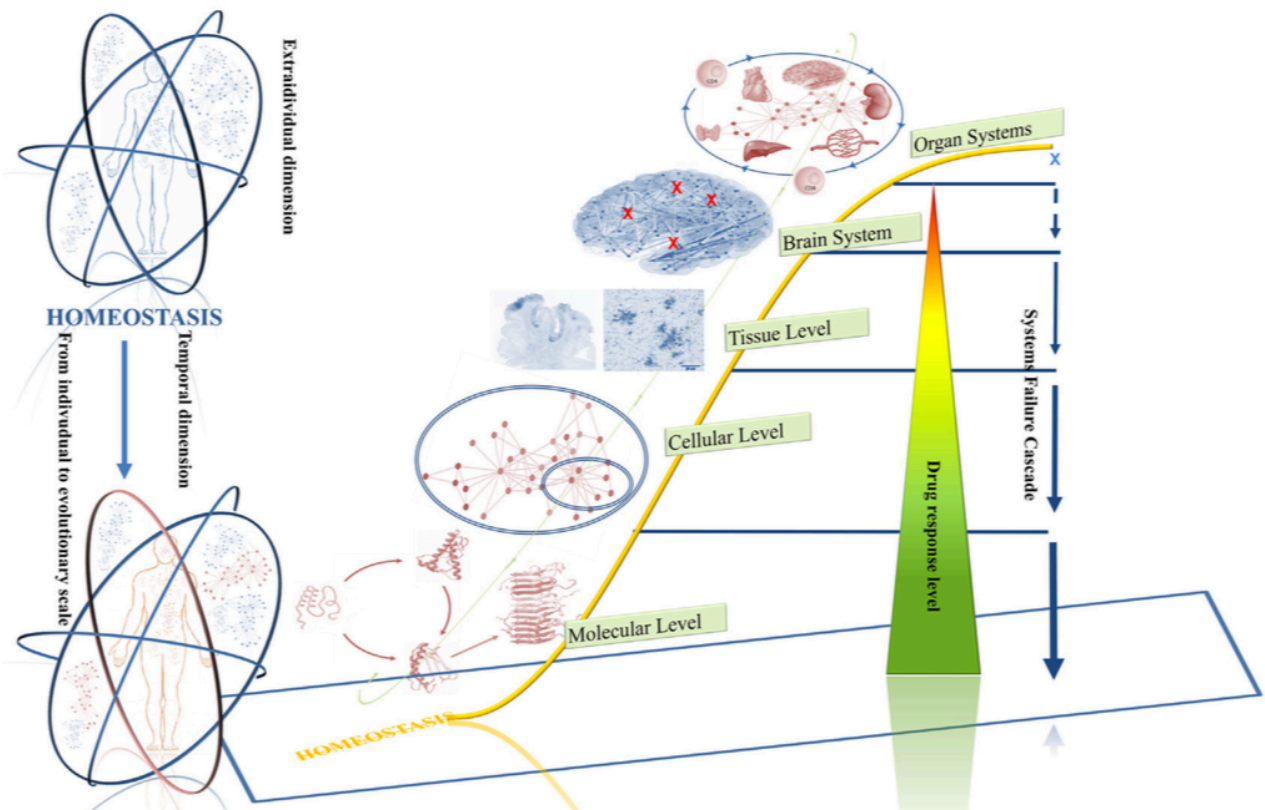
La metilación del ADN también se altera a nivel del promotor en genes específicos relacionados con la EA. Por ejemplo, en los cerebros de pacientes con Alzheimer la hipermetilación de la región promotora del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (un marcador de plasticidad sináptica que desempeña un papel importante en la formación de memoria a largo plazo), hace que disminuya su expresión (Kumar *et al.*, 2018).

El folato, la vitamina B12 y la S-adenosilmetionina (SAM) son moléculas importantes en los procesos de metilación, y la SAM es el principal donante de grupos metilo para la metilación del ADN. Los estudios han demostrado que el nivel de folato, vitamina B12 y SAM están disminuidos en pacientes con EA, lo que sugiere por tanto que los procesos de metilación podrían estar también alterados (Kumar *et al.*, 2018).

La acetilación es, al igual que la metilación, otro proceso implicado en la regulación de la expresión génica. En este sentido, la acetilación en el extremo N-terminal de las histonas está catalizada por un grupo de enzimas, las histonas acetil-transferasas (HAT). Dicho proceso confiere un estado relajado a la cromatina que es fácilmente accesible para la transcripción activa. Las histonas desacetilasas (HDAC) son las enzimas que eliminan el grupo acetilo del extremo N-terminal de las histonas, lo que resulta en un estado condensado de la cromatina y en la supresión de la transcripción génica. Entre las histonas desacetilasas, la HDAC2 es un regulador negativo de los genes de plasticidad sináptica y, por lo tanto, de la memoria.

Graff *et al.*, (2009) observaron que la expresión de HDAC2 estaba aumentada en el hipocampo en un modelo murino de EA. Simultáneamente, observaron que tanto el péptido  $\beta$ -amiloide como los productos procedentes del metabolismo oxidativo regulaban positivamente la expresión de HDAC2, estableciendo así una conexión funcional entre péptido  $\beta$ -amiloide y especies reactivas del  $O_2$  con los procesos de plasticidad sináptica y memoria.

### 3.2. Aproximación a los diferentes abordajes terapéuticos.



*Ilustración 5. Homeostasis. Imagen tomada de Hampel et al. (2018).*

Muchos autores creen que la EA, al igual que otras demencias y enfermedades neurodegenerativas, se desarrolla debido a que se pierde la homeostasis global en el organismo a causa del desequilibrio en diferentes puntos de control y no en base a una única causa.

Según Hampel *et al.*, (2018), la pérdida del equilibrio homeostático, como consecuencia de factores estresantes tanto exógenos como endógenos, pone en marcha mecanismos de compensación que aseguran el correcto funcionamiento del sistema, no obstante, cuando esa pérdida de equilibrio excede los mecanismos de compensación se inicia el proceso fisiopatológico.

Existen numerosos factores estresantes, ya sea externos e internos, donde la respuesta compensatoria puede variar dependiendo del intervalo temporal y la intensidad a la que estemos expuestos. Son los denominados factores de riesgo, que pueden hacer variar las probabilidades

de padecer la enfermedad. A continuación, se presentan los factores de riesgo para la EA, y sus características más relevantes:

<b>Factores de Riesgo para la enfermedad de Alzheimer</b>	<b>Características</b>
<i>Vejez</i>	En sí mismo no determina la enfermedad, pero el riesgo de padecerla aumenta con la edad. Según el informe realizado en 2015 de World Alzheimer, el número de personas con EA y otras formas de demencia en todo el mundo se estima en 46.85 millones; probablemente se duplicará para 2030 y podría elevarse a tres veces el nivel actual para 2050. Cada año se detectan aproximadamente 7,7 millones de casos nuevos de demencia. (Kumar <i>et al.</i> , 2018)
<i>Antecedentes familiares</i>	Tener un familiar directo (madre, padre, hermana/o) con EA implica altas probabilidades de padecer esta enfermedad.
<i>Síndrome de Down</i>	La EA es mucho más común en individuos con síndrome de Down, que generalmente el 25% la desarrollan entre los 30 y 50 años de edad
<i>Lesiones cerebrales traumáticas</i>	Una lesión que resulta en la pérdida del conocimiento o en la amnesia que dura 30 minutos o más, con/sin una fractura del cráneo, se considera una lesión cerebral traumática. Lesiones cerebrales en la juventud son asociadas con el desarrollo de la EA más tarde en la vida. Lesiones que resultan en fracturas del cráneo y periodos largos de la amnesia aumentan el riesgo aún más. Investigadores todavía están intentando descubrir por qué y cómo las lesiones cerebrales contribuyen al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.
<i>Factores ambientales</i>	Sustancias naturales o químicas que se encuentran en nuestro entorno y que pueden causar diversos problemas de salud, como la EA: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Minerales naturales: plomo, zinc, hierro.</li> <li>• Sustancias químicas: benceno, tolueno, fertilizantes e insecticidas.</li> </ul>
<i>Género</i>	Las mujeres tienen mayor probabilidad de desarrollar Alzheimer debido a que viven más tiempo que los hombres en promedio, y la edad avanzada es el mayor factor de riesgo para dicha enfermedad. (Alzheimer's Association, 2017)
<i>Enfermedades cerebrovasculares</i>	Pueden desencadenar la demencia vascular

<p><i>Enfermedad de Parkinson</i></p>	<p>La enfermedad del Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente después de la enfermedad de Alzheimer. Afecta aproximadamente al 1% de las personas de 65 a 69 años y a entre el 2 y 3% de los mayores de 80 años. (Fernández, 2011)</p> <p>Produce temblores, deficiencia del equilibrio, movimientos rígidos y muy lentos.</p> <p>Los que la presentan, poseen una probabilidad 8 veces más alta de desarrollar la enfermedad de Alzheimer.</p>
<p><i>Dieta</i></p>	<p>Una dieta alta en colesterol y grasa puede aumentar el riesgo de padecer EA:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se ha encontrado una conexión entre la obesidad y un aumento en el desarrollo de Alzheimer y de otras formas de demencia.</li> </ul>

**Fuente:** <https://www.dementiacarecentral.com>

### **3.3. Aproximación a las Terapias Farmacológicas.**

La EA es la principal causa de demencia, y dentro de las enfermedades neurológicas, es la segunda causa de discapacidad (Alzheimer's Association, 2017). Su avance está relacionado con alteraciones cognitivas, conductuales y actividades de la vida diaria como resultado principalmente de la pérdida de neuronas colinérgicas en las áreas cerebrales encargadas de la memoria, el aprendizaje y las funciones ejecutivas (Fernández, 2011).

En los últimos años la investigación terapéutica de las principales formas de demencia se ha focalizado principalmente en dos neurotransmisores, la acetilcolina, por los bajos niveles existentes en la EA, y el neurotransmisor excitador glutamato, por presentar niveles anormalmente elevados. Sin embargo, teniendo en cuenta el curso de la EA, junto con la gran variedad de factores de riesgo que pueden predisponer a ella, las terapias farmacológicas que han sido aprobadas hasta el momento, únicamente retrasan el avance de la misma y combaten los síntomas durante periodos de tiempo variables.

La naturaleza multifactorial de Alzheimer supone un gran problema para la producción de fármacos que sean realmente eficaces, ya que la enfermedad puede afectar de diferente forma a cada individuo y al mismo tiempo a diferentes niveles, desde el nivel molecular hasta los

grandes sistemas de órganos. Por ello la clave está en comprender la base de la composición biológica individual.

De todo este planteamiento surge la medicina y la farmacología de precisión.

Por un lado, la medicina de precisión (MP) pretende identificar vías aberrantes que se suceden simultáneamente en enfermedades cerebrales, incluida la EA, y predecir el impacto que podrían tener a diferentes niveles en los distintos sistemas del organismo. Si se realizara con éxito, podrían diseñarse tratamientos que aplicados en las fases iniciales de la enfermedad permitieran frenarla e incluso revertirla. La eficacia podría aumentar notablemente si además el tratamiento se diseñara de manera particular según la composición biológica del individuo, dando como resultado una seguridad óptima ya que disminuiría el riesgo de efectos secundarios (Hampel *et al.*, 2018)

Por otro lado, la farmacología de precisión (FP), se define como “la ciencia de avanzar en el conocimiento sobre la acción de los medicamentos a diferentes niveles desde el nivel molecular hasta el nivel poblacional”. La FP unifica datos farmacocinéticos y farmacodinámicos en un único modelo para comprender totalmente la acción del fármaco a través de las diferentes rutas biológicas. Tiene su base en las ciencias “ómicas” y pretende obtener modelos predictivos, cuantitativos y dinámicos, para moléculas específicas que actúan en los sistemas biológicos. En este caso es necesario desarrollar herramientas bioinformáticas avanzadas para detectar interacciones que pudieran afectar la acción del fármaco y por tanto afectar negativamente a su eficacia (Hampel *et al.*, 2018).

El uso conjunto de la MP y la FP puede abrir vías de investigación a nuevas terapias farmacológicas en el Alzheimer, abarcando múltiples objetivos de manera simultánea.

Las terapias farmacológicas aprobadas hasta el momento, como ya se ha mencionado, tienen una acción limitada y han resultado ineficaces a largo plazo. Actualmente, es patente la necesidad de seguir desarrollando nuevas terapias que traten de forma directa las regiones afectadas del cerebro y consigan revertir la enfermedad y el déficit cognitivo, y es aquí donde toma especial relevancia la terapia celular.



## **4. OBJETIVOS.**

En este trabajo de investigación bibliográfica, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

1. Revisar el estado actual de los tratamientos, tanto de estimulación cognitiva como farmacológicos, aprobados para la EA.
2. Revisar el estado actual de la investigación con modelos animales en terapia celular para el tratamiento de la EA.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS.**

La información utilizada para la realización de este trabajo ha sido obtenida mediante búsqueda bibliográfica seleccionando diferentes artículos científicos, los cuales se encuentran disponibles en la sección de bibliografía. Para dicha búsqueda han sido empleados diferentes buscadores como PUBMED, Google Academics y SCOPUS. Se han usado diferentes palabras clave para acotar la búsqueda como: Alzheimer disease, pharmacotherapy, pathological mechanisms, cell therapy entre otros, de forma individual y combinada.

## **6. TRATAMIENTOS ACTUALES INDICADOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.**

El tratamiento de la EA debe ser una combinación de tratamiento farmacológico y no farmacológico, con el objetivo de que la persona se mantenga activa durante la mayor parte del tiempo.

### **6.1. Tratamiento Cognitivo.**

Dentro del ámbito cognitivo, la terapia tiene como objetivo retardar el deterioro de las funciones cognitivas afectadas, y preservarlas. Además, en el ámbito funcional se pretende mejorar y mantener la calidad de vida del paciente y de su entorno inmediato.

La estimulación cognitiva pretende favorecer la interdependencia para las actividades diarias y la socialización. Los programas de intervención cognitiva son eficaces en la EA leve o moderada, siendo las intervenciones que actúan sobre procesos cognitivos concretos las más habituales. Las principales técnicas utilizadas son: (Crespo & Valls, 2014).

1. Técnicas de orientación de la realidad: Conjunto de técnicas mediante las cuales la persona toma conciencia de su situación en el tiempo (orientación temporal), en el espacio (orientación espacial) y respecto a su propia persona (orientación personal).
2. Terapia de reminiscencia: basada en la revisión del propio pasado del paciente con ayuda de estímulos significativos para mejorar la memoria.
3. Terapia de validación: Es una forma práctica de trabajar y comunicarse con personas que presentan un deterioro cognitivo grave. Se lleva a cabo mediante una interacción empática con la persona y desde una visión holística de la misma.
4. Entrenamiento cognitivo: repetición de un conjunto de actividades diseñadas para ejercitar una función cognitiva concreta como la memoria, atención o planificación.
5. Estimulación sensorial como la musicoterapia, o estimulación multisensorial.

Como última finalidad, el tratamiento cognitivo intenta controlar la patología crónica coexistente y prevenir los diferentes problemas de salud asociados a la progresión de la EA.

## **6.2. Tratamiento Farmacológico.**

Desde el punto de vista neuroquímico, el Alzheimer manifiesta un gran impacto en la neurotransmisión: produce cambios colinérgicos y glutamatérgicos muy importantes. Los efectos en el sistema colinérgico son la reducción de la actividad (reducción de la síntesis de acetilcolina y, del número de neuronas colinérgicas en la EA tardía) y la pérdida selectiva de receptores nicotínicos en el hipocampo y el córtex. Por otro lado, la pérdida de neuronas colinérgicas es producida en parte como consecuencia de una lesión excitotóxica inducida por las altas concentraciones de glutamato en la hendidura presináptica y la hiperestimulación del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) (Crespo & Valls, 2014).

Existen dos tipos de fármacos aprobados para el tratamiento de la EA: 1) inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) y 2) antagonistas de los receptores NMDA.

Estos fármacos pueden tratar el deterioro cognitivo, el declive funcional y los síntomas comportamentales asociados a la EA. Se han ensayado otros muchos fármacos, pero en el momento actual no se dispone de evidencias científicas suficientes que avalen su empleo o no han demostrado su beneficio clínico, cognitivo o funcional (Crespo & Valls, 2014).

Los inhibidores de la AChE, son los fármacos más empleados y se utilizan como fármacos de primera línea en monoterapia o asociados a los antagonistas de los receptores NMDA.

Cuatro inhibidores de la AChE están aprobados por la United States Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) para el tratamiento de la EA: tacrina (1,2,3,4-tetrahidro-9- aminoacridina; COGNEX), donepezilo (ARICEPT), rivastigmina (EXCELON) y galantamina (RAZADYNE) (Brunton *et al.*, 2007).

- La **tacrina** es un potente inhibidor de acción central de la AChE. Los estudios de la tacrina por vía oral en combinación con lecitina confirman que la tacrina tiene efecto sobre el rendimiento de la memoria, pero en el mejor de los casos la mejoría observada con esta combinación es moderada. Los efectos adversos de la tacrina a menudo son importantes y limitan la dosis; se observan cólicos abdominales, anorexia, náuseas, vómitos y diarrea en hasta 33% de quienes reciben dosis terapéuticas, y aumento de las transaminasas séricas en hasta 50% de los individuos tratados. Debido al alto número de efectos secundarios, la tacrina no se usa ampliamente en la práctica clínica.
- El **donepezilo** es un inhibidor selectivo de la AChE en el sistema nervioso central, con poco efecto sobre la AChE en tejidos periféricos. Produce mejorías moderadas a nivel cognitivo en pacientes con EA, y tiene una vida media prolongada, pudiendo dosificarse una única vez al día.
- La **rivastigmina** y **galantamina** se dosifican dos veces al día, y producen un grado similar de mejoría cognitiva al observado con el donepezilo.

Los tratamientos con inhibidores de la AChE por lo general son bien tolerados. Los efectos adversos más frecuentes son los gastrointestinales como las náuseas, vómitos y diarrea. Con menos frecuencia pueden aparecer dolores abdominales, anorexia, pérdida de peso, insomnio,

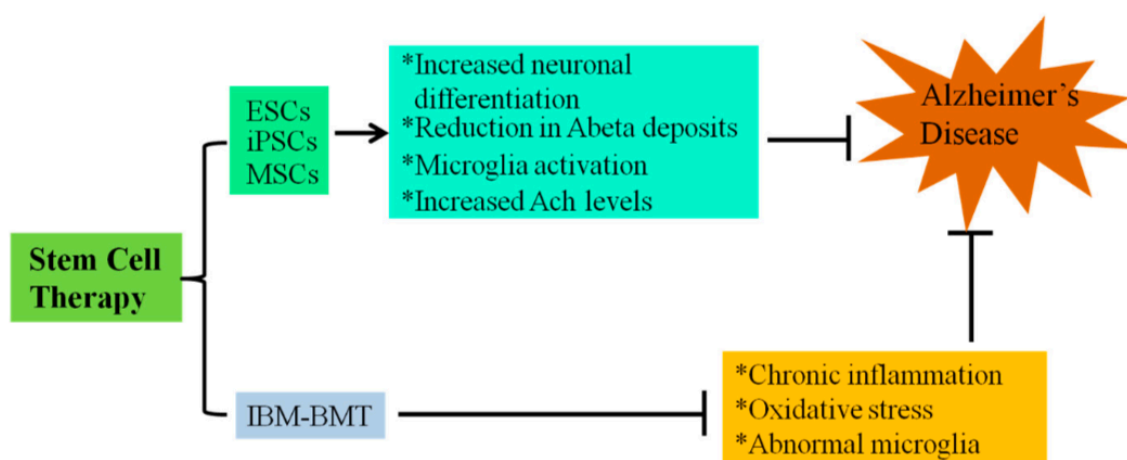
calambres musculares, incontinencia urinaria, bradicardia y síncope; pero por lo general son menos frecuentes y menos graves que los observados con la tacrina (Brunton *et al.*, 2007).

Se recomienda el tratamiento con inhibidores de la AChE en pacientes con EA leve o moderada, también pueden usarse en el caso de la EA avanzada o grave, aunque su beneficio será menor en estos pacientes. Dicho tratamiento debe iniciarse tan pronto como sea posible una vez confirmado el diagnóstico (Crespo & Valls, 2014).

El otro tipo de fármaco indicado para el tratamiento de la EA es la **memantina**, antagonista no competitivo de los receptores NMDA. La memantina es el único fármaco indicado en el tratamiento de la EA de moderada a grave. En estos pacientes la memantina es eficaz cuando es administrada en monoterapia y asociada a un inhibidor de la AChE, mejorando de manera modesta las manifestaciones conductuales, como apatía, ansiedad y depresión. Sin embargo, no se ha concretado si este resultado proviene de un efecto real de modificación de la enfermedad o si es un efecto sintomático del fármaco. Los efectos adversos de la memantina por lo común son leves y reversibles e incluyen ocasionalmente cefalea o mareos (Brunton *et al.*, 2007).

Cada tratamiento debe individualizarse según la tolerancia del paciente y la gravedad de la demencia. El tratamiento farmacológico debe suspenderse cuando aparecen efectos adversos graves que contraindiquen el uso del mismo. (Brunton *et al.*, 2007).

## 7. TERAPIA CELULAR



**Ilustración 6.** Resumen los tipos de terapia celular en la EA. Imagen tomada de Li *et al.* (2014).

Actualmente, todos los esfuerzos realizados en desarrollar tratamientos farmacológicos dirigidos hacia vías específicas relacionadas con la EA solo han conseguido ralentizar el curso de la enfermedad, paliando los síntomas y mejorando en cierto modo la calidad de vida del paciente. Por tanto, estos tratamientos únicamente retrasan lo inevitable, ya que no curan la enfermedad, sino que la estabilizan por un periodo de tiempo variable.

Como resultado de esto, ha comenzado a desarrollarse un nuevo tipo de terapia “no farmacológica”, la terapia celular. La terapia con células, especialmente con células madre, abre una vía de enorme potencial para el abordaje y tratamiento de diversas enfermedades, incluidas las enfermedades neurodegenerativas. Actualmente, con el avance de las ciencias básicas y la ingeniería de tejidos, la terapia celular ofrece nuevos tratamientos que pueden aumentar la supervivencia de los pacientes con una adecuada calidad de vida.

A diferencia de otros tejidos, el tejido nervioso tiene una capacidad de renovación limitada. A pesar de la presencia de células madre neurales, la capacidad de producir neuronas nuevas y activas en respuesta al daño también es limitada, por lo que es necesario la búsqueda de otras fuentes celulares que puedan reemplazar las células nerviosas dañadas (Li *et al.*, 2014). En este sentido, las investigaciones se han centrado en la utilización de células madre de diferente origen: las células madre embrionarias (CME), células madre pluripotentes inducidas (CMPi), células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (CMMO), y células madre derivadas de tejido adiposo (CMTA).

Las CME derivan de la masa celular interna del blastocisto, son pluripotentes y tienen la capacidad de auto renovarse y diferenciarse en cualquier tipo celular. Su capacidad de proliferación y diferenciación ofrece la posibilidad de producir innumerables células nerviosas, y se ha demostrado su uso en terapia celular (Li *et al.*, 2014).

Las neuronas generadas a partir de células madre pueden integrarse perfectamente en la red neuronal del cerebro además de, aparentemente, aumentar los niveles de acetilcolina en éste, mejorando así la cognición; y por otro lado, favorecen la secreción de factores neurotróficos que modulan la plasticidad neuronal y la neurogénesis (Li *et al.*, 2014).

## **7.1. Aproximaciones experimentales a la terapia celular en la Enfermedad de Alzheimer.**

Han sido numerosos los estudios desarrollados en los últimos años dirigidos hacia la búsqueda de abordajes terapéuticos alternativos para el tratamiento de la EA basados en terapia celular. Los primeros trabajos fueron enfocados hacia el uso de CME. Tang *et al.*, (2008) utilizando un modelo de rata afectada por placas amiloides, trasplantaron CME previamente diferenciadas en neuronas, consiguiendo mejorar el deterioro cognitivo de los animales, evaluado mediante pruebas conductuales de memoria. Esto se comprobó sometiendo a los animales a la prueba del laberinto acuático de Morris, con el que se consigue evaluar el aprendizaje espacial. Por lo tanto, se demostró que el uso de neuronas diferenciadas a partir de CME puede usarse para tratar enfermedades neurodegenerativas.

Por otro lado, las CMPi obtenidas por diferentes métodos, pueden diferenciarse en células neurales. Yagi *et al.*, (2011), generaron un modelo de EA in vitro a partir de CMPi que diferenciaron en neuronas y comprobaron que estas producían altos niveles del péptido A $\beta$ 1-42, principal componente de las placas amiloides. Comprobaron además que estas neuronas eran sensibles a inhibidores de la  $\gamma$ -secretasa, por lo que posiblemente estas neuronas tenían respuesta farmacológica a dichos inhibidores, proveyendo una estrategia potencial para el desarrollo de nuevas herramientas farmacológicas frente a la EA. En este caso, las células no constituyen una terapia en sí, sino que sirven como estrategia para la obtención de nuevas moléculas con acción terapéutica.

Las células madre se aíslan principalmente de la médula ósea (Campagnoli *et al.*, 2001), del tejido adiposo (Zuk *et al.*, 2001) y de la sangre procedente del cordón umbilical (Érices *et al.*, 2000). Son muy utilizadas ya que se puede disponer de ellas fácilmente. Además, tienen la capacidad de diferenciarse en numerosos tipos celulares como osteoblastos, adipocitos y células pancreáticas (Dominici *et al.*, 2006 & Tang *et al.*, 2004).

Las CMMO trasplantadas en cerebros lesionados, aumentaron el número de neuronas colinérgicas. Además, fueron capaces de eliminar las placas A $\beta$  del hipocampo y reducir los depósitos de A $\beta$  mediante la activación de la microglía endógena en un modelo de ratón con EA inducida (Lee *et al.*, 2009; Salem *et al.*, 2014). Además, las CMMO humanas mejoran la

autofagia, promueven el aclaramiento de A $\beta$  y aumentan la supervivencia neuronal como se demostró en un modelo de ratón afectado por placas amiloides (Shin *et al.*, 2014). Las células CMTA aisladas de grasa inguinal de ratas pueden diferenciarse *in vitro* en neuronas o astrocitos.

Cuando las CMTA humanas se inyectaron por vía intravenosa en un modelo de ratón con EA se pudieron encontrar en el cerebro hasta 12 días después de la inyección (Ha *et al.*, 2014). Por otro lado, se ha observado una mejora de la función colinérgica, así como de funciones cognitivas y motoras cuando CMTA son trasplantadas en cerebros de ratones de edad avanzada. Asimismo, se observó en estos animales una activación de la microglía (Ha *et al.*, 2014).

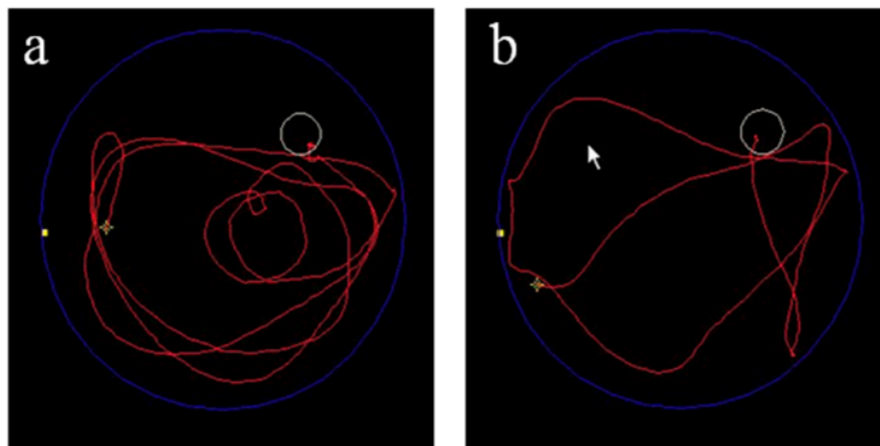
Se ha demostrado que las células madre derivadas de la sangre de cordón umbilical (CMCU) mejoran la recuperación neuropatológica y conductual tras un traumatismo agudo de la médula espinal (Shira *et al.*, 2012). Las CMCU humanas pueden ser inducidas para diferenciarse en neuronas, y estas células se trasplantaron en un modelo de ratón transgénico de EA observándose una mejora de la función cognitiva y de la deposición de A $\beta$ , la cual se redujo después del trasplante. Estos efectos beneficiosos se asociaron con la activación de la microglía (Darlington *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2013).

Los ratones SAMP, son una cepa de ratones con envejecimiento acelerado, obtenidos mediante endogamia selectiva a partir de la cepa MRL-MpJ-Ipr/(MLR/Ipr), un modelo de ratón usado para el estudio de enfermedades autoinmunes (Takeda *et al.*, 1997). Estos ratones, en general, muestran déficit relacionados con la edad, en el aprendizaje y la memoria, así como una respuesta inmune disminuida (Chiba *et al.*, 2009). De las nueve cepas caracterizadas, SAMP8 y SAMP10 han sido las más idóneas a tener en cuenta como modelos animales de EA.

Los ratones SAMP8, además de las deficiencias en el aprendizaje y la memoria relacionadas con la edad, presenta exceso de A $\beta$ , hiperfosforilación de Tau ( $\tau$ ) y elevado estrés oxidativo, asociado a una disfunción mitocondrial que induce la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno (ROS), y neurodegeneración (Li *et al.*, 2014). Los ratones SAMP8 tienen una deposición de A $\beta$  muy parecida a la de los humanos con EA, ya que los niveles en estos ratones aumentan con el envejecimiento. También se ha podido observar que algunas células de Purkinje del cerebelo medial y del vermis desaparecen a medida que el cerebro de estos ratones se hace más viejo, por lo que los ratones SAMP8 constituyen un modelo aceptable para la EA.

Además, se ha visto que el A $\beta$  juega un papel importante en la fisiopatología de la EA induciendo estrés oxidativo (Takemura *et al.*, 1993; Sjobeck *et al.*, 2001).

Como las CMMO evitan la progresión de la EA (Lee *et al.*, 2009; Salem *et al.*, 2014), se trasplantaron a ratones SAMP8 utilizando la técnica de IBT-BMT, que consiste en trasplantar la médula ósea del donante en la cavidad medular del receptor en lugar de administrarla mediante inyección intravenosa. Para evaluar los efectos de este tratamiento, se realizó la prueba del laberinto acuático de Morris a los animales trasplantados y a los no trasplantados. Se observó que los ratones SAMP8 trasplantados realizaban desplazamientos más directos hacia la plataforma oculta que los ratones SAMP8 sin trasplantar (ilustración 7). Por lo tanto, estos análisis demostraron que el deterioro cognitivo había mejorado y se había producido una recuperación de la memoria espacial (Li *et al.*, 2014).



**Ilustración 7.** Latencia de escape de ratones SAMP8 de senescencia acelerada (SAMP8). **A)** SAMP8 sin trasplante. **B)** SAMP8 con trasplante de CMM derivadas de médula ósea. Imagen obtenida de Li *et al.* (2014).

Los ratones SAMP10 presenta además de déficits en el aprendizaje y la memoria relacionados con la edad, atrofia cerebral, pérdida de neuronas corticales, disminución de los receptores colinérgicos del hipocampo, disminución de los niveles de determinados factores neurotróficos, aumento de la esfingomielinasa, aumento del estrés oxidativo-nitrosante y disminución de la síntesis de catecolaminas en el córtex cerebral relacionada con la disminución de las capacidades de aprendizaje y memoria con el envejecimiento, alteraciones en la función microglial y niveles elevados de citoquinas proinflamatorias (Takeda *et al.*, 1997; Shimada & Hasegawa, 2011).



Por ello se ha investigado si las enfermedades neurodegenerativas pueden estar asociadas a disfunción inmunitaria, concretamente del timo en ratones SAMP10. En estos trabajos, se analizaron las poblaciones linfocitarias en sangre periférica y se comprobó que el sistema inmunológico de estos ratones mostraba deficiencias con respecto a ratones normales de la misma edad (Li *et al.*, 2014). En experimentos posteriores, se estudió además si el trasplante de CMMO mediante la técnica de IBT-BMT mejoraba la función del timo y las alteraciones conductuales. Los resultados mostraron en los ratones SAMP10 normalización de las poblaciones de linfocitos T, así como reducción de algunas de las funciones cognitivas. El análisis postmortem de estos ratones mostró la presencia de células trasplantadas no solo en el timo sino también en el parénquima cerebral. Estos resultados junto con resultados similares a partir de otros estudios, sugieren que la técnica de IBM-BMT puede resultar beneficiosa en el tratamiento experimental de pacientes psiquiátricos y con enfermedades neurológicas (Takaki *et al.*, 2008; Hasegawa *et al.* 2013).

Por otro lado, en estudios recientes se han investigado los efectos fisiológicos e histológicos producidos en un modelo animal de EA sometido a terapia celular (Hoveizi *et al.*, 2018). En este estudio 35 ratas con EA inducida fueron sometidas a un trasplante de células nerviosas procedentes de CME para conseguir reparar las lesiones cerebrales características de esta enfermedad.

Las células nerviosas fueron obtenidas por diferenciación de CME mediante el sistema *in vitro* de cultivo en neuroesferas (Hoveizi *et al.*, 2018). Se usó ácido linoleico conjugado, un ácido insaturado, para inducir la diferenciación hacia un fenotipo neuronal, lo que se confirmó mediante análisis de la expresión de los siguientes marcadores neuronales, Nestina, MAP-2, NF-H y Tuj-1.

El modelo animal de EA, en este caso, se obtuvo mediante lesión eléctrica bilateral del núcleo basal de Meynert, estructura importante en los procesos cognitivos ya que está formado por células nerviosas que llevan a cabo la mayor parte del transporte de acetilcolina a la corteza cerebral. Una semana después de la lesión se realizó a los animales el trasplante de neuronas diferenciadas *in vitro*, y se dividieron en cinco grupos de siete ratas cada uno. El grupo control no sufrió cirugía ni tratamiento; el segundo grupo sufrió la lesión bilateral sin trasplante; el tercer grupo lo conformaron las ratas simuladas en las que el electrodo se introdujo en el núcleo

basal de Meynert sin aplicar corriente; el cuarto grupo fue el grupo con lesión bilateral sometido a trasplante (terapia celular); y, por último, el quinto grupo fue sometido a lesión bilateral con inyección de tampón fosfato salino (PBS) (Hoveizi *et al.*, 2018).

Cinco semanas después del tratamiento se realizaron diversos experimentos de conducta mediante un test de aprendizaje espacial utilizando un laberinto con forma de Y. También se llevaron a cabo análisis histológicos utilizando la tinción de hematoxilina-eosina. Las neuronas diferenciadas trasplantadas se marcaron con el colorante fluorescente DiI (colorante lipófilo no tóxico que difunde por la membrana y permanece en ésta durante largos períodos de tiempo, con el fin de seguirles la pista y comprobar si permanecían en el lugar del trasplante al final del ensayo) (Hoveizi *et al.*, 2018).

Al comparar los resultados de los diferentes tratamientos se observó lo siguiente:

- Entre el grupo control y el grupo con lesión bilateral no tratado, el grupo lesionado presentó una disminución significativa en los procesos de aprendizaje espacial.
- Entre el grupo control y el grupo simulado no se observaron diferencias en el test de aprendizaje espacial
- Entre el grupo con lesión bilateral no tratado y el grupo con lesión bilateral e inyección de PBS no se observaron diferencias en el test de aprendizaje espacial.
- Entre el grupo con lesión bilateral no tratado y el grupo con lesión bilateral tratado con terapia celular (trasplante neuronal) se observó una diferencia significativa en el test de aprendizaje espacial con una mejora notable en el grupo trasplantado.

El análisis histológico confirmó la reparación de la lesión mostrando en el grupo trasplantado una estructura similar a la del grupo control, en comparación con los grupos lesionados no tratados. Mostró asimismo la presencia de células marcadas con DiI, confirmando la permanencia de las células trasplantadas después de 5 semanas (Hoveizi *et al.*, 2018).

Por lo tanto, este estudio demuestra claramente que el tratamiento con neuronas diferenciadas a partir de CME puede aumentar significativamente el aprendizaje espacial en un modelo de EA con lesión bilateral del núcleo basal de Meynert. Dichas células trasplantadas permanecieron vivas, migraron y anidaron apropiadamente mejorando las alteraciones cognitivas generadas por la lesión.

## **8. CONCLUSIONS**

The conclusions obtained from the present work have been the following:

1. Cognitive stimulation therapy is effective in the early stages of Alzheimer's disease.
2. The current pharmacological therapy for Alzheimer's disease is only effective to treat the symptoms and slow down the course of the disease.
3. The combination of cognitive stimulation and pharmacological therapy in the early stages of the process act more or less effectively in a synergistic manner.
4. The new pharmacological design strategies should focus on the investigation of drugs directed towards multiple targets due to the multifactorial nature of Alzheimer's disease.
5. Cell therapy can have a multimodal effect in Alzheimer's disease since it has the potential to generate new neurons, replace damaged neurons and modulate the underlying mechanics of Alzheimer's disease.
6. The main challenges of cell therapy are two: 1) The lack of valid animal models that can completely replicate the process and symptoms of Alzheimer's disease, and 2) the absence of specific biomarkers to detect and track the progression of the disease.

## **9. CONCLUSIONES**

Las conclusiones extraídas del presente trabajo han sido las siguientes:

1. La terapia de estimulación cognitiva resulta eficaz en las primeras fases de la enfermedad de Alzheimer.
2. La terapia farmacológica actual para la enfermedad de Alzheimer, únicamente es eficaz para tratar los síntomas y ralentiza de forma variable el curso de la misma.
3. La combinación de terapia de estimulación cognitiva y farmacológica en las primeras etapas de la enfermedad actúa de manera sinérgica con diferente grado de eficacia.

4. Las nuevas estrategias de tratamiento y diseño farmacológico deberían enfocarse hacia la investigación de fármacos dirigidos a múltiples objetivos debido al carácter multifactorial de la enfermedad de Alzheimer.
5. La terapia celular puede ejercer un efecto multimodal en la enfermedad de Alzheimer ya que tiene el potencial de generar nuevas neuronas, reemplazar las neuronas dañadas y modular la mecánica subyacente de Alzheimer.
6. Los principales desafíos de la terapia celular son dos: 1) La falta de modelos animales válidos que puedan replicar completamente el proceso y los síntomas de la enfermedad de Alzheimer, y 2) la ausencia de biomarcadores específicos para detectar y rastrear la progresión de la misma.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría dar mi agradecimiento a varias personas que han hecho posible que a lo largo de este camino, haya podido finalizar y presentar mi Trabajo de Fin de Grado.

En primer lugar, quiero agradecer por su entrega e interés a mi tutor Ricardo Reyes Rodríguez. A lo largo de estos meses he sentido su apoyo, estando siempre disponible para atenderme, resolver dudas y aportar nuevas ideas. Ha sido un enorme placer trabajar con usted.

Agradezco así mismo al Profesor Antonio Lorenzo Hernández y al Profesor Coordinador del Trabajo de Fin de Grado, Celedonio González Díaz, por su apoyo y buena disposición.

A mis amigos y compañeros, que han sabido comprender mis ausencias.

Por último, a mis padres y hermana, por su presencia incondicional y apoyo.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Alzheimer's Association.** 2017. 2017 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 13, 325–373
- Amemori T., Jendelova P., Ruzicka J., Urdzikova L. M., Sykova E.** 2015. Alzheimer's Disease: Mechanism and Approach to Cell Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 26417–26451.
- Molinero Crespo A.M., Tuneu Valls L.** 2014. Know Alzheimer. Respuestas concretas a dudas reales. Manual de consulta para farmaceuticos. Profármaco.2. Barcelona.
- Andersson J.K.** 2006. Discovery of Neurogenic, Alzheimer's Disease Therapeutics. *Current Alzheimer Research*. 3, 55-62
- Campagnoli, C., Roberts, I.A., Kumar, S., Bennett, P.R., Bellantuono, I., et al.** 2001. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*. 98, 2396–2402.
- Chiba, Y.; Shimada, A.; Kumagai, N.; Yoshikawa, K.; Ishii, S., et al.** 2009. The senescence-accelerated mouse (SAM): A higher oxidative stress and age-dependent degenerative diseases model. *Neurochem. Res.* 34, 679–687.
- Darlington, D., Deng, J., Giunta, B., Hou, H., Sanberg, C.D., et al.** 2013. Multiple low-dose infusions of human umbilical cord blood cells improve cognitive impairments and reduce amyloid- $\beta$ -associated neuropathology in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev.* 22, 412–421.
- Dominici, M., le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., et al.** 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 8, 315–317.
- Erices, A., Conget, P., Minguell, J.J.** 2000. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br. J. Haematol.* 109, 235–242.
- Fernández M.** 2011. Neurofarmacología Contemporánea. Fármacos anti-Alzheimer. J. J. Zarranz (Ed.). Elsevier. Barcelona.
- Frost GR, Li Y-M.** 2017 The role of astrocytes in amyloid production and Alzheimer's disease. *Open Biol.* 7: 170228.
- Graff C., Welander H., Frånberg J., Sundström E., Winblad B., et al.** 2009. A $\beta$ 43 is more frequent than A $\beta$ 40 in amyloid plaque cores from Alzheimer disease brains, *J. Neurochem.* 110. 2, 97–706.
- Ha, S., Ahn, S., Kim, S., Joo, Y., Chong, Y.H., et al.** 2014. In vivo imaging of human adipose-derived stem cells in Alzheimer's disease animal model. *J. Biomed. Opt.* 19, 051206.

- Hampel H, Vergallo A, Aguilar L. F., Benda N., Broich K.** 2018. Precision pharmacology for Alzheimer's disease. *Pharmacological Research*. 130, 331–365.
- Hasegawa-Ishii, S., Shimada, A., Inaba, M., Li, M., Shi, M., et al.** 2013. Selective localization of bone marrow-derived ramified cells in the brain adjacent to the attachments of choroid plexus. *Brain Behav. Immun*. 29, 82–97.
- Heppner F. L., Ransohoff R. M., Becher B.** 2015. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease, *Nat. Rev. Neurosci*. 16. 6, 358–372.
- Hoveizi E., Mohammadi T., Ahmad A. M., Zamani N., Eskandary A.** 2018. Transplanted neural-like cells improve memory and Alzheimer-like pathology in a rat model. *Cytotherapy*. 20: 964–973.
- Kumar K., Kumar A., Richard M. K., Deshmukh R.** 2018. Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 98, 297–307.
- Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker.** 2007. *Las bases farmacológicas de la TERAPÉUTICA*. Mc Graw Hill. Colombia.
- Lee, J.K., Jin, H.K., Bae, J.S.** 2009. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce brain amyloid- $\beta$  deposition and accelerate the activation of microglia in an acutely induced Alzheimer's disease mouse model. *Neurosci. Lett*. 450, 136–141.
- Li M., Guo K., Ikehara S.** 2014. Stem cell treatment for alzheimer's disease. *Int. J. Mol. Sci*. 15, 19226-19238.
- Li, M., Shi, M., Abraham, N.G., Ikehara, S.** 2014. Improved expression of Sirt1 on thymic epithelial cells of SAMP10 after intra bone marrow-bone marrow transplantation. *Cell Transplant*. 23, 1019–1029.
- Moore L.D., Le T., Fan G.** 2013. DNA methylation and its basic function *Neuropsychopharmacology*. 38(1), 23–38.
- Salem, A.M., Ahmed, H.H., Atta, H.M., Ghazy, M.A., Aglan, H.A.** 2014. Potential of bone marrow mesenchymal stem cells in management of Alzheimer's disease in female rats. *Cell Biol. Int*. 38, 1367-1383.
- Sambrook, J. y Russell, D. W.** 2001. *Molecular Cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Schira, J., Gasis, M., Estrada, V., Hendricks, M., Schmitz, C., et al.** 2012. Significant clinical, neuropathological and behavioural recovery from acute spinal cord trauma by transplantation of a well-defined somatic stem cell from human umbilical cord blood. *Brain*. 135, 431–446.

- Shimada, A., Hasegawa-Ishii, S.** 2011. Senescence-accelerated mice (SAMs) as a model for brain aging and immunosenescence. *Aging Dis.* 2, 414–435.
- Shin, J.Y., Park, H.J., Kim, H.N., Oh, S.H., Bae, J.S., et al.** 2014. Mesenchymal stem cells enhance autophagy and increase  $\beta$ -amyloid clearance in Alzheimer disease models. *Autophagy.* 10, 32–44.
- Takaki, T., Hosaka, N., Miyake, T., Cui, W., Nishida, T., et al.** 2008. Presence of donor-derived thymic epithelial cells in B6 $\rightarrow$ MRL/lpr mice after allogeneic intra-bone marrow-bone marrow transplantation (IBM-BMT). *J. Autoimmun.* 31, 408–415.
- Takeda, T., Matsushita, T., Kurozumi, M., Takemura, K., Higuchi, K., et al.** 1997. Pathobiology of the senescence-accelerated mouse (SAM). *Exp. Gerontol.* 32, 117–127.
- Takemura, M., Nakamura, S., Akiguchi, I., Ueno, M., Oka, N., et al.** 1993.  $\beta$ /A4 proteinlike immunoreactive granular structures in the brain of senescence-accelerated mouse. *Am. J. Pathol.* 142, 1887–1897.
- Tang, D.Q., Cao, L.Z., Burkhardt, B.R., Xia, C.Q., Litherland, S.A., et al.** 2004. In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow. *Diabetes.* 53, 1721–1732.
- Tang, J., Xu, H., Fan, X., Li, D., Rancourt, D., et al.** 2008. Embryonic stem cell-derived neural precursor cells improve memory dysfunction in A $\beta$ (1–40) injured rats. *Neurosci. Res.* 62, 86–96.
- Wang S. C., Oelze B., Schumacher A.** 2008. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease, *PLoS One.* 3, 7 - e2698.
- Yagi, T., Ito, D., Okada, Y., Akamatsu, W., Nihei, Y., et al.** 2011. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum. Mol. Genet.* 20, 4530–4539.
- Yang, H., Xie, Z., Wei, L., Yang, S., Zhu, Z., et al.** 2013. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived neuron-like cells rescue memory deficits and reduce amyloid- $\beta$  deposition in an A $\beta$ PP/PS1 transgenic mouse model. *Stem Cell Res. Ther.* 4, 76.
- Yirmiya, R., Goshen, I.** 2011. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav. Immun.* 25, 181–213.
- Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., et al.** 2001. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 7, 211–228.
- <https://www.iqb.es/neurologia/enfermedades/alzheimer/enfermedadpaciente/e003.htm>
- <https://www.dementiacarecentral.com/caregiverinfo/causas-y-factores-de-riesgo-de-la-enfermedad-de-alzheimer/>