

*LAS VESÍCULAS
EXTRACELULARES Y LA
ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER*

EXTRACELLULAR VESICLES AND ALZHEIMER'S DISEASE

*TRABAJO DE FIN DE GRADO
GRADO EN BIOLOGÍA
CURSO 2021-2022*

Daniela María Taño Ramos

Tutora: Natalia Domínguez Reyes | Universidad de La Laguna

ÍNDICE

1. Resumen	2
2. Abstract	2
3. Introducción	3
4. Objetivos	5
5. Métodos	5
6. Generalidades de las vesículas extracelulares	6
6.1 Tipos de vesículas extracelulares y su biogénesis	6
6.2 Liberación de las vesículas extracelulares y captación por las células receptoras	8
7. El papel de las vesículas extracelulares en el Sistema Nervioso Central	10
8. Las vesículas extracelulares y las enfermedades neurodegenerativas	11
9. El papel de las vesículas extracelulares en la enfermedad de Alzheimer	12
10. Las vesículas extracelulares y la proteína Beta-amiloide	16
11. Las vesículas extracelulares y la proteína Tau	18
12. El papel de los astrocitos en la secreción de vesículas extracelulares en el Alzheimer	19
13. La autofagia y las vesículas extracelulares en el Alzheimer	22
14. El papel de las vesículas extracelulares en la neuroprotección	23
15. Conclusiones	26
16. Conclusions	27
17. Bibliografía	28

1. RESUMEN

Las vesículas extracelulares son estructuras membranosas liberadas por diferentes tipos de células. Su contenido es rico en proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y metabolitos. Existen diversos tipos de vesículas extracelulares y su función principal es la comunicación entre células que realizan transfiriendo su carga. Debido a ello, estas vesículas están involucradas en numerosas funciones del organismo y, su estudio permite comprender su papel fisiológico y patológico en el desarrollo de determinadas enfermedades, entre las que destacan las neurodegenerativas. El Alzheimer es la principal causa de demencia en el mundo, en este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre cómo participan las vesículas extracelulares en el desarrollo y la progresión de la enfermedad. Sin embargo, las vesículas extracelulares, además de cargar contenido patológico, también transportan y transmiten sustancias con un rol neuroprotector en determinadas situaciones, por lo que su papel en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas constituye un arma de doble filo. Por un lado, se ha mostrado desde el comienzo de la enfermedad de Alzheimer su participación en su progresión y, por el otro, se ha propuesto su papel protector. Por lo tanto, es crucial el estudio de las vesículas extracelulares y sus implicaciones en la enfermedad de Alzheimer.

2. ABSTRACT

Extracellular vesicles are membranous structures released by different cell types. They contain proteins, lipids, nucleic acids and metabolites. There are different types of extracellular vesicles, and their main function is the communication between cells transferring their cargo. As a result, these vesicles are involved in various body functions and their study allows us to understand their physiological and pathological role in the development of certain diseases, like neurodegenerative diseases. Alzheimer's disease is the main cause of dementia in the world, this essay is a review about how these vesicles are involved in the development and progression of the disease. Although the extracellular vesicles carry pathological content, they can also transport and transmit substances with a neuroprotective role in certain situations, therefore their role in the development of neurodegenerative diseases is a double-edged sword. On one hand, it has been shown their involvement in the progression of Alzheimer's disease from its onset, and on the other hand, it has been proposed their protective role. Consequently, the study of the involvement of the extracellular vesicles in Alzheimer's disease is crucial.

3. INTRODUCCIÓN

Las vesículas extracelulares (VE) son una vía de intercambio de información entre células a través de moléculas encerradas en una estructura envuelta por una membrana (Minciacchi et al., 2015). Representan un importante medio de comunicación intercelular, en el que actúan como vehículos para la transferencia de proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y metabolitos, pudiendo recorrer tanto largas como cortas distancias. Entre estas biomoléculas se encuentran, por ejemplo, enzimas con funciones metabólicas como la catalasa o la superóxido dismutasa, claves en la protección contra el estrés oxidativo (Yuan et al., 2021). Además del transporte de diferentes biomoléculas, también se les asocian diversas funciones según el tipo de célula que las produce (Minciacchi et al., 2015). Por ejemplo, las plaquetas liberan VE en respuesta a la activación del receptor de la trombina (Raposo & Stoorvogel, 2013), estas VE intervienen en funciones extracelulares específicas como la presentación de antígenos o la eliminación de células con receptores para estas VE. Las VE pueden ser liberadas por diferentes tipo de células y a su vez, las células pueden liberar diferentes tipos de VE (Minciacchi et al., 2015).

La composición de estas vesículas es muy heterogénea y específica de las células que las producen y del estado fisiológico o patológico de estas (Kalluri & LeBleu, 2020). Las moléculas que transportan son los primeros reguladores de la formación de las VE (Teng & Fussenegger, 2021). Los endosomas constituyen una vía de formación de VE, por tanto, proteínas asociadas a los endosomas actúan como reguladores de la formación de VE. Dichas proteínas se pueden agrupar en microdominios de la membrana endosomal y terminarán formando parte también de las VE, como, por ejemplo, las tetraspaninas, la flotillina o proteínas ancladas al glucosilfosfatidilinositol. En cuanto a la composición lipídica de la membrana de las VE, a diferencia de los endosomas, es rica en colesterol, esfingomielina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y ácidos grasos saturados o monoinsaturados (Raposo & Stoorvogel, 2013, Upadhy et al., 2020).

En el lumen de las VE se encuentran proteínas citosólicas, nucleares y de la matriz extracelular, metabolitos, ARNm, micro-ARN, además de ARN no codificante (Raposo & Stoorvogel, 2013). Se han descrito multitud de componentes de las VE, por ejemplo, la base

de datos EXOCARTA recoge un total de 41.860 proteínas, 3.408 ARNm, 2.838 microARN y 1.116 lípidos presentes en exosomas, un tipo de vesícula extracelular (Yuan et al., 2021).

La principal función de las VE es la comunicación intercelular, es decir, el transporte de biomoléculas desde las células que las liberan hasta las receptoras (Suresh Mathivanan et al., 2021). Además, presentan otras funciones específicas del tipo de célula que las produce, como la liberación de moléculas de desecho, la movilidad espermática, la presentación de antígenos, la progresión tumoral, la inactivación de linfocitos T, la secreción de citoquinas proinflamatorias, la formación de mielina, el crecimiento neurítico y la supervivencia neuronal (Raposo & Stoorvogel, 2013).

Determinadas células del sistema nervioso, como las neuronas, oligodendrocitos, astrocitos, microglía y células de Schwann, liberan VE que permiten su comunicación. Las VE liberadas por estas células participan en la formación de mielina y en la supervivencia celular. Las VE están involucradas en el mantenimiento de la homeostasis y la transmisión de la información en el Sistema Nervioso (SN) y en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Upadhyya et al., 2020). Esto implica que fallos o déficits en la síntesis o señalización de VE impidan el desarrollo normal del SN pudiendo incluso agravar la progresión de enfermedades como el autismo, la epilepsia, la esquizofrenia (Suresh Mathivanan et al., 2021), el síndrome de Huntington, la esclerosis múltiple, derrames cerebrales, lesiones medulares y traumatismos (Xiao et al., 2021)

Por otro lado, las VE intervienen en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson o de Alzheimer (Xiao et al., 2021), ya que la liberación de VE puede resultar patológica cuando transportan proteínas como la beta amiloide o la alfa sinucleína, relacionadas con el Alzheimer y el Parkinson respectivamente (Suresh Mathivanan et al., 2021). Este trabajo de revisión bibliográfica se centra en el papel que ejercen las VE durante la progresión del Alzheimer.

Además, las VE no sólo intervienen en los procesos patológicos de las enfermedades del SN, sino que también se les atribuyen propiedades neuroprotectoras que serán tratadas más adelante.

4. OBJETIVOS

En los últimos años ha aumentado exponencialmente el interés por las VE entre la comunidad científica. Se están estudiando sus papeles fisiológicos y también su relación con patologías que afectan al ser humano, entre ellas, las enfermedades neurodegenerativas. Es por ello, que el objetivo general del presente trabajo ha sido realizar un estudio bibliográfico sobre el papel de las VE en la progresión o desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas, en concreto en la enfermedad de Alzheimer. Como objetivos específicos, se han planteado los siguientes:

1. Describir los tipos de VE, su biogénesis, su liberación y fusión con células receptoras.
2. Describir el papel y las funciones que desempeñan las VE en el Sistema Nervioso y en las enfermedades neurodegenerativas.
3. Describir la participación de las VE en la propagación de las proteínas tau y A β .
4. Describir el rol de las VE liberadas por los astrocitos en la progresión del Alzheimer.
5. Describir el papel neuroprotector que desempeñan las VE en el Sistema Nervioso, especialmente en el caso de la enfermedad de Alzheimer.

5. MÉTODOS

La búsqueda bibliográfica se ha realizado en las bases de datos de Pubmed, Google Académico y el punto Q de la Universidad de La Laguna. Se han utilizado las siguientes palabras clave: 'extracellular vesicles and neurodegenerative diseases', 'role of extracellular vesicles in Alzheimer disease', 'astrocyte-derived extracellular vesicles', 'APP metabolism in Alzheimer', 'autophagy and extracellular vesicles'. Se restringió la búsqueda de información sobre vesículas extracelulares y Alzheimer a artículos y revisiones publicadas entre el año 2015 y la actualidad. La búsqueda de información sobre generalidades de las vesículas extracelulares y de patología general del Alzheimer se acotó al año 2002.

6. GENERALIDADES DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES

6.1 Tipos de vesículas extracelulares y su biogénesis

Su clasificación presenta un gran reto debido a que las diferencias morfológicas y de composición no permiten realizar una distinción precisa, por eso generalmente se basa en el tamaño de cada una de estas vesículas y en su biogénesis (Raposo & Stoorvogel, 2013). Podemos clasificarlas en: exosomas, microvesículas o ectosomas y cuerpos apoptóticos. Recientemente, se han incluido nuevos tipos: migrasomas, oncosomas y exómeros (Suresh Mathivanan et al., 2021). En un intento de estandarizar la clasificación, la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV) ha publicado una guía en la que propone una nomenclatura basada en sus propiedades fisicoquímicas y el origen celular (Hill, 2019).

Los tipos anteriormente nombrados pueden agruparse en dos grandes clases, las VE pequeñas formadas por: exómeros (<50 nm), exosomas (50-150 nm) y ectosomas (100-1.000 nm), y las VE grandes formadas por migrasomas (500-3.000 nm), cuerpos apoptóticos (1.000-5.000 nm) y grandes oncosomas (1.000-10.000 nm) (Suresh Mathivanan et al., 2021).

Los exómeros son nanopartículas que carecen de bicapa lipídica, se componen de precursores proteicos y proteínas reguladoras de vías metabólicas, además también contienen lípidos y ácidos nucleicos. (Suresh Mathivanan et al., 2021).

Los exosomas son pequeñas vesículas con diversas funciones como la clasificación, el transporte (You & Ikezu, 2019) y el reciclaje de diferentes biomoléculas (proteínas citosólicas, lípidos, ARN, polisacáridos y glicanos) (Yuan et al., 2021). Son capaces de regular el crecimiento y desarrollo celular, facilitar la comunicación intercelular, modular la presentación de antígenos y la respuesta inflamatoria, también se los relaciona con promover génesis tumoral (You & Ikezu, 2019). Su biogénesis se realiza por la vía endosomal (You & Ikezu, 2019). El endosoma temprano acumula su contenido o lo recicla a la membrana plasmática, a su vez comienzan a formarse las primeras vesículas intraluminales (ILVs) (Fig.1). Las ILVs se forman gracias a la actuación de la esfingomielinasa, esta enzima es una fosfodiesterasa capaz de hidrolizar la esfingomielina de la membrana lipídica de endosomas a ceramida, esto induce la formación de microdominios en la membrana que promueven la invaginación de la membrana, formando las ILVs (You & Ikezu, 2019). Tras la formación de

ILVs, empieza la maduración a endosoma tardío, durante la cual ocurren una serie de cambios necesarios para asegurar que cuando se fusione con los lisosomas su contenido sea el que ha de degradarse y, además, se forman más ILVs (Huotari & Helenius, 2011). Estos endosomas con ILVs se denominan cuerpos multivesiculares (MVB). Los MVBs pueden seguir la vía lisosomal que finaliza con la degradación o pueden fusionarse con la membrana plasmática dando lugar a la liberación extracelular de las ILVs originando a los exosomas (You & Ikezu, 2019). Cabe destacar la importancia del complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte (ESCRT) el cual participa en la biogénesis de los MVBs (Henne et al., 2011), y además determina el destino final del contenido de los MVBs (Minciacchi et al., 2015). Debido a este origen de los exosomas, su contenido está enriquecido con componentes de los endosomas (You & Ikezu, 2019).

Las microvesículas (MV) o ectosomas a diferencia de las anteriores son liberadas al espacio extracelular directamente por evaginación de la membrana plasmática (Fig.1) (Raposo & Stoorvogel, 2013). Para que esta evaginación ocurra han de producirse determinados cambios lipídicos y proteicos en los lugares de origen de MVs de la membrana. Su contenido es muy similar al de los exosomas, aunque también contienen componentes del citoesqueleto (Suresh Mathivanan et al., 2021). El proceso mediante el cual las MV se liberan de las células depende del citoesqueleto y, por ende, de sus componentes: los microtúbulos, los filamentos de actina, y proteínas motoras como las miosinas y quinesinas (Raposo & Stoorvogel, 2013). Otro tipo de VE son los migrasomas, formados durante la migración celular. Este proceso consiste en una protrusión y adhesión del borde anterior celular seguidas de una contracción y desprendimiento del borde posterior de la célula. En este borde posterior se encuentran las fibras de retracción, es en estas fibras donde ocurre un desprendimiento de la membrana plasmática que da lugar a los migrasomas (da Rocha-Azevedo & Schmid, 2015).

El otro gran grupo de VE son los cuerpos apoptóticos, liberados por células en apoptosis (Suresh Mathivanan et al., 2021) mediante evaginación directa de la membrana plasmática (Fig.1) (You & Ikezu, 2019). El proceso apoptótico es imprescindible para mantener la homeostasis celular, y es en la fase final de éste, durante el desmantelamiento de la célula cuando se liberan estos cuerpos que contienen sustancias de desecho (Suresh Mathivanan et al., 2021). El destino de este tipo de VE son las células fagocíticas encargadas de digerirlos,

por lo que en este caso no intervienen en la comunicación entre células como el resto de VE (You & Ikezu, 2019).

Los oncosomas son vesículas de un tamaño 1.000 veces mayor al de los exosomas. Se forman por evaginación directa de la membrana plasmática de células cancerosas (Fig. 1), su contenido es específico del tipo de cáncer que producen las células de las que se originan. En muchas ocasiones este material puede alterar la homeostasis del ambiente que rodea al tumor (Minciacchi et al., 2015).

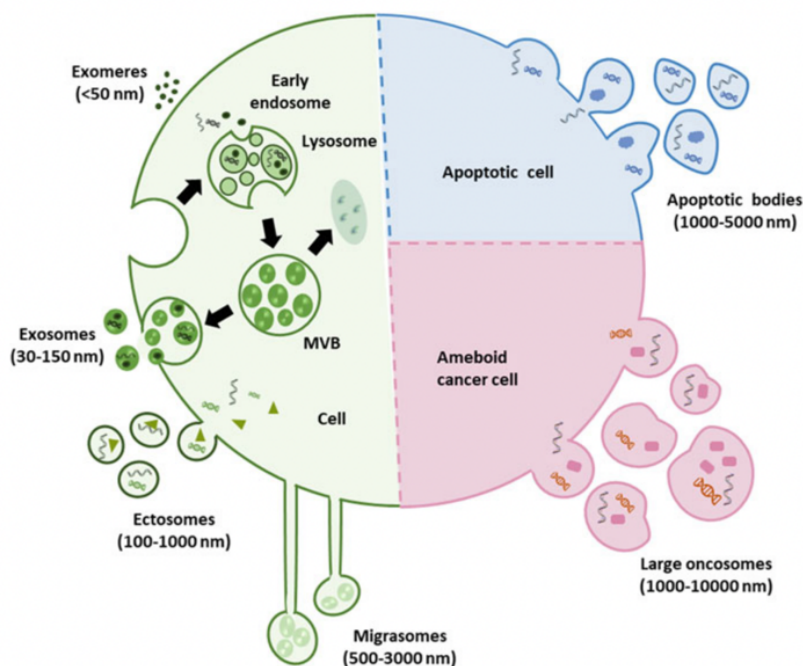


Figura 1. Representación de la biogénesis y secreción de los diferentes tipos de VE (Suresh Mathivanan et al., 2021).

6.2 Liberación de las vesículas extracelulares y captación por las celulares receptoras

La liberación de VE al espacio extracelular puede ocurrir en diferentes escenarios y requiere de la participación del citoesqueleto, de proteínas motoras y de activadores de las proteínas motoras. Por otro lado, diversas proteínas y moléculas participan en la posterior fusión o captación de las VE por la membrana plasmática de la célula receptora. Para que se dé la liberación de VE intervienen componentes lipídicos de las membranas de las VE como el gangliósido GM1 y las balsas lipídicas (Takeuchi, 2021). Diversos tipos de estímulos pueden inducir la liberación de VE, dependiendo de la célula que las origine. La activación de receptores purinérgicos en células endoteliales, la activación de las células dendríticas en

respuesta a lipopolisacáridos, por activación de la maquinaria de liberación mediada por lipopolisacáridos, la activación de células T, las despolarizaciones de la membrana plasmática en neuronas, son algunos ejemplos de estímulos que promueven la liberación de VE (Raposo & Stoorvogel, 2013). Tras liberarse al espacio extracelular, las VE se dirigen a células receptoras donde su contenido puede mediar diferentes procesos tanto fisiológicos como patológicos (You & Ikezu, 2019).

Esta unión de VE con sus respectivas células receptoras la realizan mediante interacciones específicas. Para ello, intervienen diferentes moléculas de adhesión de las VE como las integrinas, las tetraspaninas, las citoquinas y determinados lípidos de la superficie de las VE que se unen a sus receptores ubicados en las membranas de las células diana. Esta interacción entre VE y membrana de células receptoras se da de dos maneras: mediante la unión a receptores específicos en la superficie de la célula aceptora (Fig.2) (Fuller et al., 2020).

Tras la unión con las células receptoras, las VE pueden permanecer asociadas a la membrana, pueden dissociarse de la membrana, fusionarse directamente o pueden internalizarse mediante endocitosis (Fig.2) (Raposo & Stoorvogel, 2013), macropinocitosis o fagocitosis (Upadhyya et al., 2020). Las VE internalizadas pueden fusionarse con la membrana endosomal y liberar su contenido al citoplasma o pueden fusionarse directamente con los lisosomas (Fuller et al., 2020).

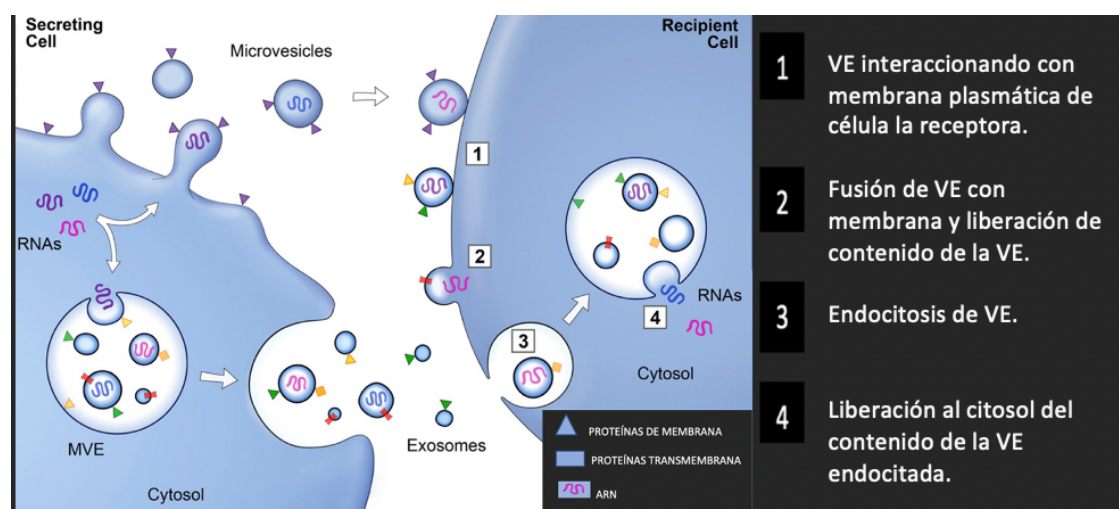


Figura 2. Esquema de la transferencia de proteínas y ARN mediada por VE. Modificado de (Raposo & Stoorvogel, 2013).

7. EL PAPEL DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Las VE liberadas por células del sistema nervioso intervienen en el mantenimiento de la homeostasis cerebral y en la transmisión de información entre células del tejido nervioso y de la periferia. Entre ellas están ciertas células de la glía y las propias neuronas (Upadhy et al., 2020).

Centrándonos en el papel de intercambio de información que realizan las VE en el SNC, las VE participan en cinco procesos relevantes para el SNC: el comportamiento sensorial, la comunicación sináptica, la regeneración de los nervios, la neurodegeneración y en el desarrollo de tumores cerebrales (Rajendran et al., 2014).

Estudios recientes han mostrado que ciertos neurotransmisores pueden desencadenar una transferencia de información a través de VE desde los oligodendrocitos a las neuronas, el contenido de estas VE es principalmente enzimático y tiene diversas funciones metabólicas neuroprotectoras (Rajendran et al., 2014). Las responsables de este papel neuroprotector son las proteínas proteolípicas, las proteínas mielínicas y otras proteínas asociadas a la protección frente al estrés oxidativo que se encuentran en las VE liberadas por oligodendrocitos (Budnik et al., 2016). Respecto a la regeneración se ha demostrado que determinadas células del SNC liberan VE con ARN y proteínas. Un ejemplo son las VE liberadas por células de Schwann durante el desarrollo y la regeneración nerviosa que son ricas en el factor receptor de neurotrofina 75 en respuesta a daño en el tejido nervioso (Budnik et al., 2016). A cerca de la participación de las VE en los tumores cerebrales, se ha observado que las células de estos tumores liberan grandes cantidades de VE de todos los tipos que cuando son internalizadas por diferentes tipos de células sanas localizadas cerca del tumor, producen cambios fenotípicos en estas que favorecen el crecimiento del tumor (Rajendran et al., 2014). Un ejemplo de transmisión selectiva de información en el SNC es por medio de VE ricas en CD36, sus células receptoras son tanto las neuronas como las células gliales, en cambio, si carecen de CD36 sólo se unen a neuronas selectivamente (You & Ikezu, 2019).

Por otro lado, VE liberadas por células localizadas en diferentes órganos corporales son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica actuando en el SNC (Yuan et al., 2021). Por

ejemplo, se han hallado VE de origen sanguíneo con marcadores específicos para neuronas y células de la glía (You & Ikezu, 2019).

8. LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas son aquellas caracterizadas por una pérdida celular progresiva en el Sistema Nervioso (SN). Según la Organización Mundial de la Salud, serán la segunda causa de muerte dentro de 20 años. Además, presentan un reto para la comunidad científica porque aún no se han desarrollado terapias que puedan curar o frenar exitosamente su avance (Xiao et al., 2021). La causa principal de algunas de estas patologías es la acumulación en el tejido nervioso de determinadas proteínas que presentan un error en su plegamiento (Hill, 2019), lo cual deriva en una degeneración cerebral progresiva.

La liberación de VE está relacionada con estas enfermedades porque participan en la transmisión intercelular de proteínas de agregación y favorecen su acumulación (Takeuchi, 2021). Por otro lado, también intervienen en la prevención de la agregación de dichas proteínas e incluso ejercen un papel neuroprotector, es decir, tienen acciones opuestas ya que pueden agravar o mejorar la patología (Xiao et al., 2021).

En el Parkinson, la neurodegeneración es debida a la destrucción gradual de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra cerebral. Una de las hipótesis de las causas del Parkinson es la destrucción de las neuronas debida a la acumulación de alfa sinucleína (Suresh Mathivanan et al., 2021). Dicha proteína se ha encontrado en VE liberadas por neuronas, dando lugar a la transferencia en VE de alfa sinucleína entre neuronas y a células no neuronales como la microglía y los astrocitos (Yuan et al., 2021).

En el caso del Alzheimer, las responsables de este depósito de proteínas mal plegadas son las proteínas tau y beta-amiloide ($A\beta$), que al acumularse dan lugar a ovillos neurofibrilares dentro de las células y placas seniles extracelulares, respectivamente (Serrano-Pozo et al., 2002). Tanto la proteína tau como la $A\beta$ pueden ser liberadas y transmitidas intercelularmente por VE (Takeuchi, 2021). Su transmisión en el interior celular es similar a la que ocurre en enfermedades priónicas, pues una vez se internalizan las proteínas anómalas se comportan como los priones, alterando las conformaciones de proteínas bien plegadas

(You & Ikezu, 2019). Las VE también participan en la formación de estos agregados (Rajendran et al., 2014), los cuales causan daño induciendo procesos de reducción-oxidación, apoptóticos, citotoxicidad e inhibición de proteínas transportadoras de lípidos, dando lugar por último a efectos negativos en la memoria y otras facultades cognitivas (Fuller et al., 2020). Por otro lado, la interacción entre tau y A β da lugar a la activación de la microglía mediante los receptores CD36 y TLR4/6. Esto induce la liberación de citoquinas promoviendo neuroinflamación y reduciendo la integridad de la barrera hematoencefálica, debido a la alteración de las uniones entre células de dicha barrera (Fuller et al., 2020). Las VE liberadas por la microglía contienen IL-1 β (interleucina-1 β) que también participan en esa respuesta inflamatoria. En cambio, también se ha demostrado el papel de las VE en la mejoría de la enfermedad, por lo que podemos afirmar que las vesículas extracelulares tienen un doble papel en la progresión del Alzheimer (You & Ikezu, 2019).

9. EL PAPEL DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por un deterioro cognitivo y funcional unido a cambios en el carácter y los patrones de conducta. Hoy en día, es la enfermedad neurodegenerativa más prevalente y la mayor causa de demencia en el mundo (Suresh Mathivanan et al., 2021). La edad es el principal factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad (Fuller et al., 2020).

La causa molecular del Alzheimer es la inestabilidad estructural de las proteínas tau y A β , que pueden plegarse erróneamente formando agregados proteicos insolubles. Estos agregados no se acumulan uniformemente en el tejido nervioso, sino en determinadas regiones desde las que se propagan gradualmente al resto del cerebro (Takeuchi, 2021).

Se ha encontrado tanto tau como A β contenidas en VE en células receptoras de VE en experimentos *in vivo* e *in vitro*, por lo que podemos considerar a las VE como potenciales vehículos para la propagación de proteínas relacionadas con el Alzheimer (Vandendriessche et al., 2020).

A β se forma como producto del metabolismo de la proteína precursora amiloide (APP), obteniendo como resultado la proteína A β con 28 dominios extracelulares y entre 11 y 14 dominios transmembrana. Existen dos vías metabólicas de la APP, la no amiloidogénica y la amiloidogénica que es la predominante en la enfermedad de Alzheimer (Fernández et al., 2018). Respecto a las VE, estas sirven como una plataforma que favorece el procesamiento amiloidogénico de la APP, y, además, extracelularmente las VE intervienen en la transmisión de factores amiloidogénico en el cerebro (Rajendran et al., 2014).

A pesar de que APP ha sido motivo de gran interés en la comunidad científica, aún no se ha identificado su función fisiológica, pero se la relaciona con el crecimiento de las neuritas, la sinaptogénesis, el tráfico de proteínas neuronales en el axón, la transducción de señales en la membrana y la adhesión celular (Zhang et al., 2011).

El metabolismo de la APP comienza con la síntesis de la APP en el retículo endoplasmático para ser transportada a la membrana plasmática a través del aparato de Golgi. En la vía metabólica no amiloidogénica actúa la α -secretasa escindiendo rápidamente la APP y dividiéndola en dos fragmentos iguales (Fig.3). A continuación, la γ -secretasa separa el segmento transmembrana obteniendo fragmentos solubles de A β no patogénicos. Tras esto, A β es internalizada y sigue la vía endosomal hasta fusionarse los lisosomas, lo que resulta en su degradación. En cambio, en la otra vía, la amiloidogénica, actúa predominantemente la enzima β -secretasa en el interior de los endosomas, cuyo pH ácido es óptimo para la actividad de la enzima y seguidamente, interviene α -secretasa (Fig.3). El producto de estas reacciones es una proteína A β insoluble que en el interior celular es degradada por la neprilisina, una endopeptidasa, pero cuando es liberada en VE o a través de la red post-Golgi al exterior celular como A β es insoluble da lugar a oligómeros de A β (A β _o) que se acumulan formando las placas seniles, y estas presentan el efecto neurotóxico característico de la enfermedad de Alzheimer (Vandendriessche et al., 2020). Como la APP se encuentra en los pasos previos a la formación de las VE, podemos afirmar que los A β _o no se internalizan directamente en las VE, sino que lo hacen durante la formación de las VE (Takeuchi, 2021).

La A β resultante de la vía amiloidogénica, es decir, la asociada con la patología de la enfermedad es la A $\beta_{1-38/40/42}$, en cambio la A $\beta_{17-40/42}$ es el principal producto de la vía no amiloidogénica. A β_{1-42} es hidrofóbica y su agregación priónica es el mayor constituyente de las placas amiloides, su tamaño depende de la actuación de la enzima γ -secretasa (Vandendriessche et al., 2020). Experimentos en los que se obtuvieron VE de pacientes con Alzheimer y se transfirieron a cerebros de ratones, concluyeron que A β_{1-42} se encuentra notablemente enriquecida en las VE de personas que padecen Alzheimer (Ruan et al., 2021).

Por otra parte, cabe destacar que la APP impide el funcionamiento de la mitocondria en conjunto con la proteína p53 lo que da lugar a un aumento de los niveles de especies reactivas de oxígeno, por lo que, altas concentraciones de APP son neurotóxicas sin necesidad del procesamiento de la APP que culmina en A β (Watson et al., 2019).

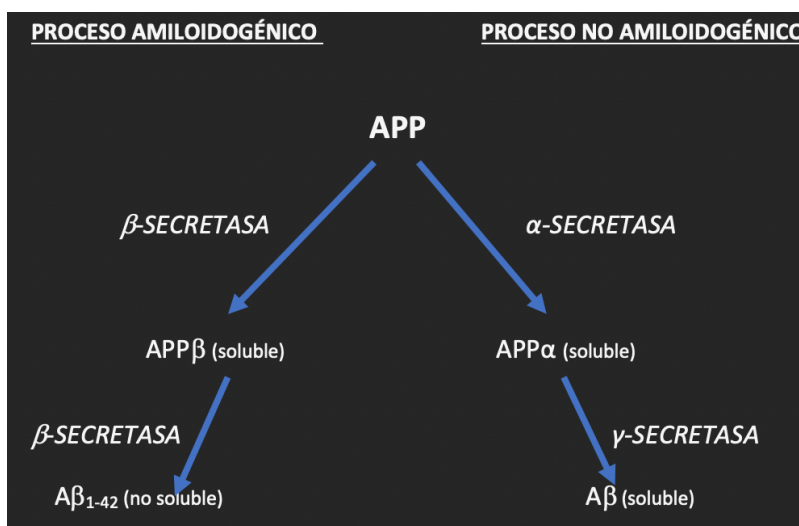


Fig. 3 Tipos de procesamiento de la APP: amiloidogénico y no amiloidogénico, y sus productos.

La otra proteína asociada a esta patología es la tau, sus dos funciones principales son la estabilización de microtúbulos en las prolongaciones neuronales y la facilitación del transporte axonal. En cambio, su disfunción se relaciona con la acumulación intracelular de tau cuya consecuencia es la degeneración neurofibrilar (DNF), dicha disfunción se da debido a una hiperfosforilación anormal de tau que tiende a producir agregados de la proteína (Fernández et al., 2018). Para que tenga lugar una sinapsis neuronal es imprescindible la elongación de los microtúbulos en la cual participa la proteína tau (Watson et al., 2019), por

lo que anomalías en esta proteína resultarán en disfunción sináptica. Otra característica de esta patología es la formación de ovillos neurofibrilares formados por filamentos helicoidales pareados de la proteína tau hiperfosforilada (Fuller et al., 2020). Durante el desarrollo de los estadios tempranos de Alzheimer, los niveles de tau fosforilada aumentan significativamente (Takeuchi, 2021).

La proteína tau tiende a agregarse cuando está hiperfosforilada formando estos ovillos y es esta fosforilación anormal la responsable de que no pueda cumplir sus funciones (Fuller et al., 2020). La agregación de la conformación anormal de tau tiene repercusiones negativas a nivel celular como la interrupción de determinadas vías de señalización y efectos neurotóxicos (Fuller et al., 2020). Por otro lado, los ovillos neurofibrilares favorecen la hipertrofia cerebral derivada de la enfermedad de Alzheimer (Ruan et al., 2021) .

La tau anormalmente plegada y fosforilada aparece en una parte determinada de la corteza cerebral (en la entorrinal) y se va extendiendo de forma jerárquica al hipocampo y a la corteza neocortical. Al igual que A β , su forma de propagación es similar a la de los priones, la proteína tau erróneamente plegada internalizada en las células induce el mal plegamiento de la tau intracelular y esta tau se libera alimentando el ciclo de transmisión de tau anómala entre células (Ruan et al., 2021).

Los oligómeros de A β y tau dan lugar al desarrollo de la enfermedad ya que propician la disfunción sináptica y la muerte neuronal mediante diversas vías apoptóticas. Por otro lado, el estrés oxidativo es el mayor mecanismo patogénico, y también es el responsable de inducir la toxicidad de A β y la patología de tau (Fernández et al., 2018).

Las VE contribuyen a la patogénesis de Alzheimer ya que son transmisoras de las proteínas A β y tau (Takeuchi, 2021). Ejemplos de ello son las VE que contienen A β (Suresh Mathivanan et al., 2021) y tau, en este caso, se ha demostrado que la inhibición con fármacos de la generación de VE reduce la propagación de la proteína tau (Ruan et al., 2021). En los siguientes apartados se profundizará en cómo intervienen las VE en la progresión del Alzheimer.

10. LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA PROTEÍNA BETA-AMILOIDE

Las VE intervienen en la transferencia de A β y por lo tanto en la progresión del Alzheimer porque liberan proteínas y péptidos precursores de la APP (Yuan et al., 2021) que, tras procesarse, dan lugar a A β o insolubles que participan en la patogenicidad de la enfermedad (Vandendriessche et al., 2020).

La APP llega a las VE a través de los cuerpos multivesiculares cuando no actúa el ESCRT, dando lugar a la acumulación de APP en endosomas que se deforman y agrandan. A su vez, también disminuye la transferencia de la APP a los lisosomas que se encargarían de degradarla, por lo que se acumula A β en el interior celular. En este momento ocurre el reclutamiento de ESCRT mediado por fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), al disminuir la concentración de PIP3 debido a que está siendo utilizado para reclutar el ESCRT, disminuye el procesamiento de APP en los lisosomas lo que conlleva a una acumulación intracelular de A β y su secreción a través de las VE. En resumen, la acumulación de A β intracelular debida a un mayor tiempo de procesamiento de la APP en los MVB, propicia las condiciones idóneas para que se dé el procesamiento amiloidogénico asociado con el desarrollo del Alzheimer y la liberación de VE con A β (Vandendriessche et al., 2020).

Los MVBs son los compartimentos celulares donde ocurre la generación, agregación y acumulación de los péptidos de la proteína A β . Intervienen en el paso final de la proteólisis de la APP dando lugar a la liberación de A β . Este paso está mediado por la enzima γ -secretasa que está compuesta por 4 subunidades de presenilina que van a determinar el destino de los péptidos de A β , ya que participan en la localización de γ -secretasa. En presencia de la presenilina 1 (PSEN1), γ -secretasa se distribuye por toda la célula incluyendo la membrana plasmática, en cambio, ante PSEN2 la enzima se localiza en los endosomas tardíos, cuerpos multivesiculares y lisosomas, siendo responsable de la liberación de A β a través de VE (Vandendriessche et al., 2020).

Las VE con A β o liberan su contenido produciendo citotoxicidad o bien pueden transferirse a células receptoras. Una gran parte de las VE que son internalizadas por células receptoras pueden volver a ser liberadas recorriendo mayores distancias. Experimentos en los que se bloquea esta vía de propagación de VE disminuyen la transferencia entre neuronas de A β o y

por ende la neurotoxicidad relacionada con ella, reafirmando la hipótesis del transporte de A β o en VE (Vandendriessche et al., 2020).

Por otro lado, la relación entre las VE y las placas seniles de A β se ha comprobado mediante la detección, en dichas placas seniles, de cantidades abundantes de las proteínas alix y flotillina que son marcadores de VE (Takeuchi, 2021).

Experimentos en cerebros de modelos murinos de la enfermedad de Alzheimer a los que se les administran tratamientos que inhiben a la esfingomielinasa-2, enzima necesaria para la liberación de VE, han mostrado una mejoría de la progresión de la enfermedad (Takeuchi, 2021).

Cerebros humanos de pacientes con enfermedad de Alzheimer contienen A β o en MVBs y, además, se han encontrado los marcadores de VE citados anteriormente en las placas seniles. Resultados experimentales han mostrado que la liberación de A β contenida en VE da lugar a citotoxicidad en las neuronas, y que esa toxicidad suele ocurrir cuando las VE son liberadas por una neurona que las había captado previamente. Además, se concluyó que la captación de VE y la propagación de A β dependen de la GTPasa dinamina, convirtiéndola en una posible diana terapéutica. Por otro lado, demostraron que las VE que se internalizan en las células receptoras lo hacen con su contenido de A β intacto (Sardar Sinha et al., 2018).

Existen varias investigaciones realizadas en modelos *in vitro* que han comprobado que, la inducción de mutaciones genéticas del Alzheimer en PSEN1 mediante la exposición a tetraciclina durante 5 días de células *in vitro* provoca un aumento de APP y de A β ₁₋₄₂ en VE de origen neuronal. Las células con estas mutaciones inducidas también mostraron una mayor cantidad de fragmentos C-terminales, estos fragmentos son un subproducto de APP tras la acción de la β -secretasa. En los experimentos también se ven aumentadas las cantidades de β -secretasa en VE liberadas. En suma, la inducción de mutaciones en PSEN1 en modelos *in vitro*, da lugar a un aumento de APP, A β ₁₋₄₂, fragmentos C-terminales y β -secretasa en VE de origen neuronal (Watson et al., 2019, Eitan et al., 2016).

11. LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA PROTEÍNA TAU

La proteína tau hiperfosforilada se libera predominantemente de forma libre, pero una porción de tau se libera por medio de VE (Ruan et al., 2021).

La liberación de tau en VE se da como un mecanismo de escape que presentan las células ante cantidades excesivas de tau intracelular. Las VE que contienen tau son capaces de mediar la propagación de tau (Ruan et al., 2021). Por otro lado, la proteína tau asociada a VE induce la agregación de tau *in vivo* y la propagación de tau *in vitro*, algo que la proteína tau por sí sola (desnuda) no es capaz de inducir (Vandendriessche et al., 2020).

De acuerdo con (Hill, 2019), la secreción de tau mediada por VE está asociada con la propagación de la proteína y como consecuencia de la enfermedad (Takeuchi, 2021), pues agregados patológicos de la célula donadora de VE inducen el mal plegamiento de sus homólogos en la célula receptora de ciertas VE (Vandendriessche et al., 2020). Además de este contacto directo entre neuronas que propagan tau a través de VE, también se da un transporte a larga distancia de la proteína patógena a través de las VE (You & Ikezu, 2019).

Respecto a la captación de tau hiperfosforilada, en el caso de que sea tau libre, su captación por parte de las neuronas depende de modificaciones conformacionales y postraduccionales de tau. En cambio, la captación de tau anómala por medio de las VE depende de las proteínas de membrana de las propias vesículas. Igualmente, el destino celular de las VE depende de estas proteínas de membrana. Por ello, consecuencias patológicas relacionadas con el Alzheimer, como la inflamación mediada por la glía, que son capaces de alterar estas proteínas de membrana de las VE, afectan a la captación de VE por parte de las neuronas, y esto tiene una consecuencia directa en la potencia de la propagación de tau (Ruan et al., 2021).

Las investigaciones de (Ruan et al., 2021) realizadas con VE procedentes de pacientes con Alzheimer en cerebros de ratones, avalan la existencia una cantidad significativamente mayor de oligómeros de tau en VE de enfermos con respecto a las VE del grupo control. Este grupo de investigación detectó que la proteína tau hiperfosforilada de las VE de pacientes de Alzheimer se encuentra en una forma globular insoluble, en cambio el oligómero de tau podía

encontrarse asociado a la membrana externa de las VE. Asimismo, confirman la liberación de VE por parte de neuronas y células gliales mediante la detección de moléculas de ambos tipos celulares en VE, destacando una mayor cantidad de moléculas provenientes de la glía en comparación con las neuronales. También afirman que las condiciones inflamatorias del cerebro inducidas por el Alzheimer aumentan la captación de VE en las neuronas y también la liberación de estas, aumentando la propagación de tau (Ruan et al., 2021).

Asimismo, otro trabajo destaca altos niveles de tau fosforilada en la treonina 181 en VE de origen neuronal en pacientes con Alzheimer en estadios avanzados. Esto implica que la alteración en la capacidad de eliminar tau₁₈₁ o el aumento de la patogenicidad de las VE se da en las fases avanzadas del Alzheimer, pues en pacientes con diagnóstico reciente de la enfermedad los niveles de tau₁₈₁ fueron menores (Watson et al., 2019).

Para finalizar, cabe añadir el papel de la microglía, ya que también interviene en la agregación y la transmisión de la proteína tau mediante VE (You & Ikezu, 2019). Pues, ante una disminución de la microglía el resultado es una disminución de la propagación patológica de la proteína tau (Takeuchi, 2021).

12. EL PAPEL DE LOS ASTROCITOS EN LA SECRECIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES RELACIONADAS CON EL ALZHEIMER

Los astrocitos pertenecen al grupo de las células gliales, su principal función es el mantenimiento de la estructura y función del SNC y de la barrera hematoencefálica (Upadhyya et al., 2020), participando también en el metabolismo neuronal (Rouillard et al., 2021). En coordinación con las neuronas, se encargan de la homeostasis del SNC mediante diferentes tipos de comunicación intercelular como el contacto directo entre células vecinas o la liberación de neurotransmisores y VE (Li et al., 2021). Los astrocitos también participan en la inmunodefensa del SNC cambiando su fenotipo a pro o antiinflamatorio y viceversa según precise el SNC (Upadhyya et al., 2020). Existen dos fenotipos el A1 relacionado con el aumento de la expresión de los genes de la cascada del complemento que son destructivos para la sinapsis, por lo que se consideran perjudiciales; por otro lado, encontramos el fenotipo inducido por isquemia, el A2, en el que aumenta la regulación de los factores neurotróficos

que promueven la supervivencia y el crecimiento neuronal, por lo que se consideran beneficiosos (Liddelow & Barres, 2017).

Igualmente, se les atribuye el papel de procesadores de información del SNC, ya que las células gliales intervienen en la regulación de la homeostasis iónica de las neuronas, también regulan los niveles de neurotransmisores en el espacio extracelular y son capaces de liberar moléculas neuroactivas denominadas gliotransmisores entre los que encontramos glutamato, D-serina y ATP (Ghézali et al., 2016). Para poder cumplir estas funciones, los astrocitos tienen una localización específica rodeando el soma, las dendritas, los axones y las sinapsis neuronales, integrándose así casi al completo en la red que conforma el SNC (Upadhyya et al., 2020, Rouillard et al., 2021).

En el caso de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, los astrocitos aumentan su actividad acelerando los procesos patológicos característicos de la enfermedad (Upadhyya et al., 2020). Esto se debe a que las placas seniles y los ovillos neurofibrilares son capaces de activar la microglía, la que a su vez activa a los astrocitos induciendo neuroinflamación y, en consecuencia, acelera la neurodegeneración característica de la enfermedad (Li et al., 2021). Los astrocitos son capaces de liberar VE, cuyo contenido puede tener propiedades tanto beneficiosas y o neuroprotectoras para el SNC, como tóxicas en caso de afecciones como el Alzheimer, aumentando la patogenicidad de la enfermedad (Upadhyya et al., 2020).

Experimentos realizados en personas con avanzada edad, muestran que las VE liberadas por astrocitos varían su contenido en función del contexto y del tipo de célula del que se trata. La selección de contenido de estas VE viene dado por diferentes señales que pueden ser de origen tanto extracelular como intracelular, como por ejemplo, la destrucción de neuronas próximas. Esto se traduce en que los astrocitos desarrollan un fenotipo proinflamatorio debido a que aumenta la regulación de genes asociados a la astrogliosis reactiva, común en casos de Alzheimer (Rouillard et al., 2021).

Un ejemplo de la liberación de VE por parte de astrocitos en la enfermedad del Alzheimer lo reflejan diversos estudios con protofibrillas de A β marcadas con moléculas fluorescentes que revelan cómo los astrocitos son capaces de captar y almacenar grandes cantidades de estas protofibrillas en cortos periodos de tiempo, lo cual da lugar a la liberación de VE con A β como

vía de eliminación de esta proteína anómala. Estudios más avanzados han analizado el contenido proteico de las VE liberadas por astrocitos de pacientes con Alzheimer, en los que se observa un aumento de hasta 3 veces de la apolipoproteína E (apoE) en comparación con las VE liberadas por personas sanas. Esta proteína está altamente relacionada con el Alzheimer puesto que el alelo E4 del gen apoE es uno de los factores genéticos más asociados con el Alzheimer (Li et al., 2021).

Durante los estadios tempranos del Alzheimer, los astrocitos captan una gran cantidad de agregados de A β , ya que una de sus funciones es el mantenimiento de la homeostasis cerebral, y, por tanto, actúan para equilibrar los niveles de A β . Esta captación de A β se mantiene durante largos periodos de tiempo sin que los agregados patogénicos se degraden. La acumulación de A β en el interior de los astrocitos, provoca perturbaciones en las vías de degradación endosomales y lisosomales, dando lugar a que los astrocitos liberen VE con agregados de A β_{1-42} al exterior celular causando neurotoxicidad en las células contiguas (Upadhy et al., 2020).

Por otro lado, en este aumento de la patogénesis mediado por VE también interviene la esfingomielinasa. Esta enzima participa en la liberación de VE por parte de los astrocitos mediando la activación de dicha liberación por parte de los péptidos de A β_{1-42} (Upadhy et al., 2020, Jana & Pahan, 2010).

Cabe mencionar el papel de las VE liberadas por astrocitos en los procesos neuroinflamatorios. En estos casos, los astrocitos que han captado VE con altos contenidos de A β tóxica y tienen una alta concentración de A β en el interior celular se activan cambiando su fenotipo al A1, y es este fenotipo el que altera el sistema del complemento y finalmente da lugar a neuroinflamación (Upadhy et al., 2020). Además, se ha observado que las VE liberadas por los astrocitos de fenotipo A1 intervienen en la disrupción de la membrana plasmática de las neuronas y en su muerte celular programada debido a que estas VE contienen altas concentraciones de proteínas del complemento que median la unión del complejo de ataque a la membrana plasmática neuronal (Vandendriessche et al., 2020).

13. LA AUTOFAGIA Y LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN EL ALZHEIMER

La autofagia es la estrategia celular responsable de regular el metabolismo degradando y reciclando constituyentes intracelulares como orgánulos y proteínas para su posterior reutilización. Paralelamente, las VE son un producto alternativo de la vía endosomal e interactúan con los procesos autofágicos (Watson et al., 2019).

La regulación de la autofagia depende de diversidad de factores, pero en este caso nos centraremos en la interacción entre dos de ellos: la insulina y la señalización del complejo mTOR (diana de rapamicina en células de mamífero).

mTOR es una proteína quinasa que regula diversos procesos celulares: el crecimiento, la proliferación, la movilidad, la supervivencia (desarrolla un importante papel en la vía fosfatidilinositol 3-quinasa), la transcripción de genes y la síntesis de proteínas en respuesta a hormonas, factores de crecimiento y nutrientes. mTOR puede formar dos complejos: mTORC1 y mTORC2, mTORC1 está formado por mTOR y otras proteínas y es inhibido por la rapamicina, se encarga de unificar señales de disponibilidad de factores de crecimiento, nutrientes y energía promoviendo procesos catabólicos ante situaciones de estrés. En cambio, mTORC2, formado por mTOR y otras proteínas, promueve la supervivencia celular (Zarogoulidis et al., 2014). En relación con la autofagia, recientemente se ha descubierto que ambos tipos de mTORC son inhibidores de esta (Ballesteros-Álvarez & Andersen, 2021).

Debido a su papel regulador, podemos considerar a mTOR clave en la autofagia y el envejecimiento celular, ya que promueve ambos procesos, la disfunción de la vía mTOR da lugar a acumulaciones proteicas y disfunción celular. Es por esto por lo que se ha relacionado a mTOR con la progresión del Alzheimer, debido a su participación en la acumulación proteica. La intervención en la acumulación de proteínas relacionadas con el Alzheimer se ha demostrado *in vitro* mediante la regulación negativa de mTOR, obteniendo como resultado un aumento en los niveles de proteína tau en el citosol, facilitación de la deposición de tau intracelular y, también, se ha observado que mTOR media la localización de tau en las VE. Por lo que, los procesos autofágicos en los que participa mTOR también evidencian que las VE intervienen en la progresión y propagación del Alzheimer (Watson et al., 2019).

Con lo que respecta a la proteína A β , la autofagia puede participar en el metabolismo de la APP y generar péptidos de A β . En experimentos en ratones en los que la autofagia se induce inhibiendo la vía mTOR, se observa que la γ -secretasa se transloca desde los compartimentos endosomales a los autofágicos, y la producción de A β se duplica con respecto a la de las células con la autofagia inhibida. Asimismo, en neuronas humanas sometidas a inanición de suero, que inhibe mTOR e induce la autofagia, los niveles de A β se triplican. Además, una parte de la A β generada durante procesos autofágicos se libera extracelularmente mediante VE, esto se debe al intercambio de contenido que presentan los autofagosomas con endosomas y MVBs (Nixon, 2007).

A su vez, mTOR participa en otro tipo de liberación de VE relacionada con el Alzheimer. En este caso se trata de la desregulación de los niveles de insulina en el SNC estrechamente relacionada con el Alzheimer. Esta desregulación de la insulina se caracteriza por una baja proporción entre el sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) fosforilado en tirosina y el IRS1 fosforilado en serina, el último está relacionado con el Alzheimer. El aumento de la cantidad de IRS1 fosforilado en serina, induce la autofagia por mTOR y la consecuente liberación de VE con tau y A β . Se ha observado que VE liberadas por neuronas de pacientes muestran mayor concentración de IRS1 fosforilado en serina 10 años antes de la manifestación clínica del Alzheimer, por lo que las proteínas de estas VE podrían utilizarse como biomarcadores de la enfermedad (Watson et al., 2019).

14. EL PAPEL DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA NEUROPROTECCIÓN

Además de su papel en la propagación de las proteínas anómalas que causan la enfermedad de Alzheimer, las VE pueden tener el rol opuesto ya que contribuyen a la neuroprotección mediante diversos mecanismos (You & Ikezu, 2019). Por ejemplo, las VE intervienen en la degradación de placas amiloides dando lugar a cambios en la transformación de A β tóxica en fibrillas amiloides que no presentan toxicidad. Los glicoesfingolípidos también participan en este proceso ya que la interacción entre estos y A β conduce al cambio conformacional de la última. Aunque el mecanismo por el que los glicoesfingolípidos de la membrana de las VE conducen al ensamblaje de A β aún está por elucidar, se conoce que la acumulación y

agrupación de estos glicosfingolípidos en microdominios de la membrana de VE puede servir como guía para el ensamblaje de A β no patológica (Yuyama et al., 2012).

Las VE participan en la eliminación de proteínas que se agregan y actúan de manera similar a los priones. Estudios realizados con reticulocitos de ovejas concluyen que estas células regulan negativamente el nivel intracelular del receptor de la transferrina mediante el transporte de este receptor al exterior celular en VE. Por lo que las VE están implicadas en la externalización del receptor de la transferrina y lo mismo ocurre con los receptores de otras proteínas patológicas como A β y tau, conformando así una vía de liberación de especies tóxicas. Aunque la base molecular de la selección y transporte de las proteínas exteriorizadas se desconoce. Este papel de externalización de proteínas, toma especial relevancia cuando existe algún tipo de fallo en la vía de degradación del lisosoma haciendo que la vía de degradación de proteínas anómalas a través de VE se intensifique. Además, experimentos en los que se inhibe por medio de fármacos en ratones, la liberación de VE, concluyen que esta privación aumenta la patología de la enfermedad. Avalando así la hipótesis de que la liberación de VE es clave en la eliminación extracelular de proteínas de agregación anómalas (Takeuchi, 2021).

Las VE contienen el factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF2), y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (Fig.4), los cuales intervienen en numerosas funciones biológicas y por lo tanto tienen efectos neuroprotectores. FGF-2 media la vía MAP quinasa (Fig.4), que se encarga de regular la expresión génica de la célula, la mitosis, la diferenciación y la supervivencia celular. Por otro lado, VEGF se encarga de promover la angiogénesis, neurogénesis, sinaptogénesis y la plasticidad sináptica (Fig.4) (Upadhyya et al., 2020).

Otro proceso en el que las VE median la neuroprotección, es la transmisión entre células de factores protectores a través de VE que evitan la formación de agregados proteicos patológicos, un ejemplo de esto es la transmisión de proteínas de choque térmico (HSP) (Fig.4) (Takeuchi, 2021). Se ha observado que durante la realización de ejercicio físico aumenta la liberación de VE de tamaño pequeño que son capaces de transmitir su contenido a tejidos receptores. La carga de estas VE difiere de las VE liberadas durante reposo, notablemente, en la concentración de proteínas que poseen características neuroprotectoras

como las HSP. Estas proteínas contribuyen a la neuroprotección cerebral ya que promueven la homeostasis y la supervivencia celular, además de evitar la agregación de proteínas plegadas erróneamente (Fig. 4). Concretamente, en la progresión de la enfermedad de Alzheimer las HSP son beneficiosas porque actúan sobre A β y tau. Inhiben la formación y agregación de A β con mecanismos que actúan sobre el procesamiento de APP y el proteasoma encargado de la degradación proteica (Fuller et al., 2020). En el caso de la proteína tau, las HSP reducen los niveles de tau hiperfosforilada mediante dos mecanismos: la degradación en el proteasoma y la desfosforilación (Fuller et al., 2020).

Las VE también están implicadas en mejoras de la función cognitiva y la neurogénesis en determinadas zonas de la corteza cerebral y en el hipocampo. Se ha comprobado que las VE tras la realización de ejercicio contienen una proteína mioquina relacionada con el ejercicio, la catepsina B (CTSB), que induce la acción del factor neurotrófico derivado del cerebro encargado de aportar plasticidad y mejorar las conexiones sinápticas. Asimismo, la CTSB activa los lisosomas para que puedan degradar proteínas anómalas, reduciendo así los niveles de A β (Fuller et al., 2020).

Las células de la glía tienen como función mantener la homeostasis cerebral y para ello participan en la transmisión de información, la regulación de la actividad sináptica, la biogénesis de las vainas de mielina, la neuroprotección, el crecimiento axonal y la reparación de las neuronas dañadas (Xiao et al., 2021). La microglía contribuye a la neuroprotección mediada por VE en el Alzheimer porque estas células liberan VE ricas en glicoesfingolípidos que capturan A β mediante proteínas de membrana como la proteína priónica celular o PrPC (Li et al., 2021; Xiao et al., 2021). Por otro lado, las VE liberadas por astrocitos ante condiciones derivadas de la enfermedad de Alzheimer poseen efectos neuroprotectores. Por ejemplo, es común en demencias como el Alzheimer que los centros reguladores de la temperatura no funcionen correctamente, y ante un aumento de temperatura pronunciado, los astrocitos liberan VE con proteínas HSP (Fig. 4) (Li et al., 2021), además, las VE de astrocitos también pueden contener apolipoproteína-D con efectos beneficiosos como el antienvjecimiento y la regulación de las placas seniles (Fig. 4) (Upadhyya et al., 2020). A su vez, otros estudios han determinado que los astrocitos pueden liberar VE ricas en microARN específicos con el fin de

inhibir la autofagia y evitar el daño cerebral producido cuando hay hipoxia o hipoglucemia, patologías relacionadas con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Li et al., 2021).

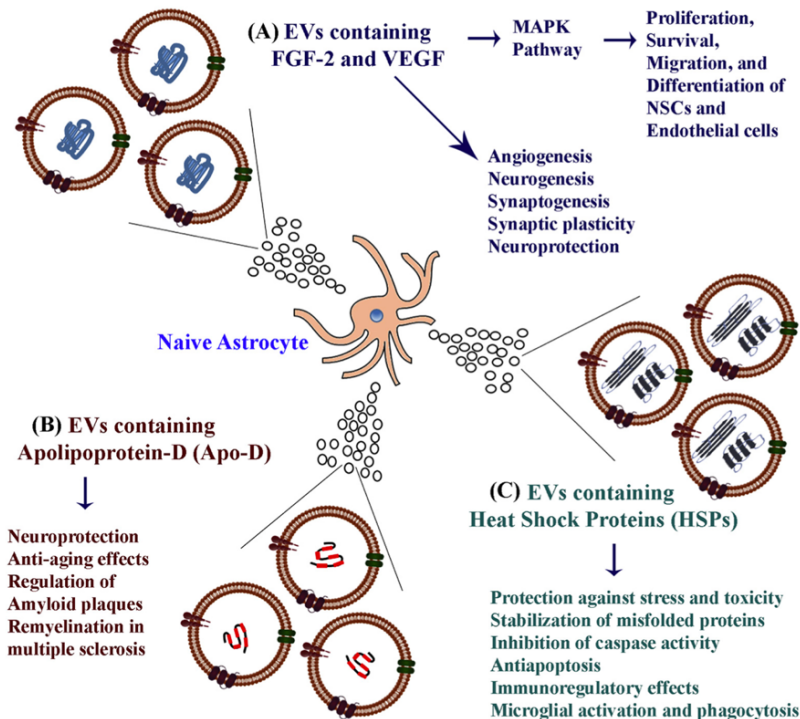


Fig. 4. Representación de las funciones en el SNC en las que intervienen las VE secretadas por astrocitos según su contenido (Upadhyay et al., 2020).

15. CONCLUSIONES

1. Las VE liberadas por neuronas de pacientes de Alzheimer intervienen en la propagación y acumulación de A β y tau.
2. Las VE de personas que padecen Alzheimer contienen mayor cantidad de A β y tau que las de personas sanas.
3. Las VE participan en la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares.
4. La proteína tau contenida en VE induce la agregación y transmisión de sí misma. Esto no ocurre cuando se libera sin estar contenida en una VE.
5. Los astrocitos liberan VE con efectos patológicos y neuroprotectores.
6. Los procesos autofágicos facilitan la deposición de tau intracelular y median la localización de tau en las VE.

7. Las VE pueden participar en la eliminación de material tóxico de una célula afectada, pero paradójicamente, las VE también pueden presentar efectos perjudiciales para la célula. Este papel dual, las convierte en armas de doble filo para las enfermedades neurodegenerativas.
8. El papel de las VE en la transmisión de proteínas patógenas hace que puedan utilizarse como dianas terapéuticas y biomarcadores.

16. CONCLUSIONS

1. EVs secreted by neurons of Alzheimer's Disease patients, mediate in the propagation and aggregation of A β and tau.
2. EVs from Alzheimer's patients contain higher amounts of A β and tau than EVs from healthy persons.
3. EVs are involved in the formation of senile plaques and neurofibrillary tangles.
4. Tau contained in EVs induces aggregation and transmission of itself. This does not occur when it is released but not inside an EV.
5. Astrocytes release EVs with both pathological and neuroprotective effects.
6. Autophagic processes facilitate intracellular tau deposition, and they also mediate tau localization in EVs.
7. EVs can participate in the clearance of toxic material in an affected cell, but EVs can also have damaging effects for the cell. This dual role makes them double-edged swords for the understanding of neurodegenerative diseases progression.
8. The role of EVs in the transfer of pathogenic proteins suggest that they may be used as therapeutic targets and biomarkers.

17. BIBLIOGRAFÍA

- Ballesteros-Álvarez, J., & Andersen, J. K. (2021). mTORC2: The other mTOR in autophagy regulation. In *Aging Cell* (Vol. 20, Issue 8). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/accel.13431>
- Budnik, V., Ruiz-Cañada, C., & Wendler, F. (2016). Extracellular vesicles round off communication in the nervous system. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 17, Issue 3, pp. 160–172). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.29>
- da Rocha-Azevedo, B., & Schmid, S. L. (2015). Migrasomes: A new organelle of migrating cells. In *Cell Research* (Vol. 25, Issue 1, pp. 1–2). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.146>
- Eitan, E., Hutchison, E. R., Marosi, K., Comotto, J., Mustapic, M., Nigam, S. M., Suire, C., Maharana, C., Jicha, G. A., Liu, D., Machairaki, V., Witwer, K. W., Kapogiannis, D., & Mattson, M. P. (2016). Extracellular vesicle-associated $\alpha\beta$ mediates trans-neuronal bioenergetic and ca^{2+} -handling deficits in alzheimer's disease models. *Npj Aging and Mechanisms of Disease*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.19>
- Fernández, M., Gramunt, N., & Blanco, E. (2018). *Neurología, Cap. 26*. <https://www.clinicalkey.com/student/content/book/3-s2.0-B978849113071000026X>
- Fuller, O. K., Whitham, M., Mathivanan, S., & Febbraio, M. A. (2020). The Protective Effect of Exercise in Neurodegenerative Diseases: The Potential Role of Extracellular Vesicles. In *Cells* (Vol. 9, Issue 10). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/cells9102182>
- Ghézali, G., Dallérac, G., & Rouach, N. (2016). Perisynaptic astroglial processes: dynamic processors of neuronal information. In *Brain Structure and Function* (Vol. 221, Issue 5, pp. 2427–2442). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1070-3>
- Henne, W. M., Buchkovich, N. J., & Emr, S. D. (2011). The ESCRT Pathway. In *Developmental Cell* (Vol. 21, Issue 1, pp. 77–91). <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.05.015>
- Hill, A. F. (2019). Extracellular vesicles and neurodegenerative diseases. In *Journal of Neuroscience* (Vol. 39, Issue 47, pp. 9269–9273). Society for Neuroscience. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0147-18.2019>
- Huotari, J., & Helenius, A. (2011). Endosome maturation. In *EMBO Journal* (Vol. 30, Issue 17, pp. 3481–3500). <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>
- Jana, A., & Pahan, K. (2010). Fibrillar amyloid- β -activated human astroglia kill primary human neurons via neutral sphingomyelinase: Implications for Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 30(38), 12676–12689. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1243-10.2010>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. In *Science* (Vol. 367, Issue 6478). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- Li, T., Tan, X., Li, S., Al-Nusaif, M., & Le, W. (2021). Role of Glia-Derived Extracellular Vesicles in Neurodegenerative Diseases. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.765395>
- Liddel, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. In *Immunity* (Vol. 46, Issue 6, pp. 957–967). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>
- Minciacchi, V. R., Freeman, M. R., & di Vizio, D. (2015). Extracellular Vesicles in Cancer: Exosomes, Microvesicles and the Emerging Role of Large Oncosomes. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 40, pp. 41–51). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.02.010>

- Nixon, R. A. (2007). Autophagy, amyloidogenesis and Alzheimer disease. In *Journal of Cell Science* (Vol. 120, Issue 23, pp. 4081–4091). <https://doi.org/10.1242/jcs.019265>
- Rajendran, L., Bali, J., Barr, M. M., Court, F. A., Krämer-Albers, E. M., Picou, F., Raposo, G., van der Vos, K. E., van Niel, G., & Breakefield, X. O. (2014). Emerging roles of extracellular vesicles in the nervous system. *Journal of Neuroscience*, *34*(46), 15482–15489. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3258-14.2014>
- Raposo, G., & Stoorvogel, W. (2013). Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 200, Issue 4, pp. 373–383). <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
- Rouillard, M. E., Sutter, P. A., Durham, O. R., Willis, C. M., & Crocker, S. J. (2021). Astrocyte-derived extracellular vesicles (ADEVs): Deciphering their influences in aging. In *Aging and Disease* (Vol. 12, Issue 6, pp. 1462–1475). International Society on Aging and Disease. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0608>
- Ruan, Z., Pathak, D., Venkatesan Kalavai, S., Yoshii-Kitahara, A., Muraoka, S., Bhatt, N., Takamatsu-Yukawa, K., Hu, J., Wang, Y., Hersh, S., Ericsson, M., Gorantla, S., Gendelman, H. E., Kaye, R., Ikezu, S., Luebke, J. I., & Ikezu, T. (2021). Alzheimer’s disease brain-derived extracellular vesicles spread tau pathology in interneurons. *Brain*, *144*(1), 288–309. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa376>
- Sardar Sinha, M., Ansell-Schultz, A., Civitelli, L., Hildesjö, C., Larsson, M., Lannfelt, L., Ingelsson, M., & Hallbeck, M. (2018). Alzheimer’s disease pathology propagation by exosomes containing toxic amyloid-beta oligomers. *Acta Neuropathologica*, *136*(1), 41–56. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1868-1>
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., & Hyman, B. T. (2002). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *1*(1). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006189>
- Suresh Mathivanan, Pamali Fonseka, Christina Nedeva, & Ishara Atukorala. (2021). *New Frontier: Extracellular Vesicles*.
- Takeuchi, T. (2021). Pathogenic and protective roles of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases. In *Journal of Biochemistry* (Vol. 169, Issue 2, pp. 181–186). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jb/mvaa131>
- Teng, F., & Fussenegger, M. (2021). Shedding Light on Extracellular Vesicle Biogenesis and Bioengineering. In *Advanced Science* (Vol. 8, Issue 1). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/advs.202003505>
- Upadhyay, R., Zingg, W., Shetty, S., & Shetty, A. K. (2020). Astrocyte-derived extracellular vesicles: Neuroreparative properties and role in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 323, pp. 225–239). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.04.017>
- Vandendriessche, C., Bruggeman, A., van Cauwenberghe, C., & Vandenbroucke, R. E. (2020). Extracellular Vesicles in Alzheimer’s and Parkinson’s Disease: Small Entities with Large Consequences. In *Cells* (Vol. 9, Issue 11). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/cells9112485>
- Watson, L. S., Hamlett, E. D., Stone, T. D., & Sims-Robinson, C. (2019). Neuronally derived extracellular vesicles: An emerging tool for understanding Alzheimer’s disease. In *Molecular Neurodegeneration* (Vol. 14, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0317-5>

- Xiao, Y., Wang, S. K., Zhang, Y., Rostami, A., Kenkare, A., Casella, G., Yuan, Z. Q., & Li, X. (2021). Role of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases. In *Progress in Neurobiology* (Vol. 201). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102022>
- You, Y., & Ikezu, T. (2019). Emerging roles of extracellular vesicles in neurodegenerative disorders. In *Neurobiology of Disease* (Vol. 130). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104512>
- Yuan, Q., Li, X. dong, Zhang, S. miao, Wang, H. wei, & Wang, Y. liang. (2021). Extracellular vesicles in neurodegenerative diseases: Insights and new perspectives. In *Genes and Diseases* (Vol. 8, Issue 2, pp. 124–132). Chongqing University. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.12.001>
- Yuyama, K., Sun, H., Mitsutake, S., & Igarashi, Y. (2012). Sphingolipid-modulated exosome secretion promotes clearance of amyloid- β by microglia. *Journal of Biological Chemistry*, 287(14), 10977–10989. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.324616>
- Zarogoulidis, P., Lampaki, S., Francis Turner, J., Huang, H., Kakolyris, S., Syrigos, K., & Zarogoulidis, K. (2014). mTOR pathway: A current, up-to-date mini-review. In *Oncology Letters* (Vol. 8, Issue 6, pp. 2367–2370). Spandidos Publications. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2608>
- Zhang, Y. W., Thompson, R., Zhang, H., & Xu, H. (2011). APP processing in Alzheimer's disease. In *Molecular Brain* (Vol. 4, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/1756-6606-4-3>