



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Carlos Carvajal Carvajal*

RESUMEN:

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa asociada con una disminución cognitiva y es la forma más común de demencia en los ancianos. Un gran número de factores se asocian con un riesgo aumentado de EA, no obstante, la edad representa, por mucho, el riesgo individual más grande en la etiología de la EA. La variante genética más fuerte para la EA típica de inicio tardío es la apolipoproteína E (APOE). Mutaciones raras en tres genes han sido implicadas en la enfermedad familiar de inicio temprano: APP, PSEN1 y PSEN2. Las placas amiloides extracelulares y los ovillos neurofibrilares intraneurales (NFT) son las dos lesiones características de esta enfermedad fatal. La proteína tau está involucrada en el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos. La fosforilación anormal de tau, una característica prominente del cerebro con EA, decrece su habilidad de unión a los microtúbulos, pudiendo desestabilizar los microtúbulos y causar daño celular. Un grupo heterogéneo de péptidos A β monoméricos de entre 37 a 43 aminoácidos se genera a partir de la proteína precursora amiloide transmembrana (APP) por el corte mediado por las secretasas β y γ . El monómero tiene una alta tendencia a autoagregarse formando agregados grandes y fibrillas. *In vivo* existe una sopa de oligómeros de A β consistiendo de una gran variedad de formas intercambiables rápidamente, que difieren en tamaño, conformación, desorden intrínseco y toxicidad. Evidencia creciente sugiere que las formas más dañinas de los péptidos del amiloide β son los oligómeros solubles y que los depósitos amorfos e insolubles o fibrilares representan una forma inactivada menos peligrosa del péptido. Varios mecanismos han sido propuestos para explicar las anomalías en la EA, incluyendo la toxicidad por A β , deficiencias del transporte axónico y el estrés oxidativo.

PALABRAS CLAVE:

Enfermedad de Alzheimer, placas amiloides, amiloide beta, proteína tau, desórdenes neurodegenerativos, estrés oxidativo.

* *Microbiólogo, especialista en Química Clínica. Laboratorio Clínico Hospital de Guápiles
Correo electrónico: carvajal313@yahoo.com*

Recibido para publicación 17/05/16

Aceptado 15/07/16



ABSTRACT:

Alzheimer disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease associated with cognitive decline and is the most common form of dementia in the elderly. A large number of factors has been associated with increased risk of AD, however, age represents, by far, the single greatest risk factor in the etiology of AD. The strongest common genetic variant for typical late-onset AD is apolipoprotein E (APOE). Rare mutations in three genes have been implicated in familial early-onset disease: APP, PSEN1, and PSEN2.

Extracellular amyloid plaques and intraneuronal neurofibrillary tangles (NFT) are two major hallmark lesions of this fatal pathology.

Tau protein is involved in microtubule assembly and stabilization. Abnormal phosphorylation of tau, a prominent feature of AD brain, decreases its microtubule binding ability, which may destabilize microtubules and results in cellular damage.

A heterogeneous pool of monomeric A β peptide varying in length from 37 to 43 amino acids is generated from the transmembrane amyloid precursor protein (APP) by β - and γ -secretase-mediated cleavage. The A β monomer has a high tendency to self-assemble into large aggregates and fibrils.

A diverse "A β oligomeric soup" exists, consisting of a large variety of rapidly exchangeable polymorphs that differ in size, conformation, intrinsic disorder, and toxicity.

Growing evidence suggests that the most detrimental forms of amyloid β peptides are the soluble oligomers and that the insoluble amorphous or fibrillar deposits represent a less harmful inactivated form of the peptide.

Several mechanisms have been proposed to account for abnormalities in AD, including A β toxicity, axonal transport deficiencies, and oxidative stress.

KEY WORDS:

Alzheimer disease, amyloid plaques, amyloid beta, tau protein, neurodegenerative disorders, oxidative stress.

INTRODUCCIÓN.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo descrito por primera vez por el psiquiatra alemán Alois Alzheimer en 1906 y es la causa más común de demencia senil en la población de la tercera edad y caracterizada funcionalmente por un declive progresivo de las funciones cognitivas, pérdida de la memoria y cambios en la personalidad^{1, 2}. La EA patológicamente se caracteriza por la pérdida de las sinapsis, la presencia de placas seniles extracelulares y agregados neurofibrilares intracelulares (NFT, del inglés "neurofibrillary tangles"), y también por una severa gliosis (proliferación y activación de la microglía y de los astrocitos) en la corteza cerebral y en el hipocampo³. Además de estas dos características se observa una deposición amiloide fibrilar en vasos cerebrales de pequeño y mediano tamaño. La disfunción vascular resultante de esta deposición amiloide en las paredes de los vasos cerebrales es considerada actualmente como un elemento activo en el mecanismo de neurodegeneración y un contribuyente principal a la patogénesis de la enfermedad⁽⁴⁾. En esta enfermedad también se observa un estrés oxidativo aumentado, respuestas inflamatorias amplificadas y una desregulación de la homeostasis del calcio².

La EA es la forma más común de demencia asociada a la edad. La incidencia anual estimada de esta enfermedad parece incrementarse exponencialmente con la edad, desde aproximadamente 53 nuevos casos por cada 1000 personas entre los 65 y los 74 años a 231 nuevos casos por 1000 personas a edades superiores a los 85 años⁵. Globalmente, el número de adultos mayores se incrementará dramáticamente, de 420 millones en el año 2000 a 973 millones en el 2030⁶. Tomando en cuenta que la edad avanzada es el principal factor de riesgo para la EA, no puede subestimarse el problema que esta enfermedad poseerá en términos de costo humano y financiero en las próximas décadas.



El propósito de este trabajo es estudiar la biología molecular de la enfermedad de Alzheimer mediante el estudio de sus dos principales componentes proteicos: la proteína Tau y el péptido A β . Además se estudiará secundariamente su epidemiología.

EPIDEMIOLOGÍA

Un gran número de factores se han asociado con un riesgo aumentado de padecer de la enfermedad de Alzheimer. Una historia de diabetes, hipertensión, fumado, obesidad y dislipidemia aumentan el riesgo de padecer esta enfermedad. La diabetes tipo 2 aumenta aproximadamente dos veces el riesgo. La dieta grasosa puede incrementar el nivel de colesterol y esto aumenta el riesgo de aterosclerosis, provocando un aumento del riesgo vascular cerebral⁷.

La edad representa el principal factor de riesgo para la EA y se considera que existe algún proceso asociado a la edad que está también involucrado en el desarrollo de esta enfermedad⁶. La incidencia de esta enfermedad aumenta con la edad y es cerca de 15% en individuos sobre los 65 años y casi de 50% en individuos mayores de 85 años⁸. Además, datos epidemiológicos muestran que la incidencia de EA se dobla cada 5 años a partir de los 65 años⁹. Otros factores que aumentan el riesgo incluyen un bajo nivel educativo, y una actividad física y mental reducida¹⁰.

Siguiendo a la edad avanzada, la historia familiar es el segundo factor de riesgo para EA¹¹.

Considerando la edad de inicio de los síntomas se considera que existen dos tipos de EA: la de inicio temprano (antes de los 65 años) y la inicio tardío (después de los 65 años). Menos del 5% de los pacientes con EA desarrollan los síntomas antes de los 65 años¹².

Las mutaciones en los genes APP, PSEN1 y PSEN2 están fuertemente implicadas en el EA de inicio temprano. Cabe destacar que la región de los residuos 21-23 del péptido A β se considera un "sitio caliente" para las mutaciones, debido al gran número de variantes genéticas reportadas en esta área de la molécula. Las mutaciones dentro de esta área típicamente muestran un fuerte compromiso vascular y se asocian primariamente con angiopatía amiloide cerebral, hemorragia cerebral y demencia⁴.

La enfermedad de Alzheimer de inicio temprano, es también la forma de EA llamada familiar¹³. Las mutaciones implicadas son heredadas en forma autosómica dominante y causan niveles aumentados del péptido A β ₄₂, con un inicio en la cuarta o quinta década de vida¹².

Las mutaciones en APP constituyen menos del 1%, por lo que las mutaciones de PSEN son cuantitativamente más importantes. No obstante, globalmente las mutaciones en cualquiera de estos tres genes apenas son responsables por solamente el 30 a 50% de los casos de EA de inicio temprano¹⁰.

El alelo ϵ 4 del gen APOE es el factor de riesgo genético más fuerte para la EA⁷.

ApoE es una lipoproteína de 299 aminoácidos, que presenta tres isoformas: ApoE2 (alelo ϵ 2), ApoE3 (alelo ϵ 3) y ApoE4 (alelo ϵ 4). La frecuencia alélica es de 8.4%, 77.9% y 13.7% respectivamente¹⁴.

ApoE regula la homeostasis lipídica mediante el transporte de lípidos entre células y tejidos. En el sistema nervioso central, ApoE es principalmente producido por los astrocitos y transporta colesterol a los neuronas mediante los receptores de ApoE¹⁵.

Youmans y colegas comparando ratones que expresaban un alelo diferente de la ApoE encontraron que los ratones expresando el alelo ϵ 4 (E4FAD) presentaban una acumulación acelerada de A β , mayores niveles totales de A β ₄₂ e incrementos selectivos de A β ₄₂ soluble y A β oligomérico comparado contra ratones que expresaban los otros alelos



(E2FAD y E3FAD)¹⁶. Además, las placas de los ratones E4FAD mostraban una mayor deposición de A β (placas más densas). Finalmente, estos mismos investigadores indican que las deficiencias inducidas por los oligómeros A β en la plasticidad sináptica y en la viabilidad neuronal es aumentada en la presencia de APOE4 comparado con APOE3 y APOE2.

ApoE es detectada mediante histoquímica en las placas seniles y en los NFT¹⁷. También se ha visto que la deposición de A β en la forma de placas seniles es más abundante en los portadores del alelo ϵ 4, comparados contra no portadores de este alelo¹⁸. Además, la carga de A β en las placas seniles es dependiente de la isoforma de APOE, sugiriendo un papel importante para la APOE modulando el metabolismo, la agregación y la deposición de A β ¹⁴.

El riesgo relativo de EA es diferente según se trate de un individuo con 1 o con 2 alelos ϵ 4 (dosaje genético), tanto para los casos familiares como para los esporádicos.

A pesar de la gran relación entre el alelo ϵ 4 de la ApoE, la posesión de este alelo no es condición necesaria ni suficiente para el desarrollo de la EA y su presencia tiene un escaso poder predictivo en individuos asintomáticos. En lugar de eso opera como un factor de riesgo para la EA, que disminuye la edad de inicio de la enfermedad en una manera dependiente de la dosis^{11, 17}.

PROTEÍNA TAU

El gene humano tau es codificado en el cromosoma 17 y en el cerebro humano existen seis isoformas moleculares debido a empalmes alternativos del pre-ARNm. Estas seis isoformas difieren por la presencia de tres o cuatro repeticiones de 32 aminoácidos en la mitad carboxilo terminal y por la presencia o ausencia de dos insertos de 29 residuos de aminoácidos cercanos al extremo N amino terminal, codificados por los exones 2 y 3¹⁹.

La proteína tau es expresada ampliamente en el sistema nervioso central y periférico, pero también está presente en riñones, pulmón y testículos. A nivel neuronal tau es más abundante en los axones, aunque también se le encuentra en los compartimentos somatodendríticos^{5, 20}.

A causa de sus propiedades hidrofílicas, tau existe como una proteína “intrínsecamente desordenada”, en una conformación extendida o desordenada. Esto significa que la cadena polipeptídica es altamente flexible y móvil y con un bajo contenido de estructuras secundarias (α -hélice, β -plegada, ó hélice II de poliprolina)²⁰.

La secuencia primaria revela que tau contiene tres dominios principales: una parte ácida N-terminal, una región central rica en prolina y un dominio C-terminal básico²¹.

El dominio C-terminal se une a los microtúbulos y promueve y estabiliza su ensamblaje. La unión a los microtúbulos ocurre a través de dominios repetidos, presentes en tau, (R1-R4) codificados por los exones 9-12. Cada repetición consta de un segmento conservado de 18 residuos de aminoácidos.

La región media, rica en prolina, es el blanco de muchas proteínas quinasas dirigidas por la prolina y contiene sitios de unión para proteínas con dominios SH3²⁰.

El dominio N-terminal, ácido, puede interactuar con las mitocondrias, con otros elementos del citoesqueleto o con la membrana plasmática²².

Tau es una proteína multifuncional, siendo su principal función promover y mantener la estructura de los microtúbulos (MT). Dicha proteína se une a los microtúbulos estabilizando esta estructura subcelular, a través de su dominio C-terminal. La unión a los MT es mediada a través de los dominios repetidos (R1-R4) codificados por los exones 9 a 12 y que son llamados también MTBR (del inglés, “microtubule binding repeat domain”)²¹. La proteína tau es una



fosfoproteína y su unión a los microtúbulos es mediada por la fosforilación de residuos de serina y treonina en sitios inmediatamente adyacentes a MTBR y también presentes dentro de dichas regiones²³.

Los MT son polímeros proteicos formados por dos subunidades, α y β tubulina, que forman parte del citoesqueleto y que participan en diversos procesos celulares tales como mitosis, estabilización de la forma celular y el transporte de sustancias y organelas dentro de la célula²⁰.

Tau puede sufrir una serie de modificaciones postraduccionales como nitración, ubiquitinización, truncación, glicación, oxidación, glicosilación, y poliaminación, las cuales parecen reducir la afinidad de unión de tau hacia los microtúbulos y pueden llevar a una acumulación intraneuronal de esta proteína^{21, 24}.

Fosforilación de tau

La principal modificación descrita de tau es su fosforilación. El estado de fosforilación de esta proteína depende del equilibrio entre las actividades de diferentes proteínas quinasas y fosfatasas.

Se citan una serie de quinasas capaces de fosforilar a tau: GSK-3 ("Glycogen synthase kinase-3"), Cdk5 ("Cyclin-dependent kinase 5"), JNK ("C-Jun amino-terminal kinase"), CK1 ("Casein Kinase 1"), Dyrk 1 ("Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1"), AMPK ("Adenosine-monophosphate activated protein kinase"), MARKs ("Microtubule-affinity regulating kinases"), PKA ("Cyclic AMP-dependent protein kinase") y TPXI y TPXII ("Tau protein kinase I y II"). E igualmente se citan una serie de protein fosfatasas capaces de desfosforilar a tau: PP2B (calcineurina), PP2A ("Protein phosphatase 2"), PP1 ("Protein phosphatase 1"), PP5 ("Protein phosphatase 5"), CacyBP/SIP y TNPAP²¹.

La unión de tau a los MT es regulada por modificaciones postraduccionales, especialmente por la fosforilación. Esta reacción puede neutralizar cargas positivas, alterar la conformación y desprender la unión tau-MT.

La unión normal de tau a los microtúbulos requiere de la fosforilación de serinas y treoninas en sitios adyacentes y dentro de los MTBR por una variedad de quinasas. No obstante, la hiperfosforilación de tau decrece reversiblemente la afinidad de tau por los MT. Los investigadores Mandelkow y Maldekow indican que los sitios de las interacciones tau-tau se traslapan significativamente con los sitios de interacción tau-MT, sugiriendo que los MT logran anular la capacidad de tau para originar fibrillas, quizá por estabilizar una conformación no-agregante²⁰.

Siguiendo esta línea de pensamiento la hiperfosforilación favorecería la transición a una conformación de tau pro-agregante.

El segundo factor esencial para el ensamblaje o agregación de tau es su propensión a formar estructuras secundarias β . Al respecto cabe señalar que tau forma parte de un grupo de proteínas que originan las enfermedades cerebrales amiloides y que tienen entre sus características una conformación rica en estructuras β ⁴. Otra miembro de este grupo es el péptido A β .

En las tautopatías, entre ellas la EA, tau está hiperfosforilada y presenta una conformación más plegada, que es más propensa a agregarse que la tau no fosforilada²⁵. La proteína tau hiperfosforilada es capaz de autoensamblarse o autoagregarse *in vitro*²³.

Se menciona que la fosforilación de la treonina en posición 231 (T231) es un evento temprano en la generación de ovillos, o agregados neurofibrilares, de tau. Además, esta misma fosforilación disminuye la afinidad de tau por los microtúbulos. En pruebas *in vitro* y utilizando células la enzima GSK-2 fosforila T231 y otros aminoácidos relevantes de tau²⁶. Los principales sitios de fosforilación identificados para esta enzima son Ser199, Thr231, Ser396 y Ser413⁵.



Otro sitio importante de fosforilación es la serina 262 y es fosforilado por MARK y también ocasiona una disminución de la afinidad por los microtúbulos^{5,2}.

Tau hiperfosforilado no se une a la tubulina, ni promueve el ensamblaje de los microtúbulos y más bien inhibe el ensamblaje y desestabiliza (desensambla) los microtúbulos²⁸. Además, tau hiperfosforilado secuestra las otras dos proteínas principales asociadas a los microtúbulos en las neuronas, MAP1A/B y MAP2²⁹.

Tau hiperfosforilado se autoagrega y polimeriza en estructuras cada vez mayores dando origen a los filamentos helicoidales pareados (PHFs, del inglés “paired helical filaments”) y a los filamentos rectos (SF, del inglés “straight filaments”) que forman los ovillos neurofibrilares (NFTs del inglés “neurofibrillary tangles”) intracelulares y característicos de la EA²⁸. La estructura secundaria de hélices β es la estructura predominante en los PHFs y en los NFTs²⁴. La proteína tau no hiperfosforilada tiene una estructura flexible, en contraste tau formando PHFs es una proteína insoluble y mal plegada y durante el proceso de formación de los NFTs progresivamente adquiere una conformación rígida⁵.

El modelo más simple para la generación de los NFTs es el ensamblaje directo a partir de monómeros de tau libre y/o oligómeros de tau en el citosol. La formación del agregado se inicia inmediatamente después de la disociación con los microtúbulos o por cambios conformacionales que ocurren en tau todavía unido a los microtúbulos. En efecto, se ha visto oligomerización de esta proteína en la superficie de los microtúbulos y esto puede generar oligómeros de tau, que se constituyen en lugares de nucleación para esta proteína hasta llevar a los NFTs²³.

Dentro de los NFTs, además de la presencia de tau como principal proteína, se encuentran otras moléculas: elementos del citoesqueleto (tropomiosina, vimentina, MAP2), elementos asociados a proteasas (ubiquitina, catepsinas, tripsina, elastasa), proteoglicanos (proteoglicano condroitín sulfato, proteoglicano keratín y heparán sulfato), moléculas proinflamatorias (citoquinas, moléculas del complemento y proteínas de fase aguda), moléculas relacionadas a la amiloidogénesis (APP, presenilinas y apolipoproteína E), moléculas asociadas al estrés oxidativo (productos finales de glicación avanzada y productos de la peroxidación lipídica)⁶.

Truncación de tau

La truncación es el corte proteolítico de tau, originado fragmentos. Esta proteína contiene sitios potenciales de corte accesibles a múltiples proteasas (caspasas, calpaína y PSA entre otras).

La presencia del extremo C-terminal tiene un efecto inhibitorio sobre la polimerización de tau completo y en modelos animales la truncación de dicho extremo es suficiente para causar la agregación de tau. *In vitro* la truncación del C-terminal acelera la formación de filamentos de tau³⁰.

Del mismo modo la truncación de tau, en el ácido aspártico 421 por una caspasa, vuelve al fragmento resultante más propenso a formar fibras que tau completo. La activación de la caspasa y el corte de tau preceden a la formación de fibrillas de tau²⁶.

La hiperfosforilación de tau precede tanto a los cambio conformacionales como al corte de esta proteína y la truncación puede volver a tau un sustrato más favorable para una fosforilación anormal²⁸.

PÉPTIDO A β .

El péptido A β se origina a partir del procesamiento proteolítico de la proteína A β PP (también conocida como APP) por la acción secuencial de dos enzimas: β - y γ -secretasas.



La APP es una proteína integral de membrana con un dominio extracelular N-terminal largo, un dominio intramembrana y una corta región C-terminal citoplásmica. La proteína puede sufrir dos vías alternativas y excluyentes de procesamiento. La mayoría de la APP, después de su transporte hasta la membrana es cortada por una α -secretasa. Esta vía, llamada no amiloidogénica, impide la formación del péptido A β ya que el corte por la α secretasa ocurre dentro de la secuencia del péptido amiloide. La vía amiloidogénica es iniciada por un corte a partir de la β -secretasa originando un péptido de 99 aminoácidos (β -CTF), que luego es cortado por la γ -secretasa originando el péptido A β ¹⁰.

La acción de la enzima γ -secretasa resulta en la producción mayoritaria del péptido A β 1-40, de 40 aminoácidos, llamado también A β 40, y cantidades menores del péptido A β 1-42, de 42 aminoácidos, llamado también A β 42, y cantidades minúsculas de otros péptidos de entre 37 a 43 aminoácidos. Esta variación en la longitud del péptido generado es consecuencia del patrón de procesamiento heterogéneo de la γ secretasa^{31, 32}.

Generalmente los péptidos más largos son más hidrofóbicos y más propensos a agregarse, pues incluyen aminoácidos hidrofóbicos presentes en la región central de la proteína APP, que es la región que está inmersa dentro de la membrana citoplásmica³².

La función fisiológica de la proteína APP es incierta, aunque se sugiere que participa en una variedad de funciones, incluyendo la adhesión celular, la regulación de las interacciones célula/célula o célula/matrix y la mediación del crecimiento de la neuritas³³.

PRESENILINAS

Los genes PSEN1 (cromosoma 14) y PSEN2 (cromosoma 1) dan origen a dos proteínas transmembrana de 467 y 448 aminoácidos denominadas presenilina 1 (PS1) y presenilina 2 (PS2) respectivamente. Ambas proteínas son expresadas en el cerebro y en los tejidos periféricos³⁴.

PS1 y PS2 son subunidades de un complejo proteico denominado γ -secretasa. Este complejo enzimático corta varias proteínas de membrana, incluyendo a APP, en su dominio transmembrana.

Aparte de PS1 y PS2 otras tres proteínas forman parte del complejo de la γ -secretasa: nicastrina, PEN-2 y APH-1³⁵.

Además de participar directamente en la formación del péptido A β , las PS regulan el corte de otros receptores y transductores de señales tales como Notch-1, ErbB4, DC44 y caderinas. Además las PS afectan directamente otras moléculas señalizadoras³⁶.

Las mutaciones en los genes de las presenilinas se asocian a una mayor producción de A β 42 y a una mayor relación A β 42/A β 40, que en algunos casos puede llegar hasta a valores de aproximadamente 17⁴.

DÍMEROS, OLIGÓMEROS Y FIBRILLAS DEL PÉPTIDO A β .

El monómero A β tiene una alta tendencia a autoagregarse formando desde dímeros, oligómeros, a estructuras de orden superior, como protofilamentos, protofibrillas y fibrillas, hasta llegar a la formación de placas.

En este proceso que lleva a la formación de las fibrillas se originan numerosos intermediarios formados por la unión de monómeros A β .

La heterogeneidad producida durante este proceso es grande y se origina a dos niveles: de monómero y durante el proceso de agregación.



El monómero A β existe como una mezcla compleja de monómeros producto de tres fenómenos: (1) el corte proteolítico por la β -secretasa genera una variedad de péptidos A β de entre 37 y 43 aminoácidos que coexisten mutuamente. La especie más abundante es la A β 40 seguida de la A β 42³²; (2) el péptido A β no existe en una conformación o plegamiento único, sino como una mezcla de conformaciones mutua y rápidamente interconvertibles^{37, 38}; y (3) el monómero A β presenta modificaciones postraduccionales: racemización, isomerización, fosforilación, oxidación, glicación y piroglutamilación³⁹. Al igual que con la proteína tau en los cerebros con EA hay una proporción significativa de variantes A β truncadas, tales como A β 2-17, A β -17, A β n-40/42 con n variando entre 2 y 11 para adicionar más variabilidad²⁴.

Longitud del monómero

La longitud del monómero afecta su potencial neurotóxico y agregante, por ejemplo, A β 42 es más propenso a agregarse que A β 40 y esa característica hace que tenga una mayor capacidad de formar fibrillas que A β 40⁴⁰.

Vandersteen y colaboradores usando péptidos A β de diferente longitud estudiaron la cinética de agregación de los mismos y concluyeron que A β 42 y A β 43 se agregan más rápidamente que péptidos más cortos (A β 38 y A β 40). Otros hallazgos importantes de su estudio indican que el potencial citotóxico es diferente según la longitud del péptido y que mezclas de diferentes péptidos a diferentes proporciones afectan el comportamiento agregante de la mezcla total A β , pudiendo incluso volver tóxicos a péptidos cortos, por ejemplo A β 38, considerados como no tóxicos en forma aislada³².

Conformación del monómero

El péptido A β existe en solución como una espiral desordenada que carece de una estructura secundaria regular α o β ⁴¹ y se le categoriza como un péptido intrínsecamente desordenado (IDP, del inglés "intrinsically disordered peptide") que no muestra una conformación única y que en solución adopta conformaciones extendidas o colapsadas⁴².

Esta característica del IDP le permite interactuar con muchas moléculas diferentes, incluyendo péptidos idénticos y otras variantes de A β . Además, esta capacidad de realizar interacciones múltiples posibilita al péptido A β sufrir modificaciones postraduccionales, pues se vuelve una molécula muy accesible para diferentes reacciones químicas con diferentes ligandos.

Modificaciones postraduccionales

Las modificaciones que sufre A β ocasionan cambios en las conformaciones posibles que puede adoptar y por ende sobre su grado de reactividad, incluyendo su capacidad de autoagregación.

El Proceso de agregación

El proceso de agregación de los monómeros A β , arrancando desde la formación de dímeros y llevando hasta las fibrillas, se considera un proceso dinámico, en el que en todo momento coexisten diferentes especies en diferentes estados de agregación.

En su forma más sencilla puede hablarse de un proceso que incluye a dímeros, oligómeros, protofibrillas y fibrillas y numerosos intermediarios entre cada paso.

Un gran problema es la existencia de un vocabulario rico y confuso en la literatura para describir los diferentes oligómeros y ensamblajes fibrilares. El origen de esta confusa terminología se ubica en la utilización de diferentes técnicas y procedimientos empleados para estudiar el proceso de agregación. Los investigadores Masters y Silkoé brindan una larga lista de toda esta terminología⁴³.



Van Nuland y colaboradores describen un proceso global que va del monómero, pasando por los oligómeros, protofibrillas hasta llegar a las fibrillas³⁸.

En este proceso los monómeros están en equilibrio con los oligómeros, es decir que los monómeros se asocian y disocian constantemente de los oligómeros *in vitro*⁴⁴. Hay un reciclamiento constante de monómeros A β 40 y A β 41 y una competencia por la unión a los extremos de agregados protofibrilares o fibrilares.

La incorporación de los monómeros a los oligómeros ocurre en dos pasos: el primero es un rápido cambio conformacional de los monómeros desde una estructura desordenada a una con un contenido significativo de hélice β . El segundo estado es un proceso relativamente lento, y es el acoplamiento del monómero, que presenta una estructura antiparalela de láminas o hélices β ²⁴.

A su vez los oligómeros están en equilibrio con las protofibrillas, existiendo una mezcla heterogénea de pequeños oligómeros A β en equilibrio con las protofibrillas y las fibrillas⁴⁵.

Las protofibrillas se asocian para dar origen a las fibrillas maduras, que no se pueden considerar como entidades estáticas, porque continuamente se asocian y disocian por ambos extremos de la fibrilla.

Además, sobre la superficie de la fibrilla se producen procesos de nucleación de nuevos agregados a partir de monómeros, a una tasa dependiente de las concentraciones de los monómeros y de las fibrillas⁴⁶.

Las fibrillas A β son agregados peptídicos con una estructura β , que se origina de secuencias ubicadas en el centro o en el C-terminal⁴⁷.

Las fibrillas A β poseen un ordenamiento y una rigidez altos comparadas con el monómero A β , pero aun así retienen siempre una cantidad considerable de desorden en el segmento N-terminal³⁸.

A nivel de la fibrilla se considera que existe un polimorfismo estructural grande, definido como la variabilidad existente en la conformación del péptido o en el rearreglo intrafibrilar de las diferentes fibras³⁷. No obstante, a pesar de todas las múltiples diferencias en su estructura total, existe un motivo estructural de hojas beta antiparalelas bien caracterizado dentro de las fibrillas^{24, 37}.

Otras variables

Los metales afectan la dinámica del péptido A β pudiendo afectar el proceso de agregación y la misma variabilidad del monómero.

Masters y Selkoe indican que el cobre puede inducir modificaciones oxidativas en el monómero A β y que la reducción de la biodisponibilidad intracelular de cobre tiene un efecto inhibitorio sobre la formación de los oligómeros⁴³.

Se citan otros metales que pueden afectar al péptido A β y su proceso de agregación, principalmente el hierro y el zinc³⁸.

LAS PLACAS SENILES

Las placas seniles son lesiones esféricas extracelulares de 10-200 μ m de diámetro. Las placas pueden ser clasificadas dentro de múltiples tipos, pero para fines prácticos interesan básicamente dos tipos, difusa y neurítica.



Las placas seniles difusas representan una lesión cerebral temprana dentro de la EA y se piensa que este tipo de placa progresa hasta la placa compacta clásica con un mayor involucramiento neurítico⁽⁶⁾. Aunque esto no necesariamente representa una evolución de un tipo de placa a otro tipo y más bien podría representar diferentes mecanismos de formación de la placa senil.

La placa clásica o neurítica es una lesión extracelular esférica de 0-50 μm de diámetro. Las placas difusas tienden a ser más heterogéneas en tamaño.

Dentro de la placa senil se encuentra $\text{A}\beta$ en una estructura β cruzada. Las placas neuríticas contienen una región central hecha de filamentos del péptido $\text{A}\beta$ de 6-10 nm, dispuestos como un manojo que irradia a partir del centro⁴⁸. Las placas densas exhiben un halo periférico de especies oligoméricas de $\text{A}\beta$ ⁴⁹.

Datos experimentales obtenidos a partir de EA familiar y esporádico muestra que la región central tiene más $\text{A}\beta_{43}$ que $\text{A}\beta_{40}$ ²⁴.

El tamaño de las placas compactas o densas varía entre los pacientes, con distribuciones de tamaño mayores correlacionando con una edad temprana de inicio de los síntomas. No obstante, el tamaño de la placa densa no se correlaciona con la duración de la enfermedad, indicando que la duración de la enfermedad clínica no es un buen predictor independiente del tamaño de la placa densa, sino que depende de la edad de inicio de los síntomas⁵⁰.

Cummings y colaboradores utilizando un modelo de ratones transgénicos (TASTPM) detectaron que antes de ocurrir cualquier formación de la placa había un bajo nivel de $\text{A}\beta_{42}$ (relación $\text{A}\beta_{42}:\text{A}\beta_{40}$ de 1:3), pero cuando empezaba a detectarse la formación de la placa el nivel de ese péptido se incrementaba notablemente (relación $\text{A}\beta_{42}:\text{A}\beta_{40}$ de 1:1)⁵¹.

Este hallazgo está en consonancia con el hecho de que las formas más largas del péptido $\text{A}\beta$ son más propensas a autoagregarse y que al alcanzar cierta concentración crítica se inicia dicho proceso.

LA PATOLOGÍA POR TAU Y POR EL PÉPTIDO $\text{A}\beta$.

Las neuronas y sinapsis degeneradas en el cerebro de pacientes con EA se localizan usualmente dentro de regiones que se proyectan o que están en áreas con alta densidad de placas seniles ($\text{A}\beta$) y de ovillos fibrilares (tau). Las regiones severamente afectadas incluyen el hipocampo, la corteza entorrinal, la amígdala, la neocorteza y algunas áreas subcorticales^{10, 52}. El hipocampo y la corteza son áreas esenciales para el aprendizaje y la memoria y entonces es posible que la presencia de las placas seniles y de ovillos fibrilares contribuya a la patogénesis de la EA.

No obstante, la neurotoxicidad de $\text{A}\beta$ se asocia cada vez más a los oligómeros solubles y no tanto a las placas. En este sentido se dice que los oligómeros $\text{A}\beta$ son más tóxicos que el amiloide $\text{A}\beta$ insoluble de la placa^{10, 24, 38, 53, 54}.

La placa amiloide funcionaría como una especie de reservorio de oligómeros $\text{A}\beta$, que podrían difundir para ejercer su efecto neurotóxico a diferentes niveles^{38, 54, 55}. Las formas oligoméricas solubles se acumulan en la periferia de las placas densas amiloides¹⁶.

Numerosos mecanismos han sido postulados para explicar la patogénesis y evolución de la EA. Debe agregarse que esos mecanismos no son necesariamente mutuamente excluyentes.

La neurotoxicidad de $\text{A}\beta$ se asocia a los péptidos más largos, porque son más propensos a formar estructuras β plegadas extensas y a autoagregarse¹⁶. La rápida inducción de estructuras β plegadas extensas tiene un profundo valor predictivo en términos del potencial neurotóxico³².



No obstante, *in vivo* la situación es más compleja porque lo que existe es una mezcla de péptidos A β de diferente longitud y en diferente proporción y no única especie o isoforma de A β ⁵⁴.

Las mezclas de varios péptidos A β no se comportan de una manera predecible, de acuerdo a un simple efecto aditivo y más bien pueden modular activamente el comportamiento de otras isoformas presentes en la mezcla o de inducir o prevenir la toxicidad o incluso modificar la propensión a la agregación.

Vandersteen y colaboradores demuestran que la inclusión de A β 38 y A β 43 en mezclas complejas de A β 40 y A β 42 afecta sustancialmente el comportamiento A β total y que A β 38 y A β 40, consideradas no tóxicas, pueden llegar a serlo inesperadamente en estas mezclas³².

Con respecto a tau su potencial neurotóxico se origina a partir de su fosforilación, originando tau hiperfosforilado, que causa una disrupción del citoesqueleto microtubular, afectando el transporte axoplásmico.

Con la proteína tau al igual que con el péptido A β la especie tóxica, o por lo menos la más tóxica, es la forma oligomérica soluble y no el ovillo neurofibrilar (NFT)^{21, 23}.

También se postula que la formación de NFTs sería un mecanismo neuroprotector^{21, 28}, para secuestrar a tau hiperfosforilado, pues esta es la forma que ocasiona la ruptura microtubular. En apoyo de esta idea se puede señalar que las neuronas con NFTs sobreviven muchos años y el decrecimiento de la densidad de los microtúbulos no se relaciona con la acumulación de las PHFs. Con la agregación tau pierde su habilidad para secuestrar tau normal y de inhibir la regeneración de la red microtubular^{56, 57}.

Emerge un cuadro donde aunque la patología de la EA se explica principalmente a partir de la mayor producción y acumulación, o menor degradación de A β (la hipótesis amiloide), tanto A β como tau parecen ser necesarios para el daño neuronal. La reducción de ambas especies, A β y tau hiperfosforilado, pero no solo de A β disminuye el daño cognitivo en modelos de ratones que expresan tanto las placas amiloides como NFTs²⁸. Además, experimentalmente se observa que la supresión de tau bloquea la toxicidad inducida por A β y reduce el déficit de la memoria²¹.

Otra prueba indirecta del papel de la proteína tau en la patología de la EA viene de hecho que la cantidad y progresión de NFT correlaciona positivamente con el grado de deterioro cognitivo^{6, 24, 26}. De hecho, el número y la distribución de los NFT sirven como un buen marcador de la progresión de la EA¹⁰. Mientras que hay una pobre correlación entre las placas amiloides y la disfunción cerebral^{6, 38, 40, 58}. Aunque esta pobre correlación podría deberse al gran polimorfismo existente dentro de las fibrillas amiloides, pues las placas están formadas de fibrillas de diferente morfología³⁸.

Algunos autores sugieren tres posibles modos de interacción entre ambas moléculas: (1) A β media la patología de tau, (2) un efecto sinérgico tóxico de ambas moléculas, y (3) tau media la toxicidad de A β ⁵⁹.

Se han postulado numerosos mecanismos para explicar la patogénesis de la EA. Muchos de esos mecanismos se traslapan entre sí o resultan ser complementarios. En casi todos ellos destaca el papel central del péptido A β .

Los mecanismos son los siguientes: 1, 2 y 3) interacción del péptido A β con la membrana plasmática dando lugar a la formación de poros, a la alteración de diversos receptores o a estrés oxidativo; 4) deterioro de los sistemas degradativos autofágico y lisosomal; 5) alteración de la homeostasis del calcio; 6) deterioro del transporte axoplásmico de moléculas y organelas por medio del citoesqueleto; 7) estrés oxidativo; 8) declinación de la actividad metabólica cerebral; y 9) unión de A β a diferentes receptores de la membrana.

La hidrofobicidad aumentada de los péptidos más largos de A β permitiría que este péptido se integre o inserte dentro de la bicapa lipídica, iniciando de esta manera el proceso de daño celular, para todos aquellos mecanismos que involucran la interacción de este péptido con la membrana⁴⁰.



Alteración de la homeostasis del calcio. La alteración en los niveles del calcio, puede ocasionar un aumento crónica del calcio intracelular. El nivel del calcio es utilizado por las neuronas para controlar una serie de funciones incluyendo la excitabilidad de la membrana, la liberación de neurotransmisores, la expresión génica, el crecimiento celular, la diferenciación, la formación de radicales libres y la muerte celular⁶⁰. Cambios sostenidos en la señalización del calcio, y específicamente un aumento significativo del calcio intracelular en forma crónica, ocurren previo al declive cognitivo y a la muerte neuronal significativa en la EA⁶¹.

Un nivel aumentado de calcio intracelular, y por ende de la señalización a través del mismo, activa proteasas que degradan proteínas involucradas en el aprendizaje y en la memoria. La desregulación prolongada del calcio ocasiona estrés oxidativo por acumulación de radicales libres del oxígeno (ROS), disfunción mitocondrial y muerte neuronal.

La alteración de la homeostasis del calcio intracelular neuronal se ha postulado que puede ocurrir por dos mecanismos: el péptido A β se inserta en la membrana neuronal creando un canal o poro que permitiría el ingreso del calcio o por la activación de los receptores de NMDA. La activación de los receptores NMDA, ocasionaría un aumento del calcio intracelular y la estimulación subsecuente de una cascada de enzimas resultando en la muerte celular^{10, 61}. En la unión de A β a la membrana tendría especial participación la fosfatidilserina como mediador de dicho proceso⁴³.

Activación de receptores por inserción de A β . La unión de A β a la membrana podría ocasionar la activación de diversos receptores (NMDA, AMPA, de insulina y otros)^{43, 54, 61}. En este caso la unión del péptido podría perturbar inespecíficamente la estructura de los receptores mencionados.

Alteración/disfunción de vías degradativas. Los sistemas lisosomal, con sus vías endocítica y autofágica, y proteosómico son los principales mecanismos degradativos de las proteínas y organelas disfuncionales. Las alteraciones/disfunciones en el sistema endosomal/autofágico son reconocidos como eventos neuropatológicos tempranos en la EA⁶².

Una falla en el sistema lisosomal puede incrementar la concentración del péptido A β , permitiendo un aumento en la carga de A β cerebral y promoviendo su oligomerización y los procesos patogénicos subsecuentes⁶².

Avrahami *et al* utilizando ratones transgénicos 5XFAD, que producen y acumulan A β 42, demostraron que el déficit del funcionamiento lisosomal en los cerebros de estos ratones contribuye a la masiva y rápida acumulación de A β ⁶³. Además, la restauración de la función lisosomal revierte los síntomas de EA.

En otra serie de experimentos Tai y colaboradores encontraron que la proteína tau hiperfosforilada y agregada se acumula en las terminales pre y posináptica, a causa de un deterioro de la proteólisis mediada por el sistema del proteosoma⁶⁴.

También se ha visto que los oligómeros solubles de A β pueden inhibir la actividad proteosómica en regiones cerebrales asociadas con la formación de la memoria a largo plazo (por ejemplo en el hipocampo y en el lóbulo parietal inferior)⁶⁵.

Entonces, se ha observado una falla en los mecanismos degradativos que permite la acumulación de varias proteínas relevantes a la patogenia de la EA, incluyendo A β y tau, y de otros factores como mitocondrias dañadas y proteínas caspasas activadas que promueven la muerte celular. Estas deficiencias en última instancia iniciarían múltiples cascadas neurodegenerativas.

Estrés oxidativo por inserción de A β en la membrana. El péptido A β insertado en la membrana podría inducir directamente estrés oxidativo por medio de la metionina en la posición 35 del péptido. Este aminoácido formaría un radical, metionina sulfóxido, que ocasionaría la subsecuente peroxidación lipídica. Los investigadores Butterfield, Swomley y Sultana han mostrado que la metionina 35 es crítica para el estrés oxidativo y para la neurotoxicidad utilizando modelos de mamíferos⁴⁰.



El cerebro es muy susceptible al estrés oxidativo debido a su alta demanda energética, su alto consumo de oxígeno, las grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturado (capaces de sufrir peroxidación), los bajos niveles de enzimas antioxidantes y su alto contenido de hierro^{66, 67}.

Inflamación crónica y estrés oxidativo. La presencia de microglia es la base de la hipótesis que la EA es una enfermedad de inflamación excesiva dentro del cerebro⁶.

La deposición de A β en el cerebro se asocia a una respuesta inflamatoria con niveles aumentados de citoquinas proinflamatorias, de componentes del complemento y de proteínas de fase aguda⁶⁸.

Los astrocitos y la microglia rodean las placas amiloides, siendo las placas el factor quimiotáctico para estas células⁶⁹. Además, A β activa la microglia ocasionando una respuesta inflamatoria con una liberación aumentada de citoquinas neurotóxicas, produciendo daño oxidativo e induciendo mecanismos de apoptosis. Los astrocitos también producen muchos mediadores inflamatorios^{17, 61, 70}.

En apoyo de lo anterior se observa una asociación entre la magnitud de la activación microglial y la severidad de los cambios patológicos en la EA⁶⁹.

El proceso inflamatorio genera ROS resultando en estrés oxidativo (EO), que es el factor causante de daño oxidativo a proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos, ocasionando disfunción celular^{66, 71}.

El EO y sus efectos se encuentran tan temprano como en los estados de MEI y EAD en la progresión a la EA⁷¹.

A su vez el EO contribuye a la generación de A β y de NFT, creando un círculo vicioso de neurodegeneración.

Un componente celular implicado en la exacerbación del EO es la presencia de niveles aumentados de productos finales de glicación avanzada o AGEs (del inglés "advanced glycation end products") en pacientes con EA. Los AGEs colocalizan con las placas amiloides y fracciones enriquecidas en placas contienen más de tres veces más AGEs que las fracciones de pacientes controles de edad similar, sugiriendo que A β podría estar glicado^(67, 72).

Los depósitos de A β extracelulares y NFT intracelular tienen una elevada estabilidad, constituyendo sustratos ideales para sufrir glicación, originando AGEs^{20, 67}.

Además, en los pacientes con EA se observan niveles aumentados de RAGE (receptores para AGE) en la microglia y en las neuronas. La unión de A β o A β -AGE a RAGE se asocia a la generación de EO^{61, 73}.

Los niveles de RAGE se hallan más aumentados en células tratadas con A β -AGE que en células tratadas solo con A β y la aplicación de anticuerpos contra RAGE atenúa significativamente el daño neural inducido por A β -AGE⁷².

Li y colaboradores utilizando cultivos de neuronas del hipocampo encontraron que A β -AGE es más tóxico que A β en el decrecimiento de la viabilidad celular, en la inducción de apoptosis, en la hiperfosforilación de tau y en el daño a las sinapsis⁷².

De todo lo anterior emerge un panorama de la existencia de un círculo vicioso de neurodegeneración en la EA, donde diferentes factores promueven la inflamación y el EO y los AGEs se postulan como uno de esos factores.

Disfunción mitocondrial. Las mitocondrias constituyen el centro energético de la célula y una mitocondria disfuncional es la principal generadora de ROS que ocasiona el EO. La disfunción mitocondrial ha sido implicada entre los mecanismo causantes de EA. El péptido A β puede interactuar con diferentes componentes de la mitocondria ocasionando una menor generación de ATP y una mayor producción de ROS. La menor generación de energía



contribuiría a un defecto en la remoción de los agregados de A β agravando el problema y llevando a la disfunción y muerte neuronal^{6, 70}. El péptido A β puede bloquear la traslocación de proteínas codificadas a nivel nuclear hacia la mitocondria⁷⁴. Aunque también se menciona un efecto sinérgico de tau-A β alterando la función mitocondrial^{26, 55}.

Transporte axónico deficiente. Tau promueve el ensamble y la estabilización microtubular y entonces se involucra en el transporte axónico⁶⁷. En consecuencia, la pérdida de la función de tau (por hiperfosforilación mediada por A β) compromete el transporte axónico, por un colapso del citoesqueleto de microtúbulos, contribuyendo a la degeneración sináptica^{6, 21, 43}. Los microtúbulos están significativamente disminuidos en número y longitud en neuronas en la EA por hiperfosforilación de tau, ocasionando neuritas distróficas y una distribución anormal de mitocondrias^{55, 75, 76}. Algunos investigadores han encontrado que tau y el péptido A β en conjunto pueden causar deficiencias en el transporte axónico y específicamente en el transporte de mitocondrias, pero en una manera independiente de los microtúbulos⁷⁷.

Declinación de la actividad metabólica. Debido a múltiples factores se produce una disminución de la actividad metabólica cerebral y esta disminución ocasionaría el deterioro cognitivo y la activación de la secretasa- β y por ende un incremento del péptido A β . En esta hipótesis la deposición de A β no sería la causa del deterioro mental y más bien vendría a ser una consecuencia de la disminución metabólica cerebral⁷⁸.

CONCLUSIONES

Las placas amiloides del péptido A β y los ovillos neurofibrilares, constituidos principalmente por tau hiperfosforilado, constituyen a nivel molecular los principales hallazgos de la EA.

El péptido A β presenta un gran polimorfismo y se considera que en realidad existe como una mezcla compleja de moléculas de A β de diferente longitud y conformación.

La proteína tau promueve y estabiliza los microtúbulos y su hiperfosforilación ocasiona una alteración microtubular que podría ocasionar parte de la disfunción celular observada en la EA.

Tanto A β como tau hiperfosforilada se caracterizan por su capacidad para agregarse, originando conglomerados insolubles. La capacidad para autoagregarse viene dada por una transición en la conformación de α hélice a un predominio de una estructura β plegada.

En el proceso que lleva a la formación de las placas amiloides y del NFT se originan oligómeros solubles de diverso tamaño y estos oligómeros se mencionan como la forma más tóxica para ambas moléculas.

Aunque A β parece estar más involucrada en la patología de la EA, ambas moléculas han sido implicadas en la patogénesis de la EA. Con toda probabilidad las acciones de los péptidos A β extracelulares y la proteína tau intracelular están estrechamente relacionadas a través de una serie de procesos y eventos.

Se han propuesto diversos mecanismos para tratar de explicar la patogénesis de la EA.

REFERENCIAS.

1. Yan, S. S., Chen, D., Yan, S., Guo, L. & Chen, J. (2013). RAGE is a key cellular target for A β -induced Perturbation in Alzheimer's disease. *Front Biosci* (Schol Ed), 4, 240-250.
2. Chua, Y. K., Basir, R., Talib, H., Tie, T. H. & Nordin, N. (2013). Receptor for advanced glycation end products and its involvement in inflammatory diseases. *International J Inflammation*, 1-15.



3. Lu, W., Xu, Y., Shao, X., Gao, F., Li, Y., Hu J., et al (2015). Uric acid produces an inflammatory response through activation of NF- κ B in the hypothalamus: implications for the pathogenesis of metabolic disorders. *Scientific Reports*, 5, 1-15.
4. Rostagno, A., Holton, J., Lashley, T., Revesz, T. & Ghiso, J. (2010). Cerebral amyloidosis: amyloidal subunits, mutants and phenotypes. *Cell Mol Life Sci*, 67(4), 581-600.
5. Llorens, M., Jurado, J., Hernández, F. & Ávila, J. (2014). GSK-3 β , a pivotal kinase in Alzheimer disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, 7, 1-11.
6. Castellani, R., Rolston, R. & Smith, M. (2010). Alzheimer disease. *Dis Mon*, 56(9), 484-546.
7. Mayeux, R. & Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, a006239.
8. Bonda, D., Wang, X., Lee, Hg., Smith, M., Perry, G. & Zhu, X. (2014). Neuronal failure in Alzheimer disease: a view through the oxidative stress looking-glass. *Neurosci Bull*, 30(2), 243-252.
9. Butterfield, A., Di Domenico, F & Barone, E. (2014). Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: a key role for oxidative stress in brain. *Biochim Biophys Acta*, 1842(9), 1693-1706.
10. Revett, T., Baker, G., Jhamandas, J. & Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J Psychiatry Neurosci*, 38(1), 6-22.
11. Tanzi R. (2012). The genetics of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, a006296.
12. Schindler, S. & Fagan, A. (2015). Autosomal dominant Alzheimer disease: a unique resource to study CSF biomarker changes in preclinical AD. *Frontiers in Neurology*, 6, 1-7.
13. Lopera, F. (2012). Enfermedad de Alzheimer. *Revista Neuropsicología, Neuropsiquiatría y Neurociencias*, 12(1), 163-188.
14. Liu, C. C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanism, and therapy. *Nat Rev Neurol*, 9(2), 106-118.
15. Bu, G. (2009). Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*, 10, 333-44. [PubMed: 19339974].
16. Youmans, K., Tai, L., Nwabuisi, E., Jungbauer, L., Kanekiyo, T., Gan, M., et al. (2012). APOE4-specific changes in A β accumulation in a new transgenic mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 287(50), 41774-41786.
17. Padrón, N., Menéndez, S. & Libre, J. J. (2002). Presenilinas, Apo E y enfermedad de Alzheimer. *Rev Cubana Invest Biomed*, 21(4), 262-269.
18. Schmechel, D. E., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Hulette, C. M., Joo, S. H., Pericak, M. A., et al. (1993). Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 9649-53. [PubMed: 8415756]
19. Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D. & Crowther, R. A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, 3, 519-526 [PubMed: 2484340].



20. Mandelkow, E. M. & Mandelkow, E. (2012). Biochemistry and cell biology of Tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*, a006247.
21. Mieltska, A., Wasik, U., Goras, M., Filipek, A. & Niewiadomska, G. (2014). Tau protein modifications and interactions: their role in function and dysfunction. *Int J Mol Sci*, 15, 4671-4713.
22. Al-Bassam, J., Ozer, R. S., Safer, D., Halpain, S. & Milligan, R. A. (2002). MAP2 and tau bind longitudinally along the outer ridges of microtubule protofilaments. *J Cell Biol*, 157, 1187-1196.
23. Gendreau, K. & Hall, G. (2013). Tangles, toxicity, and tau secretion in AD – new approaches to a vexing problem. *Frontiers in Neurology*, 4, 1-18.
24. Zhao, L., Lu, L., Chew, L. & Mu, Y. (2014). Alzheimer's disease—a panorama glimpse. *Int J Mol Sci*, 15, 12631-12650.
25. Avila, J., Lucas, J. J., Pérez, M. & Hernández, F. (2004). Role of Tau in both physiological and pathological conditions. *Physiol. Rev*, 84, 361–384.
26. Pritchard, S., Dolan, P., Vitkus, A. & Johnson, G. (2011). The toxicity of tau in Alzheimer disease: turnover, targets and potential therapeutics. *J Cell Mol Med*, 15(8), 1621-1635.
27. Drewes, G., Trinczek, B. & Illenberger, S. (1995). Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase (p110mark). A novel protein kinase that regulates tau-microtubule interactions and dynamic instability by phosphorylation at the Alzheimer-specific site serine 262. *J Biol Chem*, 270, 7679–88.
28. Iqbal, K., Liu, F., Gong, C. X. & Grundke, I. (2010). Tau in Alzheimer disease and related tautopathies. *Curr Alzheimer Res*, 7(8), 656-664.
29. Alonso, A. D., Grundke, I., Barra, H. S. & Iqbal, K. (1997). Abnormal phosphorylation of tau and the mechanism of Alzheimer neurofibrillary degeneration: sequestration of microtubule-associated proteins 1 and 2 and the disassembly of microtubules by the abnormal tau. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 298–303. [PubMed: 8990203].
30. Yin, H. & Kuret, J. C. (2006). C-terminal truncation modulates both nucleation and extension phase of tau fibrillation. *FEBS Lett*, 580(1), 211-215.
31. Golde, T., Ran, Y. & Felsenstein, K. (2012). Shifting a complex debate on γ -secretase cleavage and Alzheimer's disease. *EMBO Journal*, 31, 2237-2239.
32. Vandersteen, A., Masman, M., De Baets, G., Jonckheere, W., Van der Werf, K., Marrink, S., et al. (2012). Molecular plasticity regulates oligomerization and cytotoxicity of the multipetide-length amyloid- β peptide pool. *J Biol Chem*, 287(44), 36732-36743.
33. Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 81, 741-66.
34. Vetrivel, K., Zhang, Y. W., Xu, H. & Thinakaran, G. (2006). Pathological and physiological functions of presenilins. *Molecular Neurodegeneration*, 1, 1-12.
35. Chavez, L., Bammens, L., Benilova, I., Vandersteen, A., Benurwar, M., Borgers, M., et al. (2012). The mechanism of secretase dysfunction in familial Alzheimer disease. *EMBO Journal*, 31, 2261-2274.



36. Nizzari, M., Thellung, S., Corsaro, A., Villa, V., Pagano, A., Porcile, C., et al. (2012). Neurodegeneration in Alzheimer disease: role of amyloid precursor protein and presenilin 1 intracellular signaling. *Journal of Toxicology*, 1-13.
37. Fändrich, M., Schmidt, M. & Grigorieff, N. (2011). Recent progress in Understanding Alzheimer's β -amyloid structures. *Trends Biochem Sci*, 36(6), 338-345.
38. Hubin, E., Van Nuland, N., Broersen, K. & Pauwels, K. (2014). Transient dynamics of A β contribute to toxicity in Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci*, 71, 3507-3521.
39. Kuo, Y. M., Emmerling, M. R., De Lima, N., Roher, A. E. (1998). Irreversible dimerization/tetramerization and posttranslational modifications inhibit proteolytic degradation of A beta peptides of Alzheimer's disease. *Biochim Biohys Acta*, 1406(3), 291-298.
40. Butterfield, A., Swomley, A. & Sultana, R. (2013). Amyloid β -peptide (1-42)-induced oxidative stress in Alzheimer disease: importance in disease pathogenesis and progression. *Antioxidants & Redox signaling*, 19(8), 823-838.
41. Zhang, S. (2000). The Alzheimer's peptides a beta adopts a collapsed coil structure in wáter. *J Struct Biol*, 130(2-3), 130-141.
42. Baumketner, A. (2006). Structure of the 21-30 fragment of amyloid beta-protein. *Protein Sci*, 15(6), 1239-1247.
43. Masters, C. & Seikoe, D. (2012). Biochemistry of amyloid β -protein and amyloid deposits in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Pespect Med*, 2, a006262.
44. Fawzi, N. L., Ying, J., Torchia, D. A., Clore, G. M. (2010). Kinetics of amyloid beta monomer-to-oligomer exchange by NMR relaxation. *J Am Chem Soc*, 132(29), 9948-9951.
45. Suzuki, Y. (2013). Resolution of oligomeric species during the aggregation of A β 1-40 using (19) FNMR. *Biochemistry*, 52(11), 1903-1912.
46. Cohen, S. I. (2013) Proliferation of amyloid- β 42 aggregates occurs through a secondary nucleation mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(24), 9758-9763.
47. Luhrs, T. (2005). 3D structure of Alzheimer's amyloid-beta (1-42) fibrils. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 17342-17347. [PubMed: 16293696].
48. Kidd, M. (1964). Alzheimer's disease-an electron microscopical study. *Brain*, 87, 307-320 [PubMed: 14188276].
49. Serrano, A., Muzikansky, A., Gómez, T., Growdon, J., Betensky, R., Frosch, M., et al. (2013). Differential Relationship of reactive astrocytes and microglia to fibrillar amyloid deposits in Alzheimer disease. *J Nwuropathol Exp Neurol*, 72(6), 462-471.
50. Serrano, A., Miele, M., Muzitansky, A., Gómez, T., Growdon, J., Bacski, B., et al. (2012). Stable distribuiton of amyloid plaques over the course of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 71(8), 694-701.
51. Cummings, D., Liu, W., Portelius, E., Bayram, S., Yasvoina, M., Ho, SH., et al. (2015). First effects of rising amyloid- β intransgenic mouse brain: synaptic transmission and gene expression. *Brain*, 138, 1992-2004.
52. Sepulcre, J., Sabuncu, M., Becker, A., Sperling, R. & Johnson, K. (2013). In vivo characterization of the early States of the amyloid-beta network. *Brain*, 136, 2239-2252.



53. Zhao, L. N., Long, H. W., Mu, Y. & Chew, L. Y. (2012). The toxicity of amyloid β oligomers. *Int J Mol Sci*, 13, 7303-7327.
54. Jin, M., Shepardson, N., Yang, T., Chen, G., Walsh, D. & Selkoe, D. (2011). Soluble amyloid β -protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *PNAS*, 108(14), 5819-5824.
55. Jellings, K. (2012). Interaction between pathogenic proteins in neurodegenerative disorders. *J Cell Mol Med*, 16(2), 1166-1183.
56. Alonso, A. D., Zaidi, T., Novak, M., Barra, H. S., Grundke I. & Iqbal, K. (2001). Interaction of tau isoforms with Alzheimer's disease abnormally hyperphosphorylated tau in vitro phosphorylation into disease-like protein. *J Biol Chem*, 276, 37967-37973. [PubMed: 11495914].
57. Alonso, A. D., Li, B., Grundke, K. & Iqbal, K. (2006). Polymerization of hyperphosphorylated tau into filaments eliminates its inhibitory activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 23, 8864-8869.
58. Lesné, S., Sherman, M., Grant, M., Kuskowski, M., Schneider, J., Bennett, D., et al. (2013). Brain amyloid- β oligomers in ageing and Alzheimer's disease. *Brain*, 136, 1383-1398.
59. Ittner, L. M. & Götz, J. (2011). Amyloid- β and tau. A toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 12, 67-72.
60. Conley, Y., Mukherjee, A., Kammerer, C., DeKosky, S., Kamboh, I., Finegold, D. & Ferrell, R. (2009). Evidence supporting a role for the calcium-sensing receptor in Alzheimer disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B (5), 703-709.
61. Supnet, C. & Bezprozvanny, I. (2010). The dysregulation of intracellular calcium in Alzheimer disease. *Cell calcium*, 47(2), 183-189.
62. Peric, A. & Annaert, W. (2015). Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? *Acta Neuropathol*, 129, 363-381.
63. Avrahami, L., Farfara, D., Shamam, M., Vassar, R., Frenkel, D. & Eldar, H. (2013). Inhibition of glycogen synthase kinase-3 ameliorates β -amyloid pathology and restores lysosomal acidification and mammalian target of rapamycin activity in the Alzheimer disease mouse model. *J Biol Chem*, 288(2), 1295-1306.
64. Tai, H. C., Serrano, A., Hashimoto, T., Frosch, M., Spires, T. & Hyman, B. (2012). The synaptic accumulation of hyperphosphorylated Tau oligomers in Alzheimer disease is associated with dysfunction of ubiquitin-proteasome system. *Am J Pathol*, 181(4), 1426-1435.
65. Ihara, Y., Morishima, M. & Nixon, R. (2012). The ubiquitin-proteasome system and the autophagic-lysosomal system in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2: a006361.
66. Gella, A. & Durany, N. (2009). Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Adhesion & Migration*, 3(1), 88-93.
67. Angeloni, C., Zamboni, L. & Hrelia, S. (2014). Role of methylglyoxal in Alzheimer's disease. *BioMed Research International*, 2014, 1-12.
68. Cappellano, G., Carecchio, M., Fleetwood, T., Magistrelli, L., Cantello, R., Dianzani, U., et al. (2013). Immunity and inflammation in neurodegenerative diseases. *Am J Neurodegener*, 2(2), 89-107.



69. Lue, L-F., Kuo, Y-M., Beach, T. & Walker, D. (2010). Microglia activation and anti-inflammatory regulation in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 41(2-3), 115-128.
70. Bernarda, R. (2005). Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Chal Neuropsiquiatra*, 43(2), 123-132.
71. Barone, E., Domenico, F., Mancuso, C. & Butterfield, A. (2014). The Janus face of heme oxygenase/biliverdin reductase system in Alzheimer disease: It's time for reconciliation. *Neurobiol Dis*, 62, 1-34.
72. Li, X-H., Du, L-L., Cheng, X-S., Jiang, X., Zhang, J. & Lv, B. L. (2013). Glycation exacerbates the neuronal toxicity of β - amyloid. *Cell Death and Disease*, 4, 1-8.
73. Yan, S., Bierhaus, A., Nawroth, P. & Stern, D. (2009). RAGE and Alzheimer's disease: a progression factor for amyloid- β - induced cellular Perturbation? *J Alzheimer Dis.*, 16(4), 833-843.
74. Spuch, C., Ortolano, S. & Navarro, C. (2012). New insights in the amyloid-beta interaction with mitochondria. *J Aging Research*, 1-9.
75. Zhang, F., Su, B., Wang, C., Siedlak, S., Mondragón, S., Lee, H-g., et al. (2015). Posttranslational modifications of α -tubulin in Alzheimer disease. *Translational Neurodegeneration*, 4, 1-9.
76. Lijima, K., Sekiya, M., Maruko, A., Ohtake, Y., Suzuki, E., Lu, B., et al. (2012). Loss of axonal mitochondria promotes Tau-mediated neurodegeneration and Alzheimer's-related Tau phosphorylation via PAR-1. *PLOS Genetics*, 8, 1-15.
77. Vossel, K., Xu, J., Fomenko, V., Miyamoto, T., Suberbielle, E., Knox, J., et al. (2015). Tau reduction prevents A β -induced axonal transport deficits by blocking activation of GSK3 β . *J Cel Biol*, 9(3), 419-433.
78. Struble, R., Ala, T., Patrylo, P., Brewer, G. & Yan, X-X. (2010). Is brain amyloid production a cause or result of dementia of the Alzheimer type? *J Alzheimer Dis*, 22(2), 393-399.