

# Investigación y terapias en la enfermedad de Alzheimer basadas en beta amiloide y tau

Perla Y. López-Camacho<sup>1</sup>, R. Nicté-Ha Guzmán-Hernández<sup>1</sup>, Víctor H. Hernández González<sup>4</sup>, J. Edgar Díaz Muñoz<sup>2</sup>, Francisco García-Sierra<sup>3</sup>, Gustavo Basurto-Islas<sup>4\*</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México

<sup>3</sup>Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Ciudad de México, México.

<sup>4</sup>División de Ciencias e Ingenierías, Universidad de Guanajuato. León Guanajuato, México.

\*Correspondencia : Dr. Gustavo Basurto-Islas. Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, División de Ciencias e Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Loma del Bosque No. 103 Col. Lomas del Campestre C.P 37150 León, Guanajuato, México. E-mail: gustavo.basurto@ugto.mx

## Resumen

**Introducción:** la enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso crónico neurodegenerativo que causa demencia y deterioro de las funciones cognitivas. Entre los estudios dirigidos al desarrollo de posibles terapias, las investigaciones sobre la inhibición de la agregación del péptido  $\beta$  amiloide (P $\beta$ A) y la proteína tau presentan potenciales efectos terapéuticos.

**Objetivo:** realizar una actualización descriptiva de las principales investigaciones de estrategias terapéuticas para la EA basados en el estudio del P $\beta$ A y tau.

**Método:** se empleó la base de datos Pubmed para la búsqueda bibliográfica, utilizando palabras clave relacionadas con el tema de estudio. Se realizaron inmunohistoquímicas en tejido cerebral de pacientes con EA.

**Resultados:** por su relevancia patológica las principales investigaciones dirigidas al desarrollo de estrategias terapéuticas se basan en el estudio del P $\beta$ A y tau, tales como: inhibición de la producción del P $\beta$ A, terapias degradadoras del P $\beta$ A, inmunoterapias anti- $\beta$ A y anti-tau, compuestos inhibidores y disociadores de agregados del P $\beta$ A y tau, inhibición de cinasas, activación de fosfatasa y estabilización de microtúbulos.**Discusión y conclusión:** la formación y agregación del P $\beta$ A y las modificaciones postraduccionales de tau que inducen su agregación han demostrado ser clave para el establecimiento de la EA, por lo que es necesario inhibir su formación en etapas tempranas y así evitar la evolución de la enfermedad. Sin embargo; estos mecanismos han causado efectos colaterales al bloquear procesos fisiológicos importantes. Es por ello que la inhibición de agregados del P $\beta$ A y tau de manera conjunta parece ser la estrategia terapéutica más viable contra la EA. *Research and therapeutics in Alzheimer's disease based on amyloid beta and tau*

*Palabras clave:* enfermedad de Alzheimer, proteína tau, péptido beta amiloide, terapias.

Aceptado: 26 agosto 2016

# Research and therapeutics in Alzheimer's disease based on amyloid beta and tau

---

## Abstract

---

**Introduction:** Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder related to dementia and cognitive impairment. The research into potential therapies has shifted towards the inhibition of both  $\beta$  amyloid and tau aggregates.

**Objective:** To update the research in the development of therapeutic strategies for AD based on the P $\beta$ A and tau study.

**Method:** PubMed database was used to search the required information using the related keywords. Immunohistochemistry was performed on AD brain tissue sections.

**Results:** Due to its pathological relevance, the main research for the therapeutic strategies in AD are based on A $\beta$  and tau as following: decreasing A $\beta$  formation, reducing A $\beta$  levels, immunotherapy to A $\beta$  and tau, interfering or disrupting A $\beta$  and tau aggregates, inhibiting and activating kinase and phosphatase activity respectively, and stabilizing microtubules.

**Discussion and conclusion:** the P $\beta$ A formation and aggregation as well as the posttranslational modifications of tau that promotes its aggregation have shown to be key mechanisms for the AD onset, hence, to prevent the evolution of the disease it is essential to inhibit these processes in the early stages of the onset, but, these strategies have caused side effects blocking important physiological functions, thus leading to research approaches such as the inhibition of the aggregation of both P $\beta$ A and tau, that seems to be the most efficient therapeutic strategy for AD.

---

**Keywords:** Alzheimer's disease, tau protein, amyloid beta, therapeutics.

## Introducción

---

La disfunción y muerte neuronal en la enfermedad de Alzheimer (EA) se asocia a la presencia de dos estructuras neuropatológicas, las placas de  $\beta$  amiloide ( $\beta$ A) y las marañas neurofibrilares (MNF), formadas por agregados del péptido  $\beta$ A (P $\beta$ A) y la proteína tau, respectivamente. Estas estructuras se distribuyen en regiones

específicas del cerebro asociadas a funciones cognitivas como hipocampo y corteza entorrinal<sup>1-3</sup>. Ambas proteínas, con funciones fisiológicas importantes, sufren modificaciones postraduccionales anormales en la enfermedad de Alzheimer que inducen su agregación y por consecuencia el establecimiento de la enfermedad (figura 1 A y B).

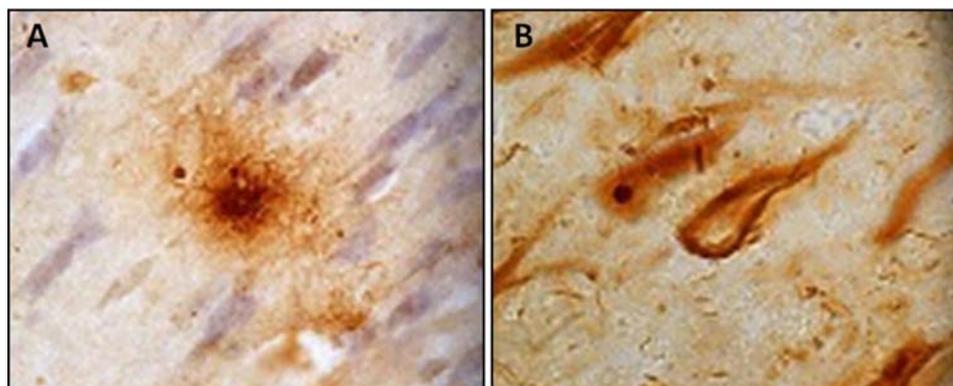


Figura 1. Estructuras neuropatológicas identificadas en el tejido cerebral de pacientes que padecieron la EA mediante la técnica de inmunoperoxidasa. **A.** Placa de  $\beta$ A identificada con el anticuerpo anti-amiloide  $\beta$ . **B.** Marañas neurofibrilares identificadas con el anticuerpo anti tau (phospho-Thr231). Microscopía de campo claro con el objetivo 100X.

**Objetivo.** Realizar una actualización descriptiva de las principales investigaciones de estrategias terapéuticas para la EA basados en el estudio del P $\beta$ A y tau.

**Material y métodos.** Se realizó una búsqueda bibliográfica consultando la base de datos PubMed. Se revisaron artículos originales en inglés. Las palabras clave y términos utilizados fueron: Alzheimer's disease and: tau protein, amyloid beta, molecular targets, therapeutic strategies, immunotherapy and aggregation. De esta forma se consultaron artículos originales de investigación, revisiones narrativas, estudios clínicos y revisiones sistemáticas.

**Resultados.** En la base de datos PubMed se identificaron 944 artículos relacionados a las diferentes estrategias terapéuticas para la EA. Una búsqueda más detallada relacionada con investigación terapéutica asociada a  $\beta$ A y tau redujo el número de referencias a 101. Las publicaciones identificadas fueron artículos originales y revisiones por lo que parte de

la información era repetitiva. Por último, se utilizaron 79 referencias para realizar esta actualización por temas.

## POTENCIALES ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA LA EA ASOCIADAS AL P $\beta$ A

### *Inhibición de la producción del P $\beta$ A*

La proteína precursora de amiloide (APP) sufre un proceso proteolítico mediado por  $\alpha$ ,  $\gamma$  y  $\beta$ -secretasas. Cada secretasa tiene un sitio de corte específico que puede llevar o no a la producción del P $\beta$ A con propiedades amiloidogénicas. Cuando intervienen la  $\beta$  y  $\gamma$ -secretasas se produce el P $\beta$ A, altamente agregativo. Este péptido no se genera cuando la APP es cortada por la  $\alpha$  y  $\gamma$ -secretasa, ya que escinde justo en la secuencia del péptido agregativo evitando su formación<sup>4</sup>. La variante del P $\beta$ A con 42 aminoácidos (1-42) posee características hidrofóbicas y tóxicas, así como gran capacidad de fibrilación.

Estrategias terapéuticas en la EA, se enfocan en la activación de  $\alpha$ -secretasas e inhibición de  $\beta$  y  $\gamma$ -secretasas.

Un estudio en modelos in vivo determinó que ADAM10, una desintegrina-metaloproteasa, es capaz de generar el efecto proteolítico de  $\alpha$ -secretasa, previniendo la formación de placas de  $\beta$ A y el daño en hipocampo<sup>5</sup>. En otro estudio realizado en ratones transgénicos Tg2576, que expresan una variante mutada de la APP y desarrollan una gran cantidad de placas de  $\beta$ A, se inhibieron las  $\beta$ -secretasas

mediante una inmunización que permite que anticuerpos anti-M2 se peguen a sitios específicos, reduciendo de manera significativa la producción del P $\beta$ A<sup>6</sup>. Se han identificado otros inhibidores de las  $\beta$ -secretasas, como el MK-8931 (figura 2), aprobado en ensayo clínico fase I, que redujo en un 92% los niveles de  $\beta$ A en el líquido cefalorraquídeo, sin demostrar daño directo al paciente, y efectos perjudiciales<sup>7</sup>; ahora se encuentra en ensayo clínico fase II/III, por lo que es la terapia más promisorio de este grupo<sup>8</sup>.

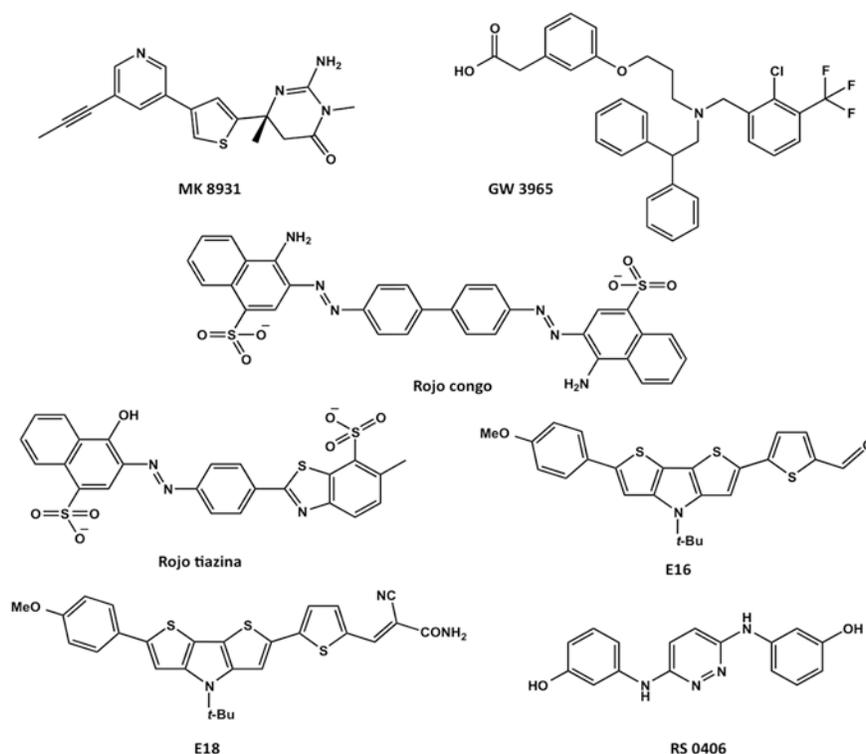


Figura 2. Estructura química de compuestos usados en la investigación como posibles tratamientos asociados al péptido  $\beta$ A en la EA.

Otra estrategia involucra la inhibición de las  $\gamma$ -secretasas, debido a que éstas intervienen en el último paso de la formación del P $\beta$ A. Tarenflurbil, semagacestat (LY450139) y avagacestat, son moléculas con esta capacidad que han alcanzado fases clínicas II y III, muestran poca selectividad, débil penetración de la barrera hematoencefálica e inducción de problemas cognitivos<sup>9</sup>. Las  $\gamma$ -secretasas forman parte de diferentes procesos metabólicos por lo que su inhibición total provoca efectos adversos y la búsqueda de un compuesto que solo límite al sustrato de la APP para reducir la formación del P $\beta$ A ha sido complicada<sup>10</sup>.

### ***II Degradación del P $\beta$ A por interacción con ApoE***

Diversos estudios han demostrado que los niveles del P $\beta$ A y de placas amiloideas en el cerebro son dependientes de isoformas específicas de la apolipoproteína E (ApoE). ApoE es sintetizada por astrocitos y microglía y participa en el proceso de lipidación de diferentes moléculas. Se cree que el complejo ApoE/P $\beta$ A hidrofóbico es el iniciador de los eventos tóxicos que propician la neurodegeneración ya que participa en la regulación de la síntesis y degradación del P $\beta$ A, así como en la proteólisis de la APP<sup>11</sup>. Se conocen 3 isoformas de ApoE: E2, E3 y E4, ésta última la más relacionada con el establecimiento de la EA, debido a su baja eficiencia en la degradación del P $\beta$ A y la posible promoción de su agregación<sup>12</sup>. Las estrategias de investigación se basan en la disminución de la expresión de ApoE4 o en el incremento de los niveles de ApoE2 y E3. Estas modulaciones disminuyen los niveles del P $\beta$ A, acelerando su metabolismo, favoreciendo el proceso de plasticidad sináptica, remoción del P $\beta$ A del cerebro por actividad proteolítica y degradación endolítica en microglías<sup>13,14</sup>.

Los receptores hepáticos X (LXRs) inducen la expresión de genes del metabolismo de lípidos, incluyendo ApoE. En un tratamiento degradador del P $\beta$ A, los LXRs se utilizaron como inductores de síntesis de ApoE; el tratamiento con GW3965 (figura 2), un agonista de LXRs, en un grupo de ratones Tg2576 de edad avanzada mostró reducción en los niveles cerebrales del P $\beta$ A extracelular. Sin embargo, los LXRs no son específicos para ApoE y podrían sobreexpresar otras proteínas asociadas al metabolismo lipídico induciendo efectos colaterales<sup>13</sup>.

### ***III Inmunoterapias anti- $\beta$ A***

Este grupo constituye una posible solución directa para disminuir la citotoxicidad que padecen los pacientes con la EA ligada a los agregados del P $\beta$ A. Mediante anticuerpos se pretende eliminar los agregados amiloideos que reconocen sitios específicos de la secuencia del P $\beta$ A 1-42, propiciando su degradación por la activación del sistema inmune<sup>15</sup>. Se ha observado que ciertas modificaciones postraduccionales del P $\beta$ A favorecen la rápida agregación y resistencia a la degradación. Los primeros ensayos clínicos con inmunoterapias activas se basaron en la terapia AN-1792, donde los pacientes recibieron la inyección del P $\beta$ A 1-42 con un adyuvante para inducir la producción de anticuerpos. Esta inmunoterapia produjo resultados negativos en la remoción del P $\beta$ A del cerebro y se asoció a procesos inflamatorios<sup>16</sup>. No obstante; evidenció otras estrategias más prometedoras que incluyen el uso de los epítopes  $\beta$ A 1-6<sup>17</sup> o  $\beta$ A 1-15<sup>18</sup>, que inducen la producción de anticuerpos sin inducir inflamación. CAD106, fue uno de los epítopes modificados a partir de AN-1792 que generó resultados positivos. Esta vacuna acopla el epítope  $\beta$ A 1-6 a una proteína que incrementa la respuesta inmune.

Los resultados de ensayos clínicos mostraron producción de anticuerpos y disminución de la acumulación del P $\beta$ A en cerebros de ratones transgénicos-APP, evitando el proceso inflamatorio<sup>17</sup> (figura 3).

Actualmente, la inmunoterapia pasiva es uno de los enfoques más prometedores utilizando mecanismos como: i) facilitación de fagocitosis del P $\beta$ A y sus agregados por microglía<sup>19</sup>, ii) inhibición de la agregación del P $\beta$ A por medio de la unión directa y desestabilización de la interacción de las moléculas del péptido<sup>20</sup>, iii) unión de anticuerpos al P $\beta$ A en el torrente sanguíneo, provocando su disminución y el flujo del péptido del cerebro al torrente por diferencia de concentraciones<sup>15,21</sup>. En uno de los estudios más importantes utilizando variantes truncadas del P $\beta$ A se identificaron dos epítopes reconocidos por el anticuerpo anti- $\beta$ A N11 correspondientes al P $\beta$ A 1-42 y una variante truncada del péptido conocida como N3, indicó que estas podrían compartir epítopes y ser reconocidas por un mismo anticuerpo, promoviendo la eliminación de diferentes variantes del P $\beta$ A simultáneamente<sup>11,22</sup>. Las inmunoterapias han sido evaluadas de manera preliminar en humanos, generando reducción de placas de  $\beta$ A y del déficit cognitivo<sup>23-25</sup>. A pesar de los beneficios que podrían aportar, su uso aún demuestra efectos secundarios negativos, como síndrome meningoencefálico y microhemorragias<sup>4</sup>.

#### ***IV Inhibición y disociación de agregados del P $\beta$ A***

Existe una gran variedad de moléculas inhibitoras de la agregación del P $\beta$ A y se ha demostrado que ocupan los sitios de unión de estructuras lámina  $\beta$  plegada formadas por proteínas en estados de agregación, como lo hacen el P $\beta$ A y la proteína tau en la EA.

Un ejemplo de estos compuestos son los colorantes rojo congo y rojo tiazina (figura 3)<sup>26</sup>, pero debido a su toxicidad no son aptos para ser utilizados como agentes terapéuticos. El azul de metileno (AM) es una fenotiazina que cruza la barrera hematoencefálica y actúa como un cicladador redox, con capacidad antiagregatoria del P $\beta$ A, tau y de la proteína prion, por lo que es considerado un compuesto de referencia<sup>27</sup>. Ciertos compuestos heteroaromáticos como E16 y E18 (figura 3) han mostrado alta capacidad para inhibir la agregación del P $\beta$ A y tau en ensayos *in vitro*. Sin embargo, la solubilidad de estos compuestos aún sigue siendo un factor limitante para su eficiencia<sup>28</sup>. Otros compuestos se han puesto a prueba para romper las láminas  $\beta$  plegadas que forman los agregados del P $\beta$ A *in vitro*, como el RS-0406 (figura 2), un derivado de piridazina, que mostró resultados positivos inhibiendo hasta el 60% de la formación de fibrillas en modelos *in vitro*<sup>29</sup> y en un modelo *in vivo* de rata, disminuyó los efectos cognitivos adversos generados por el efecto del P $\beta$ A, indicando gran potencial terapéutico<sup>30</sup>. Las truncaciones en el extremo amino terminal (N) del P $\beta$ A favorecen la rápida agregación y resistencia a la degradación, por lo tanto, otra de las propuestas propone la inhibición de estas variantes del péptido. Algunas de las N-truncaciones del P $\beta$ A se forman por la ciclación del ácido piroglutámico (pGlu), que conduce a pGlu- $\beta$ A, siendo catalizada por la enzima adenilato glutaminil (QC) seguido de la proteólisis en el extremo N-terminal del P $\beta$ A. Estas modificaciones hacen al péptido más estable e incrementan su hidrofobicidad y velocidad de agregación. En el 2008, se evaluaron inhibidores de QC derivados de imidazol en un modelo de rata, mostrando que la inhibición disminuye la concentración de pGlu- $\beta$ A y la formación  $\beta$ A-truncada, proponiéndose como una nueva estrategia para evitar la formación del P $\beta$ A<sup>31</sup>.

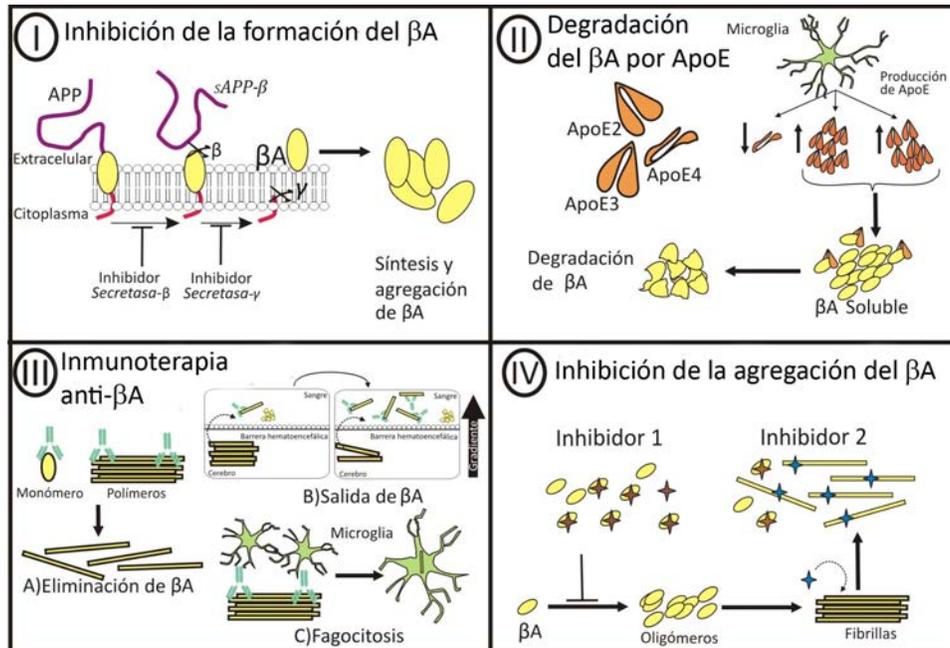


Figura 3. Representación esquemática de modelos terapéuticos en la EA asociados al péptido  $\beta$ A. I. Inhibición de la formación del péptido  $\beta$ A. II. Degradación del péptido  $\beta$ A mediante la modulación de apolipoproteínas. III. Inmunoterapias anti- $\beta$ A: a) eliminación e inhibición por interacción directa anticuerpo- $\beta$ A, b) eliminación del  $\beta$ A del torrente sanguíneo, c) inducción de fagocitosis del péptido por células gliales. IV. Inhibición de la agregación, mediante compuestos con capacidad de bloquear la interacción entre los monómeros de  $\beta$ A (inhibidor 1), o capaces de disociar los agregados del  $\beta$ A previamente formados (inhibidor 2).

La inhibición de los agregados ha sido una propuesta eficiente. No obstante; no se descartan algunos fallos como el del scyllo-inositol, un esteroisomero de inositol, que causó muertes repentinas e infecciones después de su tratamiento evaluado en fase II<sup>32</sup>.

#### V Inhibición de la agregación de tau

Los factores relacionados con la agregación de tau y posterior generación de los filamentos helicoidales apareados (FHA) y MNF se encuentran modificaciones

postraduccionales anormales, como la hiperfosforilación<sup>33</sup> y la truncación<sup>34,35</sup>, que les confiere propiedades patológicas de autoagregación. Los agregados anormales de tau se han considerado elementos clave de la toxicidad celular en la EA, por lo es fundamental en la investigación para su tratamiento el inhibir su formación, de forma parcial o total. Existe evidencia de que las interacciones tau-tau pueden ser inhibidas por pequeñas moléculas capaces de interactuar entre las hojas  $\beta$  que forman los agregados.

Se han descrito un gran número de compuestos con dicha actividad, pero presentan propiedades que los hacen inadecuados como candidatos a fármacos<sup>36</sup>. Dentro de este grupo están: antraquinonas, polifenoles, aminotienopiridazinas, sulfonatos, fenotiazinas, etcétera. En ensayos realizados en ratones transgénicos P301S se ha demostrado que el AM reduce la agregación patológica de tau, inflamación y daño oxidativo asociados a la patología, atribuyendo estos beneficios a su capacidad de aumentar la expresión de genes regulados por el factor de transcripción Nrf2 asociado al elemento de respuesta antioxidante (ARE), que desempeña un papel importante en la defensa antioxidante, reduciendo la inflamación y evitando la agregación de proteínas<sup>37</sup>, demostrando así que el AM tiene importantes efectos neuroprotectores. Considerando que se ha demostrado actividad antiagregatoria de manera experimental, se requieren estudios complementarios, ya que a ciertas concentraciones el AM ha sido relacionado con problemas cardíacos, respiratorios, anemia hemolítica, entre otros<sup>38</sup>.

#### **VI Inhibición de cinasas**

La hiperfosforilación de tau ocurre en múltiples aminoácidos y a través de diferentes vías. Existen una gran variedad de cinasas implicadas en el proceso de hiperfosforilación, como la enzima glicógeno sintasa cinasa-3 beta (GSK-3 $\beta$ ) y la cinasa-5 dependiente de ciclina (Cdk5), entre otras<sup>39,40</sup>. Así, la reducción de la fosforilación a través de la inhibición de cinasas constituye otra posible estrategia terapéutica. Dentro de este grupo están el litio y el valproato, que inhiben la actividad de GSK-3 $\beta$  y promueven la estabilización

de tau en los microtúbulos, sin embargo, presentan efectos secundarios no deseados<sup>41,42</sup>. En un ensayo funcional de cinasas in vitro el compuesto AR-A014418 (figura 4), derivado de urea, demostró ser inhibidor específico de GSK-3 $\beta$  en células que expresan tau de forma estable. Además, protege a células de neuroblastoma N2A contra la muerte celular mediante la inhibición de fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) e inhibe la neurodegeneración inducida por el P $\beta$ A en el hipocampo<sup>43</sup>. Compuestos derivados de maleimida (arilmaleimidias) y cafeína, como la tiadiazolidinona NP-12/tideglusib (figura 4), se han descrito como inhibidores potentes y selectivos a GSK-3 $\beta$  en líneas celulares neuronales. Estos compuestos continúan en estudio y son promisorios por la importancia de GSK-3 $\beta$  en el establecimiento de la EA<sup>44-46</sup>. El péptido inhibidor de Cdk (CIP) y el 2-aminotiazol (figura 4), inhiben de forma selectiva la actividad de Cdk5/p25 y suprimen la fosforilación de tau, mostrando poca actividad frente a otras Cdk no involucradas en la patología<sup>47,48</sup>.

#### **VII Activación de fosfatasa**

Otra estrategia para regular el estado de hiperfosforilación de tau es mediante la activación de proteínas fosfatasa (PP). En el cerebro humano las más abundantes son la PP2A y la PP1, la primera es una serina/treonina fosfatasa responsable del 70% de la actividad total de fosfatasa para tau<sup>49</sup>, en la EA su actividad se ve reducida, reflejando un incremento de tau hiperfosforilada<sup>50</sup>. Se han realizado diferentes estudios in vitro e in vivo enfocados en la activación de PP2A a través de diversos mecanismos y con ello revertir la hiperfosforilación de tau. Algunos compuestos parecen actuar de manera

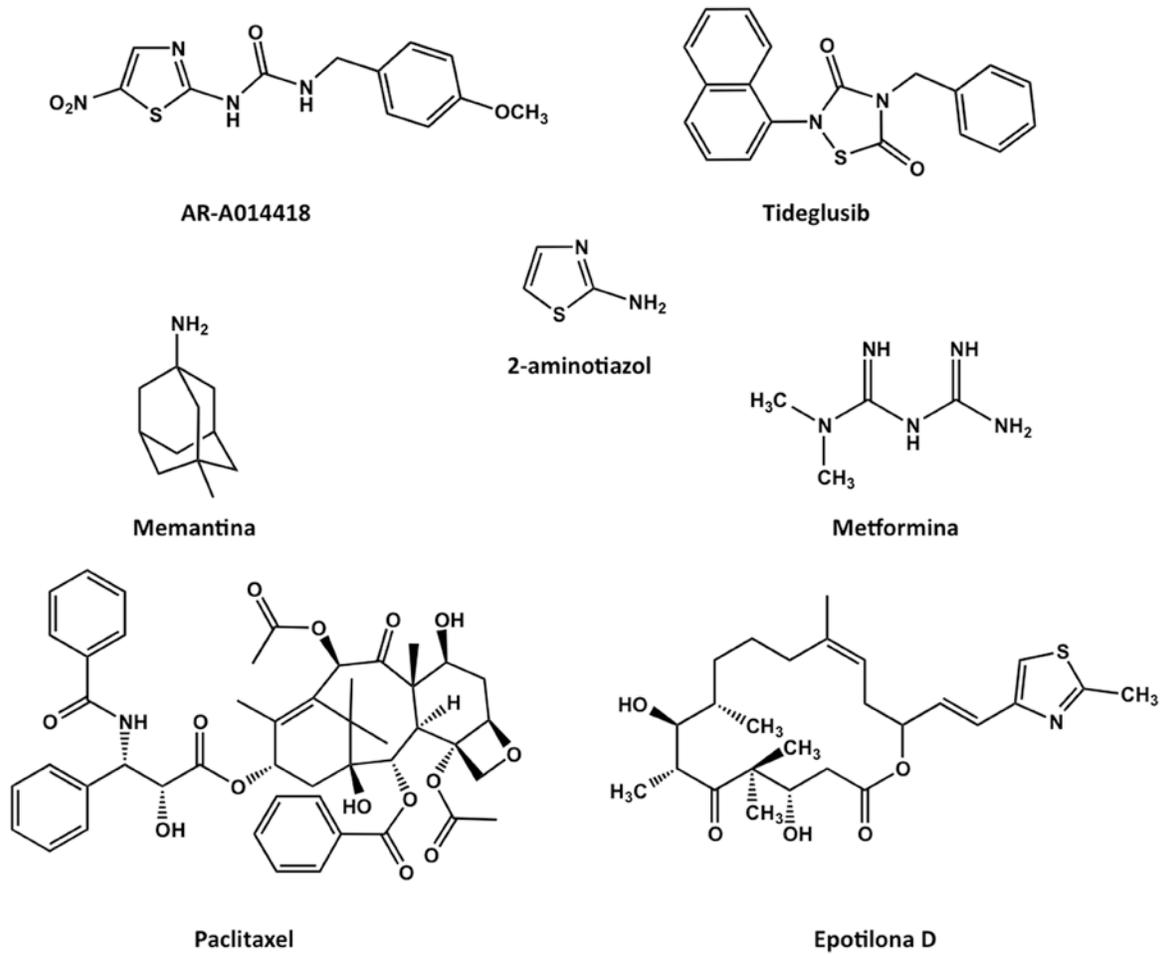


Figura 4. Estructura química de compuestos usados en la investigación como posibles tratamientos asociados a la proteína tau en la EA.

directa como activadores alostéricos de PP2A, mientras que otros actúan de forma indirecta a través del bloqueo de la unión de PP2A a sus inhibidores, o mediante la alteración de modificaciones postraduccionales que actúan a su vez para regular la actividad de PP2A<sup>51</sup>. Por ejemplo, se demostró experimentalmente que la memantina (figura 4), un antagonista no competitivo de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), es capaz de inhibir y revertir la hiperfosforilación de la tau anormal mediante la restauración de la función de PP2A, disminuyendo la fosforilación en Ser-262 y previniendo la inhibición inducida por el principal inhibidor (I) de PP2A, I2PP2A; aunque su mecanismo de acción es poco conocido, ahora se emplea en el tratamiento de la EA<sup>52</sup>. La metformina (figura 4), un fármaco utilizado en el tratamiento de diabetes, ha demostrado ser un activador directo de PP2A mediante la inhibición de su degradación proteosomal, también reduce la fosforilación de tau en epítopes dependientes de PP2A en modelos *in vitro* e *in vivo*<sup>53</sup>. Existen otros activadores potenciales de PP2A que han sido descritos como el ácido palmítico 852, melatonina, progesterona, taurolidina, ditioleona, entre otros<sup>54-57</sup>. Incluso un componente del café (eicosanoil-5-hidroxitriptamida), ha demostrado incrementar la actividad de PP2A por inhibición de la desmetilación de su subunidad catalítica PP2Ac, sugiriendo que los consumidores frecuentes de café podrían tener un menor riesgo de desarrollar la EA<sup>58</sup>.

#### VIII Estabilización de los microtúbulos

La EA, se disminuye la afinidad de tau por los microtúbulos, lo que conduce a desestabilización, causando interrupción estructural y deteriorando

gravemente el transporte axonal<sup>59</sup>. Con este antecedente, se han investigado fármacos estabilizadores de microtúbulos, como los derivados del taxol, aprobado y empleado en el tratamiento del cáncer.

El paclitaxel (figura 4) se ha evaluado en modelos *in vivo*, se ha demostrado que al dar a través de micelas rescata el transporte axonal rápido (FAT), aumenta el número de microtúbulos y mejora la habilidad motora en comparación con los ratones tratados con placebo. Por desgracia no penetra eficientemente la barrera hematoencefálica y sus efectos secundarios lo hacen ineficaz para uso prolongado<sup>60,61</sup>. La epotilona D (EpoD) (figura 4), ha demostrado reducir la degeneración axonal y mejorar la densidad de los microtúbulos en ratones transgénicos PS19, sin presentar efectos secundarios tóxicos aparentes, lo que conlleva a la mejora del FAT y el rendimiento cognitivo. Al cruzar con facilidad la barrera hematoencefálica, permanece más tiempo en el cerebro y se elimina de la sangre de una manera oportuna, minimizando así las consecuencias indeseables<sup>62</sup>. Por otra parte, NAP, un péptido de 8 aminoácidos que representa el componente activo de la proteína neuroprotectora dependiente de actividad (ADNP), penetra la neurona e interactúa de forma directa con los microtúbulos, representando una ventaja sobre otros factores tróficos que requieren de mecanismos mediados por receptor para ejercer su actividad. Si NAP se administra por vía intranasal puede atravesar la barrera hematoencefálica, presentando alta capacidad para rescatar neuronas de la muerte celular inducida por el P $\beta$ A y reduciendo los niveles de tau hiperfosforilada en ratones transgénicos, por lo que se encuentra hoy en investigación clínica<sup>63</sup>.

### ***IX Inmunoterapia anti-tau***

Ahora hay una serie de ensayos clínicos de inmunoterapia que emplean inmunización activa y pasiva<sup>40,64,65</sup>.

Una de las principales críticas es que se dirigen a epítomos de tau fosforilada presentes también en condiciones fisiológicas normales. En las nuevas terapias las inmunizaciones se han realizado con péptidos que contienen fosforilaciones (p) en residuos específicos asociados al establecimiento de la EA y otras tauopatías, como la ocurrida en Ser422<sup>66</sup>. Un grupo de ratones tipo Alzheimer, THY-Tau22, fue inmunizado durante 18 semanas con el péptido pSer422 resultando en una reducción en la inmunorreactividad de tau patológica, correlacionada positivamente con mejoría en la memoria espacial. Se observó un aumento en la concentración de tau en el suero de la sangre del grupo vacunado, lo que sugiere que la inmunización facilita la reducción de tau del cerebro dirigiéndose a la sangre<sup>40,67</sup>. Se han llevado a cabo ensayos de inmunización activa utilizando una mezcla de tres péptidos fosforilados de tau, tau195-213 [p202/205], tau207-220 [p212/214] y tau224-238 [p231], cada uno con sitios fosforilados que son predominantes en tauopatías. Estos péptidos se evaluaron en ratones transgénicos K257T/P301S que desarrollan inclusiones de MNFs a partir de los seis meses de edad. Ocho meses después de la inmunización, se produjo una marcada reducción de MNFs en tallo, corteza e hipocampo sin indicación de neurotoxicidad<sup>68</sup>. En la inmunización pasiva, se han utilizado anticuerpos contra ptau (Ser396/404) en ratones JNPL3 con la mutación P301L. La administración de dosis repetidas del anticuerpo PHF1 que reconoce el epítome

ptau antes mencionado, llevó a la disminución del deterioro funcional y de los niveles de tau insoluble en el giro dentado del hipocampo y corteza. De forma similar la inmunización de ratones transgénicos JNPL3 y P301S utilizando los anticuerpos PHF1 y MC1, que detectan p y un cambio conformacional anormal de tau respectivamente, indicó que ambos anticuerpos reducen la carga de MNFs en la corteza<sup>69</sup>. Estudios más recientes han empleado anticuerpos como el AT8 (ptau Ser202/ Thr205) en ratones transgénicos 3xTg-AD, un modelo que contiene MNF y placas de  $\beta$ A, evidenciando una reducción de la carga de tau somatodendrítica y sus agregados<sup>70</sup>. Otros anticuerpos como el HJ9.3 (residuos 307-320), HJ9.4 (residuos 7-13) y HJ8.7 (residuos 25-30) también disminuyeron de forma notable la tau hiperfosforilada, así como sus agregados insolubles en ratones P301S<sup>71</sup>. Las inmunoterapias dirigidas a tau parecen proporcionar un tratamiento viable y potencial para la EA y en la actualidad es uno de los tratamientos más prometedores.

### **Discusión y conclusión**

La mayoría de los estudios aquí descritos aún no han sido probados en humanos o han ocasionado algún efecto colateral en ellos, por lo que es necesario categorizarlas tomando en cuenta su efectividad e impacto fisiológico en modelos experimentales. Uno de los grandes debates para proponer posibles tratamientos implica determinar la importancia y prioridad entre el P $\beta$ A y tau, los dos mecanismos más significativos en el establecimiento de la EA. Una hipótesis bien sustentada asociada al mecanismo de establecimiento de los agregados del P $\beta$ A descrita por Hardy en 1992<sup>72</sup>

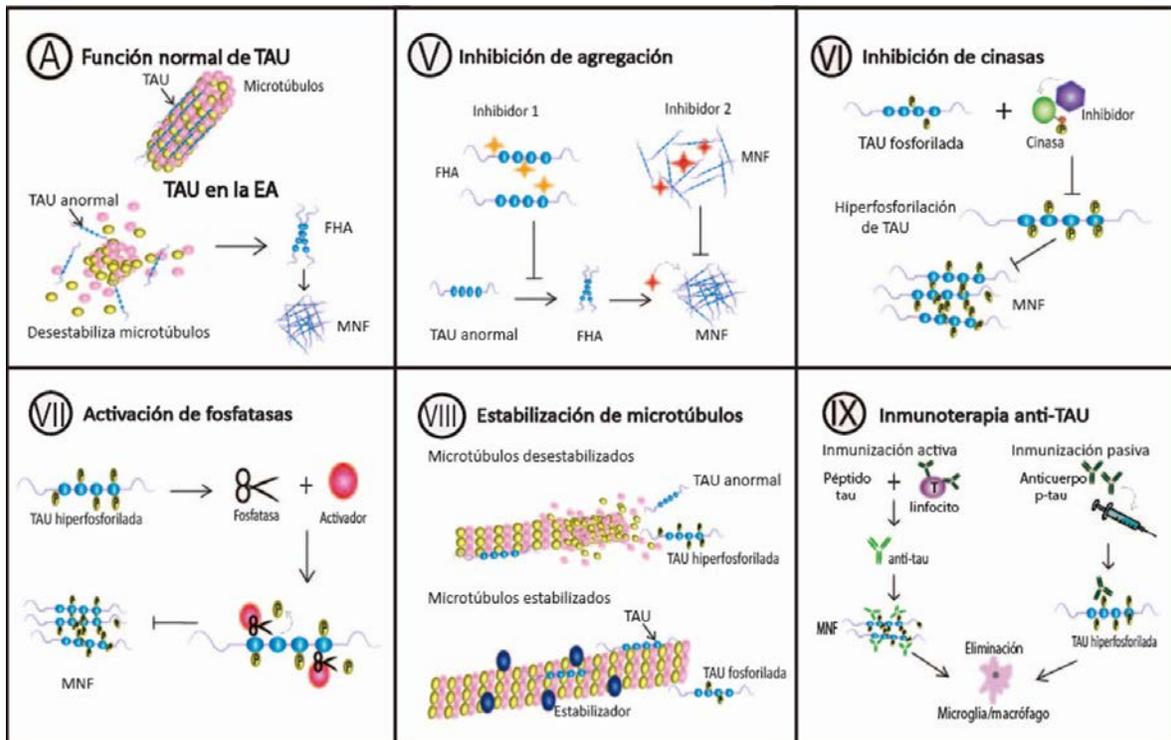


Figura 5. Representación esquemática de modelos terapéuticos en la EA asociados a la proteína tau. A) Función fisiológica y estado patológico de tau. V) Inhibición de la agregación de tau mediante compuestos que bloquean la capacidad de ensamblaje entre monómeros (inhibidor 1) o capaces de desensamblar los agregados formados (inhibidor 2). VI) Inhibición de cinasas con agentes (inhibidor), capaces de prevenir o atenuar la hiperfosforilación de tau. VII) Compuestos (activador) que incrementen la actividad de fosfatas. VIII) Estabilización de microtúbulos por medio de agentes que sean capaces de compensar la pérdida de función estabilizadora de tau y mantener el transporte axonal. IX) Inducción de células T, mediante un antígeno (péptido tau) que se introduce en la inmunización activa para generar anticuerpos anti-tau. En la inmunización pasiva se administran anticuerpos anti-ptau, para eliminar la tau hiperfosforilada y los agregados insolubles.

enfatisa que cuando existe un desbalance entre la síntesis y la degradación del P $\beta$ A se promueve su agregación. Este factor favorece la aparición del resto de las alteraciones cerebrales incluidas muerte celular, disminución el número de sinapsis, decremento en la liberación de neurotransmisores, procesos inflamatorios y la formación de las MNFs, lo que indicaría que es el mecanismo que inicia la patología de la EA<sup>73</sup>, y con ello una mayor relevancia del P $\beta$ A sobre tau. Sin embargo, esta teoría perdió validez por la falta de correlación entre la presencia de placas de  $\beta$ A y la muerte neuronal<sup>74</sup>, y al hecho de que pacientes ancianos con altos niveles de neuropatología amiloide no presentan síntomas de demencia<sup>75</sup>. En otros estudios se ha demostrado que la mejor correlación entre la clínica y la patología de la EA se establece con la presencia de MNFs, generadas por diferentes modificaciones postraduccionales de tau que promueven su agregación en regiones específicas del cerebro<sup>3,76</sup>, causando toxicidad neuronal<sup>77</sup>. Esto provocó que por un periodo de tiempo la investigación terapéutica se enfocara principalmente en tau. Después, se demostró otra vez la importancia de la agregación del P $\beta$ A a través de la toxicidad generada por la agregación de su forma oligomérica y no por las placas<sup>78</sup>. Otro factor importante a considerar es el punto en la cascada patológica en el que participan el P $\beta$ A y tau, ya que ello determinará la etapa en la que se deben centrar las terapias. Los inhibidores de secretasas, en el caso del P $\beta$ A, y los de cinasas para tau, aparentan ser relevantes debido a su efecto en etapas tempranas de la patología evitando la formación de agregados, no obstante; han demostrado serios daños colaterales debido a que estas enzimas están involucradas en múltiples funciones

fisiológicas importantes para el organismo, por lo tanto, resulta importante enfocar la investigación en la inhibición de la agregación tanto de los oligómeros del P $\beta$ A como de tau, ya que los agregados no forman parte de los mecanismos fisiológicos y además presentan alta toxicidad neuronal, así, se propone que esta es la opción más viable y segura para generar un tratamiento y la que al parecer ha dado mejores resultados hasta ahora en modelos in vivo. Los inhibidores de colinesterasas y los antagonistas de los receptores N-metil-D-aspartato, son tratamientos efectivos aprobados por la FDA pero son únicamente paliativos, por lo que se requieren estudios que los asocien a la inhibición de la agregación de P $\beta$ A y tau de manera sincrónica, para mantener un estado del funcionamiento neuronal adecuado y a su vez detener el proceso de degeneración celular en la EA. Otros factores importantes para la estrategia terapéutica adecuada son:

- i) El uso de modelos de investigación apropiados, ya que muchas terapias como las inmunes, han sido eficientes en modelos murinos pero no en humanos.
- ii) Sintetizar moléculas con características fisicoquímicas adecuadas, capaces de atravesar la barrera hematoencefálica.
- iii) Utilizar moléculas con alta biocompatibilidad, selectividad, potencia, eficacia y mínimos efectos adversos.

### Financiamiento

Universidad de Guanajuato a través del proyecto 1,043/2016, Convocatoria Institucional de Investigación Científica 2016-2017.

## Referencias

1. Basurto-Islas G, Luna-Munoz J, Guillozet-Bongaarts AL, Binder LI, Mena R, Garcia-Sierra F. Accumulation of aspartic acid421- and glutamic acid391-cleaved tau in neurofibrillary tangles correlates with progression in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67(5): 470-83.
2. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82(4): 239-59.
3. Shastry BS. Molecular and cell biological aspects of Alzheimer disease. *J Hum Genet* 2001; 46(11): 609-18.
4. Cappai R, White AR. Amyloid beta. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31(9): 885-9.
5. Fahrenholz F. Alpha-secretase as a therapeutic target. *Curr Alzheimer Res* 2007; 4(4): 412-7.
6. Chang WP, Downs D, Huang XP, Da H, Fung KM, Tang J. Amyloid-beta reduction by memapsin 2 (beta-secretase) immunization. *FASEB J* 2007; 21(12): 3184-96.
7. Han SH, Mook-Jung I. Diverse molecular targets for therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *J Korean Med Sci* 2014; 29(7): 893-902.
8. Menting KW, Claassen JA. beta-secretase inhibitor; a promising novel therapeutic drug in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 2014; 6: 165.
9. Giacobini E, Gold G. Alzheimer disease therapy--moving from amyloid-beta to tau. *Nat Rev Neurol* 2013; 9(12): 677-86.
10. Sisodia SS, St George-Hyslop PH. gamma-Secretase, Notch, Abeta and Alzheimer's disease: where do the presenilins fit in? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(4): 281-90.
11. Perez-Garmendia R, Ibarra-Bracamontes V, Vasilevko V, et al. Anti-11[E]-pyroglutamate-modified amyloid beta antibodies cross-react with other pathological Abeta species: relevance for immunotherapy. *J Neuroimmunol* 2010; 229(1-2): 248-55.
12. Castellano JM, Kim J, Stewart FR, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid-beta peptide clearance. *Science translational medicine* 2011; 3(89): 89ra57.
13. Jiang Q, Lee CY, Mandrekar S, et al. ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta. *Neuron* 2008; 58(5): 681-93.
14. Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature reviews Neurology* 2013; 9(2): 106-18.
15. Nikolic WV, Bai Y, Obregon D. Transcutaneous beta-amyloid immunization reduces cerebral beta-amyloid deposits without T cell infiltration and microhemorrhage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(7): 2507-12.
16. Robinson SR, Bishop GM, Lee HG, Munch G. Lessons from the AN 1792 Alzheimer vaccine: lest we forget. *Neurobiol Aging* 2004; 25(5): 609-15.
17. Wiessner C, Wiederhold KH, Tissot AC. The second-generation active Abeta immunotherapy CAD106 reduces amyloid accumulation in APP transgenic mice while minimizing potential side effects. *J Neurosci* 2011; 31(25): 9323-31.
18. Muhs A, Hickman DT, Pihlgren M, et al. Liposomal vaccines with conformation-specific amyloid peptide antigens define immune response and efficacy in APP transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(23): 9810-5.
19. Wilcock DM, Munireddy SK, Rosenthal A, Ugen KE, Gordon MN, Morgan D. Microglial activation facilitates Abeta plaque removal following intracranial anti-Abeta antibody administration. *Neurobiol Dis* 2004; 15(1): 11-20.

20. Solomon B, Koppel R, Frankel D, Hanan-Aharon E. Disaggregation of Alzheimer beta-amyloid by site-directed mAb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(8): 4109-12.
21. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(15): 8850-5.
22. Saido TC, Iwatsubo T, Mann DM, Shimada H, Ihara Y, Kawashima S. Dominant and differential deposition of distinct beta-amyloid peptide species, A beta N3(pE), in senile plaques. *Neuron* 1995; 14(2): 457-66.
23. Bayer AJ, Bullock R, Jones RW, et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic Abeta42 (AN1792) in patients with AD. *Neurology* 2005; 64(1): 94-101.
24. Panza F, Frisardi V, Solfrizzi V. Immunotherapy for Alzheimer's disease: from anti-beta-amyloid to tau-based immunization strategies. *Immunotherapy* 2012; 4(2): 213-38.
25. Fu HJ, Liu B, Frost JL, Lemere CA. Amyloid-beta immunotherapy for Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2010; 9(2): 197-206.
26. Sellarajah S, Lekishvili T, Bowring C. Synthesis of analogues of Congo red and evaluation of their anti-prion activity. *J Med Chem* 2004; 47(22): 5515-34.
27. Cavaliere P, Torrent J, Prigent S, et al. Binding of methylene blue to a surface cleft inhibits the oligomerization and fibrillization of prion protein. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832(1): 20-8.
28. Fuse S, Matsumura K, Fujita Y, Sugimoto H, Takahashi T. Development of dual targeting inhibitors against aggregations of amyloid-beta and tau protein. *Eur J Med Chem* 2014; 85: 228-34.
29. Nakagami Y, Nishimura S, Murasugi T. A novel beta-sheet breaker, RS-0406, reverses amyloid beta-induced cytotoxicity and impairment of long-term potentiation in vitro. *Br J Pharmacol* 2002; 137(5): 676-82.
30. O'Hare E, Scopes DI, Treherne JM, Norwood K, Spanswick D, Kim EM. RS-0406 arrests amyloid-beta oligomer-induced behavioural deterioration in vivo. *Behav Brain Res* 2010; 210(1): 32-7.
31. Schilling S, Appl T, Hoffmann T. Inhibition of glutaminyl cyclase prevents pGlu-Abeta formation after intracortical/hippocampal microinjection in vivo/in situ. *J Neurochem* 2008; 106(3): 1225-36.
32. Salloway S, Sperling R, Keren R. A phase 2 randomized trial of ELND005, scyllo-inositol, in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology* 2011; 77(13): 1253-62.
33. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83(13): 4913-7.
34. Basurto-Islas G M-RS, Binder LI, Garcia-Sierra F. Pathology of the Cleaved Tau Protein in the Context of Toxicity and the Formation of Neurofibrillary Tangles. *European Neurological Review* 2009; 4(2): 20-3.
35. Garcia-Sierra F, Mondragon-Rodriguez S, Basurto-Islas G. Truncation of tau protein and its pathological significance in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2008; 14(4): 401-9.
36. Bulic B, Pickhardt M, Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau protein and tau aggregation inhibitors. *Neuropharmacology* 2010; 59(4-5): 276-89.
37. Stack C, Jainuddin S, Elipenahli C, et al. Methylene blue upregulates Nrf2/ARE genes and prevents tau-related neurotoxicity. *Hum Mol Genet* 2014; 23(14): 3716-32.
38. Ginimuge PR, Jyothi SD. Methylene blue: revisited. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2010; 26(4): 517-20.
39. Plattner F, Angelo M, Giese KP. The roles of cyclin-dependent kinase 5 and glycogen synthase kinase 3 in tau hyperphosphorylation. *J Biol Chem* 2006; 281(35): 25457-65.
40. Himmelstein DS, Ward SM, Lancia JK, Patterson KR, Binder LI. Tau as a therapeutic target in neurodegenerative disease. *Pharmacol Ther* 2012; 136(1): 8-22.

41. Hu JP, Xie JW, Wang CY, et al. Valproate reduces tau phosphorylation via cyclin-dependent kinase 5 and glycogen synthase kinase 3 signaling pathways. *Brain Res Bull* 2011; 85(3-4): 194-200.
42. Hampel H, Ewers M, Burger K. Lithium trial in Alzheimer's disease: a randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter 10-week study. *J Clin Psychiatry* 2009; 70(6): 922-31.
43. Bhat R, Xue Y, Berg S. Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418. *J Biol Chem* 2003; 278(46): 45937-45.
44. Dominguez JM, Fuertes A, Orozco L, del Monte-Millan M, Delgado E, Medina M. Evidence for irreversible inhibition of glycogen synthase kinase-3beta by tideglusib. *J Biol Chem* 2012; 287(2): 893-904.
45. Arendash GW, Mori T, Cao C, et al. Caffeine reverses cognitive impairment and decreases brain amyloid-beta levels in aged Alzheimer's disease mice. *J Alzheimers Dis* 2009; 17(3): 661-80.
46. Engler TA, Malhotra S, Burkholder TP. The development of potent and selective bisarylmaleimide GSK3 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2005; 15(4): 899-903.
47. Zheng YL, Kesavapany S, Gravel M. A Cdk5 inhibitory peptide reduces tau hyperphosphorylation and apoptosis in neurons. *EMBO J* 2005; 24(1): 209-20.
48. Helal CJ, Sanner MA, Cooper CB. Discovery and SAR of 2-aminothiazole inhibitors of cyclin-dependent kinase 5/p25 as a potential treatment for Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett* 2004; 14(22): 5521-5.
49. Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci* 2005; 22(8): 1942-50.
50. Iqbal K, Gong CX, Liu F. Hyperphosphorylation-induced tau oligomers. *Front Neurol* 2013; 4: 112.
51. Voronkov M, Braithwaite SP, Stock JB. Phosphoprotein phosphatase 2A: a novel druggable target for Alzheimer's disease. *Future Med Chem* 2011; 3(7): 821-33.
52. Chohan MO, Khatoon S, Iqbal IG, Iqbal K. Involvement of I2PP2A in the abnormal hyperphosphorylation of tau and its reversal by Memantine. *FEBS Lett* 2006; 580(16): 3973-9.
53. Kickstein E, Krauss S, Thornhill P. Biguanide metformin acts on tau phosphorylation via mTOR/protein phosphatase 2A (PP2A) signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(50): 21830-5.
54. Aceto N, Bertino P, Barbone D. Taurolidine and oxidative stress: a rationale for local treatment of mesothelioma. *Eur Respir J* 2009; 34(6): 1399-407.
55. Liu B, Arbogast LA. Progesterone decreases tyrosine hydroxylase phosphorylation state and increases protein phosphatase 2A activity in the stalk-median eminence on proestrous afternoon. *J Endocrinol* 2010; 204(2): 209-19.
56. Yang X, Yang Y, Fu Z. Melatonin ameliorates Alzheimer-like pathological changes and spatial memory retention impairment induced by calyculin A. *J Psychopharmacol* 2011; 25(8): 1118-25.
57. Wu Y, Song P, Xu J, Zhang M, Zou MH. Activation of protein phosphatase 2A by palmitate inhibits AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2007; 282(13): 9777-88.
58. Basurto-Islas G, Blanchard J, Tung YC. Therapeutic benefits of a component of coffee in a rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2014; 35(12): 2701-12.
59. Brunden KR, Zhang B, Carroll J. Epothilone D improves microtubule density, axonal integrity, and cognition in a transgenic mouse model of tauopathy. *J Neurosci* 2010; 30(41): 13861-6.
60. Brunden KR, Yao Y, Potuzak JS. The characterization of microtubule-stabilizing drugs as possible therapeutic agents for Alzheimer's disease and related tauopathies. *Pharmacol Res* 2011; 63(4): 341-51.
61. Zhang B, Maiti A, Shively S. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(1): 227-31.

62. Zhang B, Carroll J, Trojanowski JQ. The microtubule-stabilizing agent, epothilone D, reduces axonal dysfunction, neurotoxicity, cognitive deficits, and Alzheimer-like pathology in an interventional study with aged tau transgenic mice. *J Neurosci* 2012; 32(11): 3601-11.
63. Matsuoka Y, Gray AJ, Hirata-Fukae C. Intranasal NAP administration reduces accumulation of amyloid peptide and tau hyperphosphorylation in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease at early pathological stage. *J Mol Neurosci* 2007; 31(2): 165-70.
64. Lemere CA. Immunotherapy for Alzheimer's disease: hoops and hurdles. *Mol Neurodegener* 2013; 8: 36.
65. Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Jackson GR, Kaye R. Tau oligomers as potential targets for immunotherapy for Alzheimer's disease and tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 2011; 8(6): 659-65.
66. Bussiere T, Hof PR, Mailliot C. Phosphorylated serine422 on tau proteins is a pathological epitope found in several diseases with neurofibrillary degeneration. *Acta Neuropathol* 1999; 97(3): 221-30.
67. Troquier L, Caillierez R, Burnouf S. Targeting phospho-Ser422 by active Tau Immunotherapy in the THY Tau22 mouse model: a suitable therapeutic approach. *Curr Alzheimer Res* 2012; 9(4): 397-405.
68. Boimel M, Grigoriadis N, Lourbopoulos A, Haber E, Abramsky O, Rosenmann H. Efficacy and safety of immunization with phosphorylated tau against neurofibrillary tangles in mice. *Exp Neurol* 2010; 224(2): 472-85.
69. Chai X, Wu S, Murray TK, et al. Passive immunization with anti-Tau antibodies in two transgenic models: reduction of Tau pathology and delay of disease progression. *J Biol Chem* 2011; 286(39): 34457-67.
70. Walls KC, Ager RR, Vasilevko V, Cheng D, Medeiros R, LaFerla FM. p-Tau immunotherapy reduces soluble and insoluble tau in aged 3xTg-AD mice. *Neurosci Lett* 2014; 575: 96-100.
71. Yanamandra K, Kfoury N, Jiang H. Anti-tau antibodies that block tau aggregate seeding in vitro markedly decrease pathology and improve cognition in vivo. *Neuron* 2013; 80(2): 402-14.
72. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992; 256(5054): 184-5.
73. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004; 430(7000): 631-9.
74. Schmitz C, Rutten BP, Pielon A. Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2004; 164(4): 1495-502.
75. Corrada MM, Berlau DJ, Kawas CH. A population-based clinicopathological study in the oldest-old: the 90+ study. *Curr Alzheimer Res* 2012; 9(6): 709-17.
76. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 1991; 82(4): 239-59.
77. Iqbal K, Alonso Adel C, Chen S. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739(2-3): 198-210.
78. DaRocha-Souto B, Scotton TC, Coma M. Brain oligomeric beta-amyloid but not total amyloid plaque burden correlates with neuronal loss and astrocyte inflammatory response in amyloid precursor protein/tau transgenic mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2011; 70(5): 360-76.

---

## Artículo sin conflicto de interés

---

© Archivos de Neurociencias