

La muerte de la memoria. Biología molecular de la enfermedad de Alzheimer¹

Fabio Salamanca Buentello

Alumno del 2o. año de la Licenciatura de Médico Cirujano, Plan 85, Facultad de Medicina, UNAM

(Recibido, diciembre 15, 1992; aceptado, febrero 26, 1993)

Imaginemos a un anciano; está sentado en la esquina oscura de un cuarto exento de objetos, pero cargado de memorias. Las múltiples arrugas que decoran su rostro se continúan con las ajadas duelas del piso, tantas veces caminadas. El viejo cruza el recinto con la mirada hacia otra esquina; ahí hay otro hombre de mediana edad, pero de aspecto aún más decadente. Son padre e hijo; ninguno reconoce al otro; ambos han perdido su pasado en la vorágine del tiempo, ambos lloran en silencio por lo que sienten que fueron pero no recuerdan. Ambos padecen la enfermedad de Alzheimer.

El ser humano es el único ente que, teniendo vida, espera conscientemente su fin último; es decir, tiene conciencia de su mortalidad. Para bien o para mal, comprende que ese final implica una paulatina degradación, tanto biológica como psicológica y comunitaria. Siente temor por este desgaste inminente y, en especial, por la pérdida de la memoria, en ocasiones el único bien de un individuo en sus últimos años. De aquí se desprende el horror a un envejecimiento prematuro como el que da lugar y por el que se caracteriza la enfermedad de Alzheimer (EA); ésta es quizá la más importante de las patologías crónico-degenerativas, tanto por su frecuencia como por su naturaleza devastadora. La EA es la causa más común de demencia en el anciano; esto implica un sentimiento de angustia tanto para el paciente como para sus familiares; además, como la muerte sobreviene después de cinco o más años, se requiere un tratamiento prolongado y costoso. Se considera a la EA como un problema de salud pública en la mayor parte de los países occidentales desarrollados, en los que se llega a alcanzar una prevalencia de acuerdo con la edad de hasta 5.8 casos por 100 personas por año.

Este desorden, junto con sus complicaciones, representa la cuarta causa de muerte en dichos países. Se ha hecho el cálculo en Estados Unidos de la cantidad de recursos que se necesitan anualmente para el tratamiento de pacientes con EA. El resultado es impresionante: 25 billones de dólares. Por otra parte, al darse un aumento de la población anciana se espera un incremento exponencial de casos de EA.

Desde el punto de vista histórico, se definió a la EA como una demencia progresiva, de comienzo en la edad adulta, precediendo el período senil. El primer caso de esta patología (considerada como una entidad) fue una mujer que murió a los 55 años; lo describió Alois Alzheimer en 1907, poniendo énfasis en el hallazgo de amiloide cerebral. Desde entonces, fue usual el término demencia presenil, aunque posteriormente fue más claro que sujetos que morían a una edad avanzada después de sufrir deterioro mental progresivo presentaban lesiones idénticas a las de individuos con "demencia presenil"; por ello, surgió el término demencia senil de tipo Alzheimer para la patología en edad avanzada. La EA es muy poco frecuente en sujetos de mediana edad y casi inexistente en jóvenes; sin embargo, la prevalencia en mayores de 80 años es de más del 20%.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes incluyen un comienzo insidioso (de apariencia inofensiva) y sutil, con cambios progresivos en la memoria de sucesos recientes y en otras funciones mentales superiores. Pueden presentarse, asimismo, trastornos emocionales, depresión, ansiedad, o bien desviaciones repentinas e inesperadas en la conducta; la patología progresa gradualmente por 5 ó 10 años, quedando así hasta la muerte del individuo. En los casos menos severos el cuadro clínico es el de demencia simple, con afasia (incapacidad para hablar) y otros tipos de apraxia; anormalidades en la percepción espacial, signos extrapiramidales (usualmente en las etapas ya

¹Trabajo desarrollado como parte del curso de Fisiología Humana.

más avanzadas), rigidez muscular, torpeza en movimientos, arrastre de pies al caminar, mioclonos y, en las etapas terminales, pérdida de toda capacidad para moverse, percibir, pensar o hablar.

Uno de los problemas más sobresalientes de la EA es la dificultad para diagnosticarla; debe hacerse un diagnóstico diferencial con varias patologías, como hematoma subdural crónico, neoplasias del lóbulo frontal (meningioma, glioma), hidrocefalia, anormalidades en el metabolismo hepático, deficiencia de hidroxibalamina (vitamina B₁₂), e hipotiroidismo. Como generalmente se presenta en ancianos, es fácil confundir la EA con intoxicación crónica por fármacos, otro problema frecuente en individuos de este grupo etario. Asimismo, puede existir demencia por infartos cerebrales múltiples; la depresión en personas de edad avanzada puede simular demencia, o bien puede pensarse en EA cuando un anciano se aísla por sentir incompreensión o falta de atención.

Las lesiones encontradas en sujetos con EA diagnosticada mediante parámetros establecidos (NINCDS/ADRDA criteria, McKhann et al., 1984, Khachaturian 1985) comprenden principalmente desaparición y muerte neuronal en la corteza cerebral. Esto lleva a la atrofia de zonas extensas de los lóbulos temporal (en la región media), parietal y frontal, y a la consiguiente dilatación de las cavidades ventriculares. Se encuentran dos tipos de lesiones microscópicas en exámenes postmortem de pacientes con EA: lesiones intracelulares caracterizadas por la acumulación de proteínas fibrilares en el pericario neuronal y procesos neuronales en estado de degeneración, denominadas redes neurofibrilares; y lesiones extracelulares, provocadas por la agregación de proteínas fibrilares en los intersticios de la corteza cerebral, en cuyo derredor se forma un conjunto de procesos celulares engrosados (las lesiones se denominan neuritas, placas seniles o placas neuríticas) y en las paredes lumbales de pequeños vasos intracorticales y meningeos (angiopatía cerebral amiloide o congofílica).

Los depósitos intra y extracelulares pueden ser teñidos con rojo Congo y, posteriormente, aparecer de color verde y blanco en un microscopio de luz polarizada; ésta es una de las propiedades del amiloide; pero, ¿qué es el amiloide? Este término fue propuesto por Virchow en 1854 para designar un compuesto que confundió con polisacáridos con base en la característica del amiloide de teñirse con sustancias iodadas, por lo cual se pensó que era similar al almidón o a la celulosa; sin embargo, en

1859, Friederech y Kekulé dilucidaron que se trataba de una entidad de naturaleza proteínica. En la actualidad, se considera amiloide a un agregado de filamentos proteínicos, cada uno de 6 a 10 nanómetros de largo, que sean congofílicos, con birrefringencia verde bajo la luz polarizada, con estructura secundaria en lámina beta plegada, con un patrón de difracción beta-cruzado obtenido por difracción con rayos X, y una estructura cuaternaria fibrilar, obtenida mediante estudios por microscopía electrónica; además, los varios tipos de amiloide son insolubles, por lo que se requiere separarlos de otras proteínas que sí son solubles mediante centrifugación.

Aquellas proteínas que pueden formar placas amiloides se denominan "amiloidogénicas". La amiloidogénesis puede ocurrir en varios órganos por muy diversas causas que posteriormente describiremos en detalle. Fue necesario agrupar las proteínas amiloidogénicas en por lo menos 9 clases. Las fibras pueden agregarse por aumento en su concentración, por variaciones estructurales o por proteólisis. La proteína AL, originada en las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas, es la causa de la amiloidosis primaria asociada a mieloma; el amiloide sérico A (SAA) es la porción apoproteíca de una lipoproteína de alta densidad y parece ser el precursor del amiloide A, el componente principal de las fibras amiloides de la amiloidosis reactiva. Variantes de la pre-albúmina pueden dar lugar a las fibras amiloides de la polineuropatía amiloide familiar y a un tipo de amiloidosis cardíaca senil. La precalcitonina constituye la subunidad amiloide en el carcinoma medular de la tiroides; el "rastros gamma", variante de la cistatina C que inhibe a las proteasas cisteínicas, forma depósitos amiloides en la hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo Islándico (HCHWA-I); la gelsonina es responsable de la hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo Finlandés (HCHWA-F); la beta 2-microglobulina se ha asociado con el amiloide de la hemodiálisis; la proteína priónica de las infecciones virales no convencionales es la causa de la enfermedad de Creutzfeld-Jacob, el síndrome de Gerstmann-Straussler, el kuru y la encefalitis espongiiforme.

Lesiones cerebrales en la enfermedad de Alzheimer.

Las redes neurofibrilares son depósitos intraneuronales que circundan al núcleo y pueden tener forma espiralada. Es frecuente encontrarlas en el hipocampo y en las vías que lo conectan con áreas de la corteza, ganglios basales, tálamo e hipotálamo; esto puede ser una de las causas de la pérdida de la memoria. Las redes se han observado, además, en las neuritas o

procesos neuronales engrosados y en neuropilo, mediante técnicas argénticas, luz polarizada, fluorescencia o microscopía electrónica. Usando este último procedimiento, se descubrió que las redes consistían en fibras pareadas, enroscadas helicoidalmente, con una vuelta cada 80 nm. Se les denomina filamentos helicoidales pareados o PHF; se enrollan hacia la izquierda (son levógiros) y están formados por subunidades dispuestas transversalmente que tienen un peso aproximado de 100 kDa y una porción central con tres dominios; con técnicas de difracción de rayos X se observó una conformación en lámina beta-plegada. Los estudios más recientes muestran la relación entre proteínas asociadas a microtúbulos y los filamentos pareados. Existen dos proteínas principales, la ubiquitina y la TAU. La primera se adhiere normalmente a microtúbulos de células ya viejas, que deben ser marcadas para proteólisis; la proteína TAU es una molécula muy heterogénea por dos razones principales: posee varias isoformas y puede ser fosforilada en múltiples sitios, algunos de los cuales inciden sobre la adhesión de TAU a los microtúbulos. El gen que codifica para TAU está activo en las neuronas; TAU puede ser importante en la elongación de procesos neuronales. Esta proteína tiene la capacidad de polimerizarse y formar filamentos, de acuerdo con la isoforma y el grado de fosforilación. La isoforma A68 está relacionada con los filamentos helicoidales presentes en las redes neurofibrilares de neuronas en las que, curiosamente, el citoesqueleto está disuelto. Por ello, se supone un papel importante en la patología de EA de las cinasas que fosforilan TAU. La hiperfosforilación de TAU ocasionaría: a) su separación de los microtúbulos neuronales; y b) su adhesión a los PHF. Los axones y dendritas engrosados de las neuritas se podrían deber a la polimerización subsecuente de TAU. Al analizar detenidamente los PHF, se identificó al componente más importante de las redes neurofibrilares, el amiloide beta o proteína A4; más adelante se le revisará con relación a la génesis de la EA.

Por otra parte, las lesiones extracelulares (neuritas y agregados amiloides vasculares) también presentan la proteína A4. Las placas amiloides o neuritas consisten en un núcleo compacto de fibras amiloides de 6 a 10 nanómetros, dispuestas en forma radial, rodeadas por procesos neuríticos engrosados y degenerados, llenos de PHF, cuerpos multilaminares, vesículas y cuerpos densos. Entre los procesos neuronales se encuentran células de la glía en las mismas condiciones de destrucción. La creación de la placa depende de la velocidad de infiltración, condensación y cristalización

de la proteína A4. Un dato muy curioso es la presencia de placas sin redes neurofibrilares en los procesos neurales dañados de varios mamíferos, especialmente en individuos de edad avanzada.

El tiempo que tarda en formarse la placa puede deducirse a partir de la racemización de dos aminoácidos: el ácido aspártico y la asparagina. Estos L-aminoácidos pasan a su forma D (dextrógira) en una proporción de casi 0.15% al año; por lo tanto, si se observa que el 5% del aspartato se encuentra en su forma D en las placas obtenidas postmortem de sujetos con EA, la placa se habrá desarrollado por aproximadamente 30 años.

En más del 90% de los pacientes con EA se encuentran depósitos de fibras amiloides similares a las placas en las paredes de las venas y arterias de la leptomeninges y de la corteza cerebral. Se conocen siete patologías en las que se presenta amiloide acumulado en las paredes vasculares, cuatro de estas entidades cursan con concentraciones exclusivamente cerebrales: EA, síndrome de Down (su relación con EA será tratada más adelante) y dos tipos de hemorragia cerebral hereditaria: el Holandés y el Islandés. También en las lesiones vasculares de EA se descubrió la proteína A4.

Génesis de la enfermedad de Alzheimer. Se conoce poco acerca de la etiología de la EA. No se ha logrado implementar un modelo animal que satisfaga los parámetros de la enfermedad en el ser humano, tampoco hay un método diagnóstico exacto y, por supuesto, es muy pronto para hablar de tratamientos curativos. Se han propuesto varias hipótesis acerca de los factores que desencadenan la patología. Aquí se revisan las más importantes y se hará énfasis en la biología molecular del amiloide y de su precursor, y en la genética de este último.

a. **Agentes infecciosos.** Varias encefalopatías degenerativas del ser humano y de otros mamíferos son causadas por una proteína infecciosa denominada prión; su origen es incierto, aunque se ha localizado un gen que codifica para un prión en la región terminal del brazo corto del cromosoma 20. No se sabe si corresponde a la inserción o incorporación de DNA viral al genoma humano o si la proteína es un componente normal del organismo. Entre las entidades provocadas por el prión ("Protein infectious agent") se cuentan el kurú, la enfermedad de Creutzfeld-Jakob y el síndrome de Gerstmann-Straussler. Mediante técnicas de DNA complementario (cDNA), en las que se contruyen

sintéticamente oligonucleótidos que corresponden a la cadena complementaria de DNA al "molde" a partir del cual se sintetiza el mRNA que será traducido para elaborar la proteína en cuestión, se encontró una asociación entre la presencia de un prión y la activación de una zona del cromosoma 20 en pacientes con EA; sin embargo, toda relación permanece como hipótesis.

b. Agentes neurotóxicos. El factor causal tóxico más relacionado con la EA es el aluminio. Existe evidencia entre el incremento de la concentración de aluminio en el cerebro y el envejecimiento; también se ha encontrado aluminio en las placas neuríticas y en las redes neurofibrilares. La patogénesis podría comenzar con la ingestión, inhalación o absorción de aluminio. Sin embargo, no existen lesiones tipo Alzheimer en pacientes que han sufrido una intoxicación por aluminio; tampoco aparecen en individuos que laboran en fábricas de aluminio. Es más probable que la presencia del metal se deba a un acoplamiento secundario a la acumulación de amiloide.

c. Incompetencia de la barrera hematoencefálica por angiopatía. Las lesiones intravasculares provocadas por el amiloide pueden dar lugar a varias alteraciones características de la EA. El depósito de A4 en vasos cerebrales puede originar nodulación y engrosamiento irregular de éstos, además de la desaparición de la organización de las fibras nerviosas de la pared de venas y arterias encefálicas. La denervación y las alteraciones morfológicas dan como resultado el compromiso de la barrera hematoencefálica, lo cual implica entrada de proteínas séricas al sistema nervioso central. Se ha logrado aislar una proteína de 250,000 daltons en las placas neuríticas de pacientes con EA.

d. Deficiencia de neurotransmisores y receptores en el SNC. El hallazgo de la baja concentración de acetiltransferasa de la colina en pacientes con EA llevó a pensar que la patología se podía deber a una deficiencia de la enzima sintetizadora del neurotransmisor, a la falta de ésta por agotamiento de las reservas del neurotransmisor, o bien que una degeneración retrógrada por lesiones en el núcleo basal de Meynert era responsable de los síntomas. Las deficiencias de neurotransmisores no son exclusivas del sistema colinérgico, también incluyen niveles tisulares bajos de norepinefrina, GABA, serotonina, dopamina, glutamato y varias otras sustancias de naturaleza peptídica. Asimismo, hay un menor número de receptores para serotonina, glutamato y somatostatina en la corteza cerebral. Se presume que

más que la causa, estas deficiencias son resultado de daño celular previo.

e. Defectos del genoma mitocondrial. El estudio del genoma circular de la mitocondria ha dado pie al surgimiento de hipótesis acerca del envejecimiento y enfermedades afines. Todas ellas se basan en el deterioro paulatino de la capacidad de los mecanismos de fosforilación oxidativa. Existe un umbral en esta capacidad bajo el cual pueden aparecer síntomas de diversas patologías crónico-degenerativas. El genoma de la mitocondria consiste en una molécula circular de 16,569 pares de bases que codifica, entre muchas otras proteínas, para 13 subunidades de la fosforilación oxidativa. En cinco de cada seis pacientes con EA se han encontrado defectos en el complejo IV de la fosforilación oxidativa en plaquetas; dicho complejo comprende 13 polipéptidos, tres de ellos codificados en el DNA mitocondrial (CO I, CO II, CO III). Ello induce a pensar que por lo menos algunos casos de EA pueden darse por defectos de la citocromo c oxidasa plaquetaria. Debe recordarse que, ya que en la fecundación sólo penetra el DNA espermático, la herencia mitocondrial es matrilineal.

La proteína A4, su precursor y el gen que los codifica. Ya desde 1927 se sabía que la frecuencia de presentación de placas de amiloide era directamente proporcional al grado de demencia. Posteriormente se aisló el componente principal del amiloide, la proteína beta o A4 (el "4" es el número de kilodaltons que generalmente pesa el polipéptido). Dicha proteína es parte de un precursor que, por su estructura y localización, se supone es un receptor transmembranal tanto del plasmalema (membrana celular) como de la membrana de varios organelos. Antes de continuar con la anatomía del precursor de amiloide (APP) y del gen que lo codifica, es necesario mencionar algunas técnicas de ingeniería molecular. Primero, si se tiene un complejo multiproteico, como es la placa neurítica aislada de pacientes con EA, se procede a disociar los polipéptidos y demás sustancias para obtener los componentes por separado; en el caso del amiloide, fue difícil por la insolubilidad de las constituyentes de las placas. Se llevó a cabo la purificación de los elementos del amiloide por medio de métodos de inmunología (identificando cada componente por los anticuerpos que generaba en distintos medios), por degradación enzimática a base de proteasas, por fragmentación con ácido fórmico. Después de varios intentos, tan heterogéneos como los mencionados, se obtuvo la proteína A4. Se prosiguió con su secuenciación por métodos convencionales. Posteriormente, con base en la cadena de aminoácidos

dilucidada, se obtuvieron oligonucleótidos, (mRNA, DNA complementario), que representarían fragmentos del gen del cual se originó la proteína; los fragmentos debían ser (como se indica en su nombre) complementarios a la cadena "modelo" o "templado" de DNA. ¿Qué fin se perseguía con esto? Conocer la localización del gen en distintas líneas celulares de diversos tejidos y determinar su situación espacial en el genoma; es decir, su ubicación cromosómica. Sobre lo primero, se vio que existía mRNA producto de la transcripción del gen del precursor de A4 (APP) no sólo en el cerebro sino también en el bazo, el timo, el páncreas, el músculo, el riñón, el hígado, el pulmón, el intestino delgado, el corazón y las glándulas suprarrenales.

En células híbridas murino-humanas se llevó a cabo un análisis Southern ("Southern blott"). Este consiste en someter el DNA a la acción de enzimas de restricción que son capaces de reconocer secuencias específicas en las cuales cortan la cadena de ácido nucleico. Los múltiples fragmentos obtenidos se colocan en una membrana de nitrocelulosa; posteriormente, se agrega el cDNA o cmRNA que corresponde en la cadena complementaria al templado que codifica para el gen buscado; estas "sondas" moleculares se marcan con ³²P para identificación. Después de unirse o "hibridizar" con la secuencia buscada, se coloca una película fotográfica sobre la placa de nitrocelulosa; aparecen puntos "velados" en el sitio bajo el cual quedó el gen buscado hibridizado con su sonda molecular marcada. El método Southern fue ideado, en 1975, por E.M. Southern en Escocia. Surgió después otra técnica que utilizaba RNA complementario en lugar de cDNA, se le llamó, para distinguirla de su predecesora, "Northern". Mediante ambas pruebas, se localizó el gen que codifica para el APP en el brazo largo del cromosoma 21 (21q11.2-21q21; es decir, de la banda 11.2 a la 21).

Actualmente se sabe que la proteína precursora del amiloide A4 presenta variaciones morfológicas; se han aislado isoformas de 695, 751 y 770 aminoácidos. El polipéptido tiene la forma característica de un receptor membranal susceptible a glicosilación; su porción intracitoplasmática corresponde al extremo carboxilo y es bastante corta; por el contrario, la porción extramembranal, el extremo amino, consta de más o menos 700 aminoácidos. Recientemente se ha descubierto que la porción COOH aparece en el exterior de la membrana de ciertos organelos, por lo que se deduce que la proteína precursora puede fungir como receptor intracelular. Cerca del extremo NH₂

(desde donde, por convención, se numera a los residuos de aminoácidos) se encuentra una secuencia similar a las que poseen los polipéptidos de la familia Kunitz de inhibidores de la serín-proteasa. El dominio en cuestión posee 56 residuos de aminoácidos y comienza en el residuo 289; es 50% idéntico a la aprotinina, un inhibidor de la tripsina pancreática bovina, y al inhibidor de la inter-alfa-tripsina humana. Más adelante, antes del comienzo de la porción A4, se encuentran dos sitios potenciales de glicosilación que podrían intervenir en la función del APP como receptor. En el residuo 671, que corresponde a una metionina, comienza la proteína A4 o A-beta P; sus 42 ó 43 residuos de aminoácidos (raa) incluyen un sitio de rompimiento interior y el aminoácido cuya mutación implica la aparición de hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D). Los últimos 14 raa son intramembranales. Del residuo 716 en adelante sólo hay 10 raa en la membrana; entre ellos, sobresale la valina 717, que puede ser substituida por isoleucina, glicina o fenilalanina por una mutación en el gen que codifica APP. Esta mutación es de suma importancia, pues se ha encontrado correlación entre ella y la EA familiar. Los raa 757, 759, 760, 761, 762 y, tal vez, 763 conforman una secuencia "blanco" para degradación lisosomal; ésta se describirá con el procesamiento del APP.

Para conocer los diversos productos de rompimiento del APP (que dependen de los sitios de rompimiento de la molécula), se han utilizado células de rápido crecimiento, como fibroblastos, células renales embrionarias y células de feocromocitoma. En ellas, mediante técnicas complejas, se "transfecta" el gen; es decir, se incorpora artificialmente la secuencia que codifica para la proteína en estudio a la cadena de DNA de la célula "huésped". Se observó que todas las isoformas llevaban, en el extremo NH₂, una secuencia de inserción al retículo endoplásmico. En varias células ocurrió un rompimiento entre la lisina 687 y la leucina 688, dando un fragmento de 9 kDa. Como dicho segmento incluye la proteína A4, se presume que un exceso de producción implicaría tal vez el depósito de amiloide característico de EA. El fragmento NH₂ producido por el rompimiento pesa casi 100 kDa y es secretado; se le identificó como la proteasa nexina II.

Se sabe que el APP se desplaza centrífugamente por el axón, por lo que se presume una asociación con organelos que se mueven mediante un mecanismo tubular; es decir, por un "motor" de microtúbulos. También se ha dilucidado otra forma de

procesamiento del APP. Su descubrimiento se basa en el rápido transporte axonal mencionado. En células de riñón embrionarias se produjeron derivados de 8 a 12 kDa del extremo COOH suficientemente grandes como para incluir a A4; otro fragmento de 22 kDa también fue identificado. Todos estos residuos han sido encontrados tanto en cerebros estudiados postmortem como en vasos cerebrales de pacientes con EA. Al someter las células a cloruro de amonio, un inhibidor de la proteólisis endosomal-lisosomal, disminuyó considerablemente la formación de estos fragmentos; el mismo efecto fue provocado por la leupeptina. Al parecer, la secuencia de degradación es responsable de la internalización del APP desde la membrana plasmática hacia un complejo lisosomal, tanto en neuronas como microglia y astrocitos; sin embargo, esta hipótesis no explica el depósito extracelular de amiloide. Parece que los lisosomas, después de llevar a cabo su acción degradadora, son reciclados (por lo menos su membrana) y van a la membrana plasmática, incorporándose a ella al tiempo que secretan los residuos de la lisis. Esto podría dar cuenta de los depósitos en las placas neuríticas y en los vasos cerebrales.

La endocitosis permite internalizar el 50% de la membrana celular cada hora; debe haber, empero, una selección cuidadosa de los elementos que deben degradarse y de la forma de procesarlos. Las secuencias de internalización juegan un papel vital aquí, pues indican no sólo la molécula a ser degradada sino el momento y el tipo de fragmentación. En el caso de APP, la porción citoplasmática posee la secuencia Asn-Pro-X-Tyr, mediante la cual es reconocida para lisis. La tétrada es parecida a las secuencias de internalización de receptores de lipoproteínas de baja densidad, de manosa 6 fosfato y de transferrina; en otros casos, las secuencias protegen a las proteínas de la endocitosis; el receptor para la porción Fc de las inmunoglobulinas depende de porciones que les permiten anclarse al citoesqueleto, previniendo su procesamiento. Con relación a APP, su interacción con los microtúbulos citoplasmáticos puede ser modulada por el grado de fosforilación, que parece también influir en la cantidad de fragmentos COOH producidos, lo cual implica mayor cantidad de A4 susceptible a agregarse. El modelo de interacción entre APP y el citoesqueleto puede ser la relación entre el antígeno relacionado con la función leucocitaria-1 (LFA-1) y la talina, una proteína asociada a la actina.

El gen que codifica para APP se encuentra en el brazo largo del cromosoma 21, en la región próxima al

centrómero. En el ratón, el modelo molecular es el cromosoma 16, que corresponde (en cuestión de los genes localizados ahí) al 21 humano. En él se han llevado a cabo investigaciones sobre los efectos de la mutación del gen para APP en la génesis de EA. La expresión de APP es una función del grado de diferenciación y desarrollo de las células; esto implica que no existe regulación de la expresión del gen dependiente de la dosis de la proteína expresada, sino más bien de otros factores. El control de la expresión de APP se considera un ejemplo de trans-regulación. En las células del endotelio vascular, la producción de APP puede aumentar después de administrar interleucina 1. Dos secuencias heptaméricas en el promotor de APP (la región del gen anterior a la secuencia que se transcribe, o cistrón, y en donde se fijan distintas moléculas que aumentan o disminuyen la transcripción) semejan el sitio de unión AP-1 (importante en la regulación de varias familias de genes). También se ha encontrado una secuencia nucleotídica similar al elemento de control del choque térmico.

Las mutaciones en el APP son extremadamente raras. La más importante, por su relación con EA, es el cambio de una citosina por una timina en el par de bases 2149 del exón 17. El descubrimiento de esta mutación por Goate y Hardy, junto con otros investigadores, desencadenó una serie de pesquisas que intentaban relacionar la mutación con la aparición de EA. Desafortunadamente, la búsqueda resultó infructuosa. Dos investigaciones, una de Tanzy y otra de Schellenberg (esta última en 76 familias en las que se ha reconocido EA familiar, 127 casos "esporádicos", 16 casos de síndrome de Down y 256 controles) encontraron en sólo tres miembros de una familia con EA familiar (EAF) la mutación en el exón 17. Esto lo lograron con técnicas de digestión del DNA con enzimas de restricción. Como se conoce el número y peso de los fragmentos de DNA producidos a partir de la digestión del gen estudiado normal, cualquier mutación que implique la aparición de un sitio de rompimiento anormal y que, por lo tanto, conlleve a la creación de fragmentos de peso molecular distinto al de los parámetros, será identificada. Se ha propuesto que la confusión entre APP y EA (recuérdese que ambos se han localizado en el cromosoma 21) se puede dar ya sea por errores de diagnóstico, por ausencia de una línea padre-hijo (no paternidad) o por fenocopia (copia de un fenotipo generalmente determinado por un genotipo específico; dicha copia aparece más bien por la acción de un factor ambiental con otro genotipo). También se intentó verificar si era posible una mutación en el gen que codifica para la

proteína priónica (cromosoma 20) y el resultado fue negativo; sin embargo, estos estudios han producido gran cantidad de información relevante para otras patologías. A comienzos de 1992 se descubrió una sustitución alanina→valina en el codón 713 del APP de un paciente con esquizofrenia crónica. Asimismo, se ha encontrado cierta relación entre el oncogen ETS2, el APP y la EA.

El análisis de "ligamiento" o "linkage" consiste en observar la tendencia de ciertos genes de segregarse juntos, por estar adyacentes en el mismo cromosoma. Este tipo de análisis ha sido muy usado para intentar relacionar el gen de la EAF con el de APP; los resultados son sumamente interesantes. Se encontró una relación entre el cromosoma 21 y la EAF de comienzo temprano (anterior a los 65 años) y entre el cromosoma 19 y la EAF de comienzo tardío (después de los 65 años). El mejor modelo de herencia, en ambos casos, es el de herencia mixta con un alelo principal de dominancia parcial; se descartan los modelos de herencia recesiva, componente multifactorial, un sólo locus y carencia de influencia genética.

Una de las evidencias principales de la relación entre EA y el cromosoma 21 se observó en los pacientes con síndrome de Down (SD) que sobrevivían después de los 40 años; en ellos aparecen los mismos síntomas y signos y las mismas lesiones que en pacientes con EA. El SD tiene como base la no disyunción del cromosoma 21 durante una de las etapas de la meiosis en la gametogénesis de alguno de los padres del afectado. Se ha postulado que al haber tres cromosomas 21 aumenta la concentración de alguna de las proteínas codificadas en dicho cromosoma, especialmente la superóxido-dismutasa (SOD). Esta enzima genera peróxidos y radicales libres de oxígeno que son muy destructivos para las células: oxidan el glutatión, afectan la hemoglobina, destruyen grasas, en especial la vaina de mielina neural, y afectan el metabolismo en su totalidad. Surge la hipótesis que propone otro tipo de daño común al SD y a la EA. Existen individuos denominados "mosaicos" por presentar conglomerados celulares con genomas distintos a los del resto de las células del organismo; en estos casos, las diferencias se explican por una variación en la mitosis posterior a la fecundación, ya que una variación en una sola célula precursora embrionaria da como resultado que toda su progenie presente el cambio. Si se habla a nivel cromosómico, se entiende que el sujeto presentará células euploides (con el número normal de cromosomas) y aneuploides (con un número anormal). Puede ocurrir entonces

una no disyunción a distintos niveles de la diferenciación embrionaria. Si el error en la separación cromosómica ocurre en edad embrionaria temprana, habrá mayor número de células aneuploides y, por consiguiente, mayor cantidad de cromosomas 21 con genes para APP; en este caso, el comienzo de la EA podría ser temprano. Por otra parte, si el error en la mitosis ocurre posteriormente no habrá tantas células aneuploides y el comienzo de la patología será tardío.

El futuro. Son evidentes las pistas que se pueden explorar con respecto a la biología molecular de la enfermedad de Alzheimer. Uno de los muchos caminos consiste en verificar la acción de A4, ya sea como receptor, porción de receptor intra o extracelular, o como ligando. Ya se sintetizaron fragmentos peptídicos homólogos a algunas porciones de A4. Con un segmento compuesto por los primeros 28 raa de A4 introducido a neuronas del hipocampo se vio la posibilidad de una interacción de A4 con el genoma neuronal, ya que el oligopéptido presentó actividad neurotrópica aún mayor que la del factor de crecimiento neuronal. Por otro lado, A4 se une al receptor del complejo enzimático de la serpina. La actividad tóxica de A4, y de otros fragmentos del APP, puede afectar directamente a la membrana plasmática; existe una porción de A4 similar a la secuencia de las cecropinas, compuestos bactericidas que forman canales en la membrana bacteriana. Además, en células transfectadas con el precursor apareció degeneración intracelular ligada a la presencia de varios residuos de APP.

Con respecto al tratamiento, hay posibilidades de que pueden ser sintetizados anticuerpos contra varios fragmentos producidos por el rompimiento anormal de APP. También hay avances en el diagnóstico. Talamo y col. han encontrado cambios patológicos en el epitelio sensorial nasal de pacientes con EA; este tejido es accesible para realizar biopsias ante mortem y oportunamente.

Las investigaciones futuras deben ir encaminadas hacia la síntesis de los diversos factores etiológicos de la EA y es imperante comprender lo que desencadena las lesiones neuríticas. Asimismo, saber si existen variaciones independientes de las mutaciones en APP y el papel del APP unido a la membrana de los organelos. No se puede dejar a un lado la importancia de la no disyunción y la relación entre EA y SD, especialmente por el hecho de que varias familias con EAF tienen un número por arriba de lo esperado de hijos con SD. Si se encuentra trisomía 21 como

mosaico en pacientes con EA, deben aparecer otras anomalías típicas de SD, como hipersensibilidad a los agonistas colinérgicos. También debe aprovecharse la innovación del conteo cromosómico en interfase para agilizar la detección de mosaicos.

Lecturas recomendadas

1. Alberts B y col. *Molecular Biology of the Cell*. 2a. ed. New York: Garland Publishers, 1989;557, 652.
2. Biney R, Janson M. *The rand-McNally atlas of the body and mind*. Chicago: Mitchell Beazly Publishers, 1976;180.
3. Farrer LA. y col. Segregation analysis reveals evidence of a major gene for Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 1991;48:1026-33.
4. Cormack DH. *Ham's histology*. 9a. ed. New York: J B Lippincot, 1987;350.
5. Glenner GG. The pathobiology of Alzheimer disease. *Annu Rev Med*. 1989;40:45-51.
6. de Grouchy J, Turleau C. *Clinical Atlas of Human Chromosomes*. 2a. ed. New York: John Wiley & Sons, 1984;324-36.
7. Haines JL. The genetics of Alzheimer disease. A teasing problem. *Am J Hum Genet* 1991;48:1021-5.
8. Kosik KS. Alzheimer disease: A cell biological perspective. *Science* 1992;256:780-3.
9. McKusik VA. *Mendelian Inheritance in Man*. 9a. ed. Baltimore The Johns Hopkins University Press, 1990;LXVI, CVII, 38, 43.
10. Muller-Hill B, Beyreuther K. Molecular biology of Alzheimer disease. *Annu Rev Biochem* 1989;58:287-307.
11. Pericak-Vance MA. y col. Linkage studies in familial Alzheimer disease. Evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 1991;48:1034-50.
12. Salamanca F. *Citogenética Humana. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. México: Editorial Panamericana, 1990;75.
13. Schellenber GD y col. Linkage analysis of familial Alzheimer disease using chromosome 21 markers. *Am J Hum Genet*. 1991;48:563-83.
14. Schellenber GD y col. APP⁷¹⁷, APP⁶⁸³, and PRIP gene mutations are rare in Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 1991;49:511-7.
15. Tanzi RE. Gene mutations in inherited amyloidopathies of the nervous system. *Am J Hum Genet* 1991;49:507-10.
16. Tanzi RE y col. Assessment of amyloid-beta protein precursor gene mutations in a large set of familial and sporadic Alzheimer disease cases. *Am J Hum Genet* 1992;51:273-81.
17. Vogel F, Motulsky AG. *Human Genetics. Problems and Approaches*. 2a. ed. Berlin: Springer-Verlag 1986;141-393.
18. Wallace DC. Mitochondrial genetics: A paradigm for aging and degenerative diseases? *Science* 1992;256:628-32.
19. Williams RC. *Molecular biology in human medicine* Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1991;354.
20. Wilson JD. y col. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 12a. ed. New York: McGraw-Hill, 1991
21. Sapiolsky RM, Finch CE. On growing old. *The Sciences* March/April 1991;30.
22. Corbett J. Is Down's syndrome a progressive condition? *J Royal Soc Med* 1985;78:499-502.
23. Potter H. Review and hypothesis. Alzheimer disease and Down syndrome-chromosome 21 nondisjunction may underlie both disorders. *Am J Hum Genet* 1991;48:1192-200.
24. Schellenberg GD y col. Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992;258:688-71.
25. Alzheimer A. *All Z Psychiatr Psych Gerichtl Med*. 64:146-8.