

HISTOPATOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

*Raúl Mena López
José Luna Muñoz
Francisco García Sierra
Mario Hernández Alejandro*

HISTOPATOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia en los adultos mayores. En la actualidad se estima que hay 18 millones de casos en todo el mundo, En los próximos 30 años se espera que dos tercios de los casos de demencia habiten en países en desarrollo. La EA puede ser de tipo familiar (inicio temprano) o esporádico (inicio tardío). La EA de tipo familiar se debe a tres genes diferentes localizados en los cromosomas 14, 1 y 21, respectivamente. La EA de tipo esporádico hace su aparición a partir de los 65 años de edad. Este tipo de Alzheimer ha sido asociado con factores de riesgo de diferente naturaleza: el envejecimiento, genes de susceptibilidad y el ambiente. En la actualidad es pobre el conocimiento que se tiene de las formas en que estos factores interaccionan para desarrollar la EA en la edad adulta. No obstante desconocerse las posibles causas de la enfermedad ésta está bien caracterizada por el tipo de evolución clínica y los cambios histopatológicos que caracterizan al cerebro de los pacientes. A nivel histopatológico la EA se caracteriza por la presencia de densas acumulaciones de estructuras fibrilares conocidas como placas neuríticas, PN, marañas neurofibrilares, MNFs e hillilos del neropilo. Las PB están compuestas de un núcleo fibrilar de amiloide β rodeado por neuritas distróficas, Las NFTs representan acumulaciones masivas de polímeros anormales referidos como filamentos helicoidales apareados. La proteína asociada a los microtúbulos, tau, es el componente estructural más importante de los FHAs. La proteína tau asociada a los FHAs presenta cambios conformacionales patológicos definidos principalmente por hiperfosforilación y truncamiento del extremo carboxilo (protéolisis endógena). Se detallan los mecanismos moleculares que involucrados en los cambios patológicos de la proteína tau en la EA. El estudio de la histopatología molecular de la EA en México ha sido posible gracias al banco de cerebros que se estableció en el CINVESTAV des 1994. Esta revisión incluye una secuencia temporal de los cambios que llevan a la formación de las MNF, desde los agregados citoplásmicos de la proteína tau hasta la eventual formación de las MNFs que conllevan a la muerte de la neurona. La clave para encontrar un posible tratamiento para los casos de Alzheimer depende del entendimiento del procesamiento patológico de la proteína tau y de la eventual formación de los FHAs.

Palabras clave: Amiloide , enfermedad de Alzheimer, Demencia, Histopatología, proteína tau.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the commonest cause of dementia in the elderly. It has been estimated that dementia affects nearly 18 millions people throughout the world. Over the next 30 years it is expected that two third of cases will be living in undeveloped countries. AD can be classified as familial (early onset) and sporadic (late onset). The familial form of AD is associated with three different genes located in chromosomes 14, 1, and 21, respectively. The sporadic AD affects old people from 65 years of age and older. This form has been associated with three main risk factors: aging, genes and environment. At the present, it is poorly understood the way how these factors interact to develop the disease. Regardless of the possible causes underlying AD, clinical dementia evolution follows a well characterized patters. Histopathologically AD is characterized by the accumulation of fibrillar structures namely neuritic plaques (PN), neurofibrillary tangles (NFTs), and neuropil threads. These structures appear mainly distributed in hippocampus and neocortex. Densities of these lesions correlate with dementia status. NP is composed by a core of β amyloid fibers surrounded by large neurites. NFTs represent dense accumulation of abnormal intracellular polymers referred to as paired helical filaments (PHFs). The microtubule-associated protein tau is the main structural component of PHFs. PHF-associated tau is conformational modified. The main modifications of tau protein have been related to hyperphosphorylation and truncation. Details of the molecular mechanisms involved in these pathological modifications on the tau molecule is explained. Histopathological research in Mexico has been possible for the brain banking network that has been established at the CINVESTAV since 1994. This review includes a sequence of the temporal changes lead to NFT formation in AD from the early cytoplasmic tau aggregation to the eventual formation of NFTs resulting in the neuron death. The key to found a possible treatment for AD patients may depend upon the understanding of the molecular processing of tau and eventual formation of PHFs.

Palabras clave: Amiloide , enfermedad de Alzheimer, Demencia, Histopatología, proteína tau.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la cuarta causa de muerte en las naciones industrializadas. Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en personas mayores de 65 años aunque no son raros los casos en gente de menor edad. La enfermedad debe su nombre al médico alemán Alois Alzheimer quien en 1907 publicó en una revista médica el caso de una mujer de 51 años de edad que había muerto después de cuatro años de padecer una demencia muy grave. El estudio patológico del cerebro de esta paciente, evidenció una marcada atrofia de la corteza con el ensanchamiento correspondiente de las cisternas. Los cortes histológicos que habían sido teñidos con técnicas argénticas (se usan sales de plata) mostraron en el parénquima una abundante y masiva degeneración en la cual se destacaba dos tipos de estructuras particulares. Una de ella tenía forma de mancha por lo que fue nombrada placa senil y la otra se caracterizaba por su forma de "flama". Esta lesión fue denominada como ovillo o maraña neurofibrilar. Debido a que este caso fue la primera descripción detallada y formal de una demencia con posibles causas neurológicas puesto que había la grave atrofia cerebral con numerosas lesiones, tuvo como consecuencia que la comunidad médica de aquellos tiempos empezara a pensar que había un tipo de demencia que no podía ser explicado sólo por el envejecimiento normal, sino que representaba una verdadera entidad neurodegenerativa. Gracias a la contribución del Dr. Alzheimer, pocos años después se acordó que la enfermedad llevara su nombre.

En la actualidad su importancia es tal que el número de casos se estimó, en el 2002, en 18 millones. Aunque es más común en las naciones desarrolladas se espera que en menos de 30 años dos terceras partes de los casos de la EA en el mundo estarán en los países en vías de desarrollo, uno de ellos es México. En personas de 85 años la frecuencia de la enfermedad puede alcanzar entre un 40 y un 60%. Esto ocurre en los países desarrollados donde la esperanza de vida ha superado los 80 años de edad. Con esto, en los países que viven ya el llamado "invierno demográfico", la EA se presenta como un problema que supera la de los enfermos mismos, puesto que, además del impacto económico que representa para los gobiernos, la enorme carga para las familias y los cuidadores, es una limitante para que estas naciones aumenten su esperanza de vida.

Este artículo revisa el estado actual de los estudios de histopatología molecular de la enfermedad de Alzheimer. Para su mejor comprensión se incluye una parte suscita acerca de la genética y la clínica de la enfermedad. Todo el material con que se ilustra este artículo fue obtenido del estudio del tejido cerebral de casos de Alzheimer que fueron donados por las familias de los casos al Banco de Cerebros del CINVESTAV-IPN. El material, como indicará en los pies de figura, corresponderá a dobles y triples marcas con anticuerpos dirigidos contra diferentes regiones de la proteína así como el amiloide β y observados con los microscopios confocales MRC-600 (Bio-Rad, Departamento de Neurociencias) y TCS-SP2 (Leica, Deptos. De Neurociencias y de Biología Celular) del mismo Centro.

GENÉTICA Y FACTORES DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La etiología de la EA se desconoce por lo que no se ha podido hasta ahora encontrar un tratamiento eficaz para tratar a los enfermos. Debido a su presencia, la EA puede llegar a representar hasta el 80% de los casos de demencia que no tienen tratamiento. A pesar de que se desconoce la causa determinante de la enfermedad, existen tres principales factores de riesgo que han sido identificados. El primero de estos factores es el envejecimiento. Sólo por el simple hecho de envejecer, a partir de los 65 años de edad la enfermedad de Alzheimer aparece y su presencia se duplica cada cinco años, los otros dos factores son de tipo genético y ambiental.

La presencia del alelo e4 de la Apolipoproteína E (APOE) es el principal factor de susceptibilidad genética que ha sido identificado. Los homocigotos e4/e4 tienen ocho veces más de riesgo de padecer la enfermedad que los que no tienen ese alelo. Esto quiere decir que la presencia del alelo e4 no produce la enfermedad, sino que sólo predispone a padecerla. Estudios recientes han demostrado que el alelo e4 también se asocia a susceptibilidad a demencia de tipo vascular y otras vasculopatías. El ambiente es considerado otro importante factor de riesgo para padecer la enfermedad de Alzheimer. La complejidad de determinar los factores ambientales en la población abierta ha limitado entender cómo interaccionan

este serie de factores. En general, se asume que ninguno de estos tres factores, aunque predisponen a la EA la pueden predecir.

La heterogeneidad genética de la EA se encuentra muy bien establecida. Hay subtipos de la EA producidos por lo menos por tres genes, lo que quiere decir que, en realidad, existen tres subtipos genéticos de la EA. Las mutaciones que producen la enfermedad familiar y que se heredan de manera autosómica dominante se han encontrado en los genes que codifican para la proteína precursora del amiloide β (cromosoma 21), presenilina 1 (cromosoma 14) y presenilina 2 (cromosoma 1). No obstante, la existencia de estos casos hereditarios, el número de los casos es muy bajo en comparación con los que se relacionan con factores de riesgo.

CLÍNICA DE LA EA

Clínicamente se caracteriza por la progresiva e irreversible deterioro de la memoria, de las habilidades para realizar hábitos rutinarios, de la orientación en tiempo y espacio, del lenguaje, del pensamiento abstracto y de la habilidad para aprender y efectuar cálculos matemáticos. Cada uno de las etapas del deterioro de la memoria y la pérdida de las funciones mentales superiores de la enfermedad se encuentran bien definidos clínicamente. La Fundación Mexicana para la Salud, en 1996, publicó una obra de consenso nacional para el diagnóstico de los padecimientos demenciales, donde se incluyen las generalidades más importantes acerca de los procesos demenciales incluyendo aspectos terapéuticos.

HISTOPATOLOGÍA

El diagnóstico definitivo de la EA se basa en el examen del tejido cerebral obtenido por autopsia. A nivel histopatológico la EA es un proceso neurodegenerativo que se caracteriza por la selectiva y progresiva muerte de las células neuronales en áreas cerebrales específicas, principalmente de la neocorteza y el hipocampo, lo que se refleja clínicamente por un estado demencial. El cuadro clínico de la demencia tipo Alzheimer se acompaña de la acumulación masiva de filamentos insolubles que tienen la conformación β -plegada las que definen dos tipos principales de lesiones: las placas neuríticas (PNs) y las marañas neurofibrilares (MNFs). El principal componente proteínico de fibrillas de las PNs es el péptido amiloide β y de las MNFs, la proteína tau. En general, cabe señalar que tanto la formación de las fibrillas del amiloide β de la PNs como las de las MNFs (a nivel ultra-estructural, estas lesiones representan densas acumulaciones de polímeros insolubles denominados filamentos helicoidales apareados, FHAs) representan los productos de un trastorno del plegamiento de proteínas que se caracterizan por proteólisis y cambios conformacionales. Esta serie de eventos moleculares llevan a la formación de polímeros insolubles de estructura plegada β . Estos cambios han sido atribuidos, entre otros factores, a modificaciones postraduccionales y a genes.

LAS PLACAS NEURÍTICAS, EL AMILOIDE β Y LA PROTEÍNA PRECURSORA DEL AMILOIDE β

Las PNs están formadas de dos componentes principales: un núcleo de amiloide β extracelular y un arreglo de terminales nerviosas degeneradas, de formas caprichosas, las neuritas distróficas, que pueden ser de naturaleza intracelular o extracelular dependiendo de su estado de degeneración. Estas neuritas envuelven al núcleo de la placa. Característicamente las PNs, están rodeadas de numerosas células gliales las cuales, de cierta forma, las encapsulan. La densidad de las PNs correlaciona con el grado de la EA. En los casos de Alzheimer, así como en los adultos mayores sanos y en ciertos primates, perros y osos, pueden encontrarse en el cerebro depósitos de amiloide β pero sin el componente neurítico. A diferencia de las PNs, este tipo de lesión, llamada placa senil, no correlaciona con la EA. Estos hallazgos han hecho sugerir que las placas seniles constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad, esto es, su presencia es necesaria pero no suficiente para el inicio de la enfermedad. Estudios recientes han sugerido que la participación del amiloide β en la fisiopatogénesis de la EA se atribuye más que al depósito de

fibrillas en la PNs, a su depósito en las paredes vasculares cerebrales, lo que conlleva a degeneración y microhemorragias. El grado de estos hallazgos ha sido correlacionado con la demencia.

El amiloide β es un péptido de un peso molecular de 4kD y tiene una longitud de 42-43 aminoácidos. Las dos especies principales del amiloide A β 40 y A β 42 se originan como producto de secreción normal de una proteína transmembranal muy grande llamada proteína precursora del β -amiloide (PPA β). Hay por lo menos tres isoformas diferentes del APP β , de 695, 751 y 770 residuos de aminoácidos, que se generan por un recorte alternativo del ARN mensajero que se deriva de un solo gen localizado en el brazo largo del cromosoma 21. La PPA β es un componente celular fisiológico de todos los animales y participa en diversas funciones de regulación y de adhesión.

Han sido descritos dos procesos de protólisis de la PPA β : uno amilodogénico y otro no amilodogénico. En ambos casos el primer paso de la proteólisis de la PPA β ocurre en su extremo amino por la acción de una **β secretasa**. En el proceso amilodogénico el segundo paso de proteólisis implica la acción de la **γ secretasa** que forma péptidos β de varias longitudes de los cuales los más importantes son 40 y 42 aminoácidos. La **α secretasa** participa en la llamada proteólisis no amilodogénica de la PPA β . Esta enzima corta entre los residuos 16 y 17 de la secuencia del amiloide β evitando su formación. La identidad de las secretasas involucradas en el procesamiento de la PPA β ha sido definida para la β secretasa la cual corresponde a una asparto-proteasa transmembranal, llamada Asp-2; y la γ secretasa parece ser la presenilina 1 y la α secretasa, una metalo-proteinasa y desintegrina de la familia de las ADAM llamada ADAM10.

LAS MNFS, LOS FILAMENTOS HELICOIDALES APAREADOS Y LA PROTEÍNA TAU

El número de MNFs observadas en la histología post-mortem de los casos de Alzheimer correlaciona con la severidad y duración de la demencia. Las MNFs pueden ser de dos tipos: **intracelulares** y **extracelulares** dependiendo si se encuentran dentro de la neurona o en el espacio extracelular con la muerte de la misma. Existen formas que evolucionan conforme la MNFs pasa de un estado a otro. Cabe aclarar que las neuritas distróficas también forman parte de la degeneración fibrilar de las células neuronales. Las **neuritas** se forman de la acumulación de filamentos anormales en las terminales de la célula, axones y dendritas. Por otra parte, las **MNFs** se forman en el cuerpo neuronal, en la región perinuclear, de ahí su forma típica.

En la EA la **evolución de la formación neurofibrilar en el hipocampo**, las MNFs aparecen primero en la zona transicional (transentorrinal) y su adyacente capa II de la corteza entorrinal, que se localizan en la circunvalación del parahipocampo, en el lóbulo temporal. Este daño es crítico para entender la fisiopatología de la EA, puesto que las células neuronales de la capa II de la **corteza entorrinal** son una zona de relevo donde llegan los axones de las áreas asociativas de la neocorteza. Los axones de la capa II llegan al hipocampo, a través de una vía definida llamada vía perforante, y entonces hacen sinapsis con las neuronales piramidales del hipocampo. Una vez procesada la información, los axones del hipocampo hacen sinapsis de salida con la capa IV de la corteza entorrinal y de ahí se envía la información hacia toda la neocorteza. En otras palabras, la conexión sináptica de la neocorteza y el hipocampo está limitada a la corteza entorrinal. En la EA, al encontrarse destruidas estas dos capas, "desconecta" estas dos importantes zonas del cerebro. La concomitante destrucción del hipocampo crea una **desconexión completa con las áreas asociativas** de la neocorteza.

Las MNFs están constituidas de **filamentos helicoidales apareados** (FHAs) y la **proteína tau** es su principal componente estructural. La proteína tau es una proteína termoestable que forma parte del grupo de las denominadas MAPs (del inglés, Microtubule Associated Protein), la cual es capaz de asociarse a la tubulina. La función específica de tau, al igual que otros tipos de MAPs, es promover el ensamble y estabilidad de los microtúbulos que forman parte del citoesqueleto de las células nerviosas. La proteína tau presenta 6 diferentes isoformas, con un peso molecular aproximado de 50-64 kD. Las diferentes isoformas de tau presentes en las células del sistema nervioso poseen una longitud promedio de 352-441 aminoácidos, en función de la presencia o ausencia de **tres secuencias inserto**. En dirección del extremo carboxilo, en todas

las isoformas de tau, se presentan tres o cuatro segmentos repetidos los cuales constituyen la parte más importante de la molécula ya que es la región que tiene **afinidad por la tubulina**. La proteína tau regula el grado de ensamble de la tubulina mediante ciclos de fosforilación y defosforilación. Esta función permite el adecuado funcionamiento del transporte axoplásmico y la contacto entre las neuronas. Los FHAs son polímeros organizados como un **filamento doble helicoidal enrollado** sobre sí mismo con periodicidades de 80 nm entre cada punto de entrecruzamiento. A través de imágenes computarizadas de cortes transversales de los FHAs se demostró que su núcleo está constituido por dos **subunidades estructurales** unidas entre sí, cada una consiste de tres dominios estructurados en **forma de una "C"**. Los FHA también se caracterizan morfológicamente por poseer sitios de unión al colorante fluorescente **rojo tiazina**, el cual ha sido extensamente usado en nuestro laboratorio para monitorear el grado de ensamble de la proteína tau en FHAs. Fue en 1988 cuando se descubrió que la proteína tau era la subunidad misma del FHA.

CAMBIOS CONFORMACIONALES ASOCIADOS A HIPERFOSFORILACIÓN Y TRUNCAMIENTO EN LA NEUROPATOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La proteína tau asociada a los FHAs presenta una serie de modificaciones postraduccionales relacionados con cambios conformacionales progresivos, de las cuales la hiperfosforilación y la proteólisis endógena son las mejor caracterizadas y al parecer relacionadas directamente con la formación de los filamentos. Las figuras 28-35 ilustran una **secuencia de cambios que la neurona va sufriendo** por la degeneración neurofibrilar, desde los eventos iniciales hasta la muerte de la célula la cual da origen a las MNFs extracelulares. La ulterior destrucción de éste en el espacio extracelular forma estructuras parecidas a placas que están formadas del núcleo del FHA (ver explicación más abajo).

Los estudios llevados a cabo en los últimos años han demostrado que **el FHA consiste de dos partes**: un núcleo altamente insoluble que pesa 12-kDa (90 a 92 aa's) y que corresponde a la región de repetidos del extremo carboxilo de la proteína tau que funciona como dominio de unión a los microtúbulos. La otra parte del filamento es una cubierta soluble que contiene moléculas de tau completas muchas de las cuales se encuentran hiperfosforiladas. **Las MNFs hiperfosforiladas son intracelulares** y por lo general se encuentran en abundancia en el **componente neurítico de la PN (placa neurítica)**. **Las MNFs extracelulares** que representan el "esqueleto fibrilar insoluble que resulta después de muerte de la célula neuronal están "truncadas". Esto se debe a que los FHAs que forman esta MNF han perdido su cubierta exterior soluble y están exponiendo el núcleo que presenta un truncamiento característico en la posición Glu³⁹¹ de su extremo carboxilo. Este truncamiento es específicamente reconocido por el **anticuerpo monoclonal (AcM) 423**. Las evidencias acumuladas en los últimos 10 años han llevado a sostener que la polimerización de los FHAs es debida a una alteración postraducciona de la proteína por la que se genera una especie truncada (Glu³⁹¹), con una elevada capacidad de **evolución de la formación neurofibrilar en el hipocampo**. Al formarse este complejo, la tau normal completa capturada es inducida (por un mecanismo desconocido) a truncarse en la misma posición que la subunidad iniciadora y manifestar una mayor afinidad por más tau completa. De acuerdo a estas evidencias, este proceso de secuestro-ruptura-secuestro se propaga exponencialmente hasta "agotar" la poza soluble de tau al ya estar toda ella ensamblada. Finalmente, en la MNF se encontrarían **los núcleos de los filamentos "ocultos"** por otras moléculas de tau. Al morir la neurona, este núcleo quedaría nuevamente expuesto y positivo al marcador inmunológico 423.

CONCLUSIÓN

Aunque mucho se ha avanzado en los estudios de biología molecular y genéticos, en general, los avances en la búsqueda de las causas de la enfermedad de Alzheimer y los cambios moleculares asociados a la formación de los FHAs han sido limitados por la ausencia de un modelo animal adecuado. Con ello, el estudio del cerebro de los casos que fallecen de este mal se presenta como el único instrumento a que tiene acceso el investigador para poder continuar en esta incesante búsqueda de un tratamiento el control o cura de la enfermedad de Alzheimer.

BIBLIOGRAFÍA

Bayer T., Paliga K., Weggen S., Weistler, Beyreuther K., Multhaup G. 1997. Amyloid precursor-like protein 1 accumulates in neuritic plaques in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 94: 519-524.

Gail V.W. and Hartigan A. J. 1998. Tau protein in normal and Alzheimer's disease brain: an update. *Alzheimer's disease review* 3, 125-141.

Grupo Consenso del Síndrome de Deterioro Intelectual y Padecimientos Demenciales. Consensos/ Fundsalud. México, D.F. 1996.

Kawas Ch. 2003. Clinical practice. Early Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine.* 349(11): 1056-63.

Revesz T., Ghiso J., Lashley T., Plant G., Rostagno A., Frangione B., Holton J. Cerebral amyloid angiopathies: A pathological, biochemical and genetic view. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62:885-898, 2003.

Ueberham U., Hessel A., Aredt T. 2003. Cyclin C expression is involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging.* 24: 427-437.

Vassar R.,Bennet B.D., Babu-Khan y col. 1999. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease bace. *Science.* 286: 735-741

Wischik C.M., Harrington C.R. y Mena R. Molecular determinants of paired helical filament assembly and the therapeutic implications in Alzheimer's disease. *Inter. Rev. Psychiatry.* 7:299-338, 1995.

Wisniewski T., Ghiso J, and Frangione B. 1997. Biology of A β amyloid in Alzheimer's. *Neurobiology of disease.* 4:313-328.

Zhong Z. X. Y. and He Za Zhi Y. 2003. Clinical study on treatment of Alzheimer's disease from the viewpoint Chinese. 23(8): 583-6.

BANCO DE CEREBROS EN MÉXICO: CONCEPTOS BÁSICOS.

Dr. Raúl Mena López. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Apdo. Postal 14-740, CP 07000, México, D.F. MÉXICO. FAX: (5) 747-7134 email: rmena@fisio.cinvestav.mx.

La ausencia de un modelo animal adecuado, sin duda, ha sido el obstáculo metodológico más grande al que se enfrentan actualmente los investigadores para dilucidar las causas de la enfermedad de Alzheimer, así como los mecanismos moleculares de otros procesos neurodegenerativos. Ante esto, las investigaciones en ese sentido únicamente pueden realizarse en el cerebro de las personas que fallecieron afectadas por el padecimiento. A este respecto, cualquier proyecto de investigación diseñado para investigar el tejido cerebral requiere indispensablemente de un criterio preciso del diagnóstico clínico que debe ser seguido, con la muerte del paciente, así como de una evaluación neuropatológica con criterios recomendados. Para propósitos de investigación, el tejido cerebral humano que sea obtenido por necropsia debe ser manipulado y procesado en **condiciones apropiadas**. En general, las condiciones que hay que tomar en cuenta son: el intervalo post-mortem, la fijación, el almacenamiento y el transporte. Tomando en consideración lo anterior se introduce el concepto de un **banco de cerebros** como el establecimiento físico o funcional de recolección y **almacenamiento de tejido cerebral** en condiciones óptimas para ser utilizados en las diversas técnicas de proyectos de investigación. El concepto de banco de cerebros puede también incluir otros tejidos de humanos o animales, o fluidos corporales (suero, líquido cefalorraquídeo, etc.) que puedan ser potencialmente útiles para las investigaciones en la enfermedad de Alzheimer. El banco de cerebros es también llamado centro de acopio. La preparación y clasificación de los cerebros de un centro de acopio deben ser estandarizadas por un consenso neuropatológico. La imperiosa necesidad de probar productos biológicamente activos que pudieran ser potencialmente utilizables para los diagnósticos pre- y postmortem, para determinar el grado de severidad de la enfermedad, o su tratamiento con tejido humano. La complejidad de los subtipos celulares, membranas y los circuitos de neurotransmisores en los humanos no tiene comparación con otras especies de mamíferos.

La integridad funcional de un banco de cerebros se determina por cuatro funciones principales:

- 1) Programas de donación de cerebros.
- 2) Un grupo de investigadores y clínicos de carácter multidisciplinario, integrado, que esté disponible todo el tiempo.
- 3) Acceso al servicio de autopsias.
- 4) Obtención y mantenimiento de equipo para el manejo y **almacenamiento** de tejidos cerebrales humanos.

La donación de cerebros se efectúa bajo reglas éticas estrictas que exigen que el consentimiento para la autopsia sea firmado ya sea por el propio donante, el pariente más cercano o por un representante legal; además de que se recomienda también la firma de dos testigos imparciales. Ningún patólogo realizará alguna autopsia o extracción de algún órgano si no cuenta con el consentimiento legal propiamente firmado, que lo permita. De las dos formas de consentimiento que firma el donante, una copia se entrega al servicio funerario responsable del transporte del cadáver al sitio de la autopsia, mientras que la segunda se entrega al patólogo. El rigor científico exige indispensablemente que los programas de disposición incluyan la obtención de casos sanos, ya que los resultados patológicos podrían interpretarse mal si no se comparan con valores normales.

Hay tres consideraciones generales que definen mejor los puntos de control de calidad de la metodología del banco de cerebros. Primero, se requiere que no exista una historia personal o familiar de trastornos neurológicos o psiquiátricos. También debe documentarse la ausencia de lesiones histopatológicas del tipo de Alzheimer, mediante las técnicas de tinción usadas convencionalmente por los neuropatólogos,

como la impregnación de plata de **Bielschowsky Rojo Congo, Tioflavina S o rojo tiazina**. Finalmente, también deben excluirse lesiones neurodegenerativas como las producidas por infartos cerebrales simples o múltiples, tumores, etc., debido a que pueden estar complicados con demencia. Son de particular importancia en el programa de donación de controles, la búsqueda de sujetos que puedan ser relacionados por sexo y edad con casos de Alzheimer familiar o esporádico.

Los pacientes que hayan sido referidos para un programa de disposición de cerebros tienen que ser evaluados por un personal médico especializado que haya sido apropiadamente informado del criterio clínico esencial para hacer el diagnóstico de la enfermedad neurodegenerativa demencial. Un equipo multidisciplinario que incluya trabajadores sociales, enfermeras especializadas, médicos generales, geriatras, psicogeriatras y neurólogos. (El documento que contiene las bases de la administración y procesamiento del tejido cerebral para la investigación en México, se encuentra en prensa en un suplemento especial de la revista Archivos de Neurociencias y cuyos patrocinadores son FUNSALUD y Wyeth de México).

UNA ENTREVISTA PARA NO OLVIDAR: ALZHEIMER

José Duarte Estrada

“La demencia no es consecuencia natural del envejecimiento”. Claridad y contundencia reflejaba el doctor Raúl Mena con sus señalamientos sobre la demencia y su relación con la enfermedad del Alzheimer, la cual define como el proceso neurodegenerativo que clínicamente se caracteriza por demencia y histopatológicamente por la acumulación de lesiones características en el cerebro. “El hallazgo de un cuadro de demencia y de esas lesiones, -abunda- da el diagnóstico y definen la enfermedad del Alzheimer”.

Con doctorado en la carrera de Ciencias realizado en el departamento de Biología Celular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) Raúl Mena dejó en claro que por el momento quiere ubicar sus estudios en el tema del Alzheimer, independientemente de las causas directas o indirectas que ocasionan esta enfermedad. El doctor enfatizó en todo momento que el cerebro de las personas siempre presenta las mismas lesiones y en la misma progresión, esto lleva a proponer que aunque no se conozca la causa, si se encuentra cómo esta se expresa, se podrá hacer algo para ayudar a los pacientes que sufren esta enfermedad.

Su acento para hablar delata al investigador yucateco quien se adentra poco a poco en su explicación y abunda sobre las investigaciones que se están realizando actualmente en el CINVESTAV-IPN donde labora.

En busca de la cura...

“Desde mi repatriación en México, hemos desarrollado una línea de investigación en la cual estamos tratando de estudiar los mecanismos moleculares que llevan a la formación de los filamentos que destruyen las neuronas en una patología llamada de generación neurofibrilar que es la que caracteriza la enfermedad del Alzheimer.”

Sentado de frente al escritorio y realizando una serie de movimientos con sus manos, Mena describe los procesos que se están llevando a cabo. Establece que después de una serie de estudios que han caracterizado diferentes marcadores moleculares se están registrando diversos cambios conformacionales en la proteína tau, la cual forma los filamentos de Alzheimer, misma que va sufriendo cambios a lo largo del proceso.

Mena fue contundente con su trabajo: “la contribución de este laboratorio en particular, ha sido estudiar específicamente el último paso del procesamiento de la proteína tau, que es además un paso en el que ocurre una truncación y se expone un núcleo, un fragmento de la proteína, pero este cambio molecular parece ser específico para la enfermedad de Alzheimer.”

Abunda, “nuestro trabajo ha favorecido en que la enfermedad del Alzheimer sea reclasificado dentro de la categoría de enfermedades debido a cambios conformacionales de las moléculas.” La explicación del doctor avanza de la misma forma en que avanza las investigaciones que están realizando hasta el momento y la entrevista prosigue: “es pertinente enfatizar que el trabajo realizado hasta el momento ha sido posible gracias a la donación de cerebros, de colegas de bancos de cerebros de varias partes del mundo y que sin la obtención de donaciones de cerebros de familias mexicanas,” -puntualizó- “nosotros nunca hubiéramos aspirado a confirmar nuestras hipótesis, dado que estos cambios conformacionales son tan rápidos y difíciles de ver, que se necesita una preservación óptima del material y eso sólo lo hemos podido obtener con el tejido cerebral obtenido en México.”

Banco de cerebros

Abundando un poco más en el aspecto de los bancos de cerebros, destacó que estos se forman con tejidos de personas que fueron estudiadas en vida, por medio de técnicas que permiten mostrar evidencias claras que indican al médico, que se trata de una atrofia cerebral que asociada con atrofia bilateral de los glóbulos temporales permite identificar el Alzheimer. "Después de fallecer la persona," -explicó- "será el patólogo quien determine el diagnóstico definitivo para confirmar la atrofia cerebral y conocer las lesiones que caracterizan esta enfermedad. Una vez cumplido con este proceso, el cerebro llega a nosotros ya con todo un historial diagnóstico para poder proceder al estudio en forma sistemática."

Actualmente, ¿qué es lo más relevante que se ha descubierto sobre enfermedades del Alzheimer? y ¿cuál podría considerarse como la aportación más importante en la búsqueda por controlar esta enfermedad que hasta la fecha carece de una cura?

Por un momento se queda pensativo, como reflexionando sobre todo el trabajo que se ha desarrollado sobre el Alzheimer. Y responde: "en el ámbito internacional, considero que el parteaguas más importante apareció a fines de los años 90 sobre las investigaciones del Alzheimer, en la cual, un factor de riesgo que se asocia en esa enfermedad se podría asociar con problemas cardiovasculares, esto nos lleva a establecer nuevas formas de estudio tratando de prevenir factores de riesgo. El evitar un factor de riesgo de tipo vascular tiene el objetivo de prevenir una forma de Alzheimer."

Mena se reacomoda en su sillón para precisar más datos sobre las investigaciones realizadas hasta el momento. Su despacho parece minúsculo ante tantos libros por todas partes, en su escritorio, una mesa que se encuentra detrás de él y una que otra silla ubicada en su oficina. Acomoda la posición de sus lentes y prosigue. "Una contribución en particular, del grupo de laboratorio al que yo pertenezco y que está haciendo llevado con mucho éxito por el doctor Francisco García Sierra es el que los cambios conformacionales de las proteínas ya permiten establecer asociaciones con el amiloide β , que es otro depósito proteínico que se encuentra en las células, esto nos va a permitir poder encontrar modelos que al combinar ya más proteínas involucradas nos permitan obtener una visión más general y poder obtener mecanismos hipotéticos que permitan establecer tratamientos farmacológicos."

La demencia más común

La charla transcurría sin mayor contratiempo, el doctor mostraba tener pleno dominio de su trabajo y lo reflejaba en su forma de responder, se veía rápido en su respuesta pero al mismo tiempo cuidado de ellas. Al darme cuenta que concluye su explicación sobre las contribuciones de su laboratorio, lo abordo con la siguiente pregunta: ¿Cuáles son las variables que hacen que un paciente con deterioro cognitivo desarrolle una demencia, pongo como ejemplo de posibles variables la edad o sexo?

"Hay muchísimas causas de demencia, últimamente he leído en una revisión que nos indica que hay más de cien casos de demencia. Sin embargo, la demencia del Alzheimer es la más común de ellas. Le puedo decir que de diez casos de Alzheimer de demencia en una población dada, de 4 a 6 pueden ser de Alzheimer."

Envejecer: un factor de riesgo

Mena señaló que en la actualidad se han encontrado factores de riesgo asociados al desarrollar la enfermedad y considero que el envejecimiento es el mayor factor de riesgo. El sólo echo de envejecer a partir de los 65 años, cada quinquenio se duplica nuestro riesgo de tener Alzheimer. Adentrándose más en este aspecto, resaltó que hay un riesgo considerado como susceptibilidad genética, esto en las neurociencias es la única enfermedad que se asocia con una susceptibilidad genética, esto no quiere decir que está uno enfermo, sino más bien, es una herencia. Y el más difícil de entender es el ambiente. Por ello, resaltó que actualmente la enfermedad del Alzheimer se caracteriza por su naturaleza multifactorial.

Al ser cuestionado sobre las diferencia existen entre el envejecimiento fisiológico y las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, el investigador dejó en claro como primer punto que la demencia no es consecuencia natural del envejecimiento. Dentro del espectro de las enfermedades crónico-degenerativas y las neurodegenerativas, las demencias es un tipo de enfermedad que se presenta en adultos mayores.

Siendo más explícito, precisó que existe una pérdida de la memoria normal, conocida como benigna, que es simplemente el olvidar algunas cosas, sin exceder de eso. Por otra parte, hay otra pérdida de la memoria que es progresiva y que va hacia un deterioro de las funciones mentales de los enfermos que es lo que nos produce el proceso demencial.

Este aspecto lo concluyó diciendo que dentro del campo clínico, de los intereses más grandes e importante de los investigadores, hoy en día, es poder definir los síntomas iniciales de un deterioro cognoscitivo que ocasionan la demencia.

¿Cómo envejece el cerebro?

Al ser cuestionado sobre cómo envejece el cerebro, Mena consideró viable señalar que el hecho de que el cerebro envejezca a diferencia de los demás órganos de nuestro cuerpo, no quiere decir que nosotros perdamos nuestra actividad intelectual. Desde el punto de vista funcional, el cerebro es el único órgano que aunque envejezca no va en un detrimento de la característica intelectual del sujeto, aunque se ha visto que el cerebro puede tener una pérdida de células neuronales conforme avanza la edad, también pueden aparecer lesiones, pero esto no se refleja en lo que se refiere a un envejecimiento patológico que se reflejara en que la persona, que conforme su cuerpo se va envejeciendo pareciera que no ocurre como en los otros órganos.

Sin control del padecimiento

Por último, en relación con el tema de los tratamientos, Mena se mostró preocupado, precisó que existe tratamiento que funciona eficazmente en fases iniciales clínicas de la enfermedad, lamentablemente ninguno de esos medicamentos controla o detiene el padecimiento, simplemente mejoran el estado de ánimo del paciente. Con cierto desconcierto Mena concluyó "la enfermedad progresa y ya ningún medicamento tiene efecto".