

## Regulación de la Gamma-Secretasa en la enfermedad de Alzheimer

PABLO CAMPÓN SÁNCHEZ<sup>1</sup>

Universidad de Salamanca  
pablocamponsanchez@usal.es

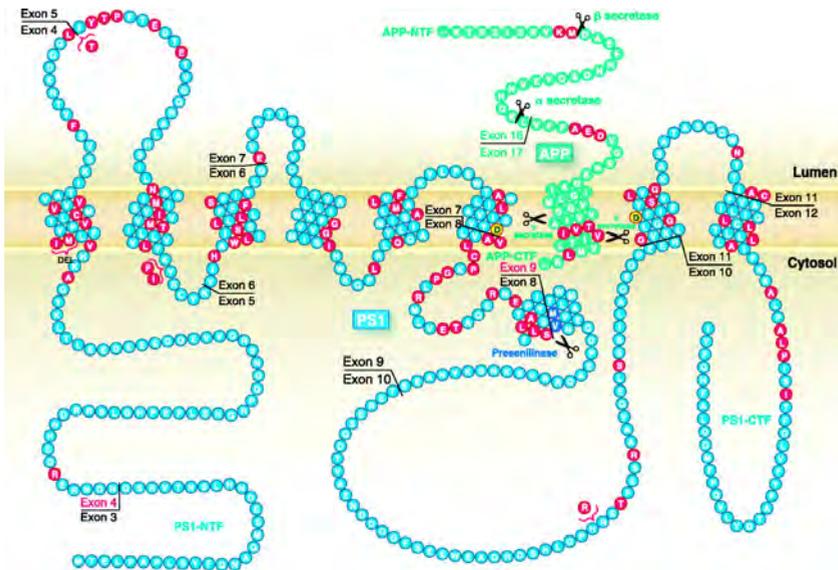


Figura 1. Esquema del procesamiento de la APP<sup>1</sup>.

1 Pablo CAMPÓN SÁNCHEZ es Graduado en Farmacia por la Universidad de Salamanca.

## RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA), se está convirtiendo en las últimas décadas en una de las enfermedades neurodegenerativas más prevalentes entre la población envejecida de nuestra sociedad<sup>1</sup>. El aumento de la expectativa de vida gracias en gran medida a los avances en medicina, es un arma de doble filo a la hora de padecer algunas patologías neurodegenerativas como la EA.

El complejo  $\gamma$ -secretasa está siendo investigado como posible diana terapéutica para el tratamiento de la EA basándose en que la inhibición/modulación de este complejo produce una reducción de los niveles de péptido A $\beta$  al modificarse el metabolismo de la proteína precursora amiloide (APP)<sup>1,2</sup>. A continuación, se expone una revisión bibliográfica que se centra principalmente en la relevancia del complejo  $\gamma$ -secretasa y las posibles terapias centradas en la inhibición/modulación de este complejo.

*Palabras clave:* Enfermedad de Alzheimer,  $\gamma$ -secretasa, inhibidores, moduladores.

## SUMMARY

Alzheimer's disease (AD) is becoming in recent decades in one of the most prevalent neurodegenerative diseases among the aging population of our society<sup>1</sup>. Increased life expectancy thanks largely to advances in medicine, is a double-edged sword when suffering certain neurodegenerative diseases such as AD.

The complex  $\gamma$ -secretase is being investigated as a possible therapeutic target for the treatment of AD based on inhibition/modulation of these complex results in reduced levels of peptide A $\beta$  by modifying the metabolism of amyloid precursor protein (APP)<sup>1,2</sup>. Next, a literature review that focuses primarily on relevance  $\gamma$ -secretase complex and possible therapies focused on inhibition/modulation of this complex is exposed.

*Key words:* Alzheimer's disease,  $\gamma$ -secretase, inhibitors, modulators.

## 1. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo consiste en realizar una revisión bibliográfica que se centra, principalmente, en la relevancia del complejo  $\gamma$ -secretasa en la EA y las posibles terapias centradas en la inhibición/modulación de este complejo, basada, sobre todo, en la "Hipótesis amiloidea".

## 2. INTRODUCCIÓN: ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer fue descrita por primera vez por Alois Alzheimer, psiquiatra y neurólogo que fue capaz de asociar *post-mortem* la presencia de depósitos extracelulares (placas seniles, neuríticas o amiloides) y agregados fibrilares

(ovillos) situados en la corteza cerebral e hipocampo principalmente, a un proceso neurodegenerativo progresivo e irreversible, que cursa con pérdida de memoria, de habilidad intelectual y de razonamiento, desorientación espacio-temporal, cambios de humor, alteración conductual, afasia y apraxia<sup>2,3,4,5</sup>.

Debido a la complejidad de esta enfermedad, han surgido a lo largo del tiempo numerosas hipótesis (teoría colinérgica, neurovascular, inflamatoria y del estrés oxidativo) que tratan de dar explicación al origen y causa del problema<sup>2</sup>. A continuación se exponen brevemente las dos teorías más aceptadas:

- La “*Hipótesis amiloidea*” propone que el exceso y acumulación de péptido  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), debidos a un cambio en el metabolismo de la APP, son el foco principal del daño neurodegenerativo que sufren los pacientes con Alzheimer, siendo posterior la hiperfosforilación de la proteína tau<sup>2,4</sup>.
- La “*Hipótesis de tau*” defiende que la hiperfosforilación de esta proteína afecta a su unión con los microtúbulos, desencadenando una desestabilización que conlleva la formación de agregados de esta proteína, lo cual induce daño y muerte neuronales. Posteriormente a esta hiperfosforilación acontecería la formación de placas amiloides<sup>2,4</sup>.

La activación de GSK-3  $\beta$  (glucógeno sintasa quinasa-3 $\beta$ ) por el aumento de  $A\beta$ , los efectos tóxicos tanto de  $A\beta$  como de tau sobre la función mitocondrial, así como la mediación que supone la proteína tau sobre los efectos tóxicos de  $A\beta$  (demostrado en ratones “knock-out” para tau), pone de manifiesto la relación existente entre ambas teorías, que en la actualidad se encuentran sometidas a un extenso debate<sup>2</sup>.

### 3. CASCADA AMILOIDEA: PRODUCCIÓN DE PÉPTIDO B-AMILOIDE

El péptido  $A\beta$ , principal componente de las lesiones histopatológicas más características de la EA, surge a partir del procesamiento proteolítico de la APP, la cual es llevada a diferentes niveles por 3 enzimas:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -secretasa<sup>2</sup>. Este trabajo se centra, principalmente, en la escisión llevada a cabo por la  $\gamma$ -secretasa dentro de la llamada vía amiloidogénica. En dicha vía, la APP es procesada en primer lugar por la  $\beta$ -secretasa, dando como resultado sAPP $\beta$  (fragmento soluble del dominio N-terminal) y CTF $\beta$  (dominio C-terminal) que, permaneciendo unido a la membrana, será sustrato de la  $\gamma$ -secretasa produciéndose el péptido  $A\beta$ , que es liberado al medio extracelular, y el dominio intracelular de APP (AICD)<sup>3</sup>. Cualquier alteración en la formación de este péptido, derivada, por ejemplo, de mutaciones de genes implicados, trae consigo una acumulación no fisiológica, que ejerce un efecto tóxico

mediante varios mecanismos: disminución de las sinapsis neuronales, interacción con receptores AMPA y NMDA, estrés oxidativo, inflamación y alteración de la homeostasis neuronal, etc.<sup>2,3</sup> In vivo se han encontrado dos formas predominantes del péptido: A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42, siendo esta última más abundante en placas extracelulares, debido a su hidrofobicidad y a su capacidad de agregación<sup>3</sup>.

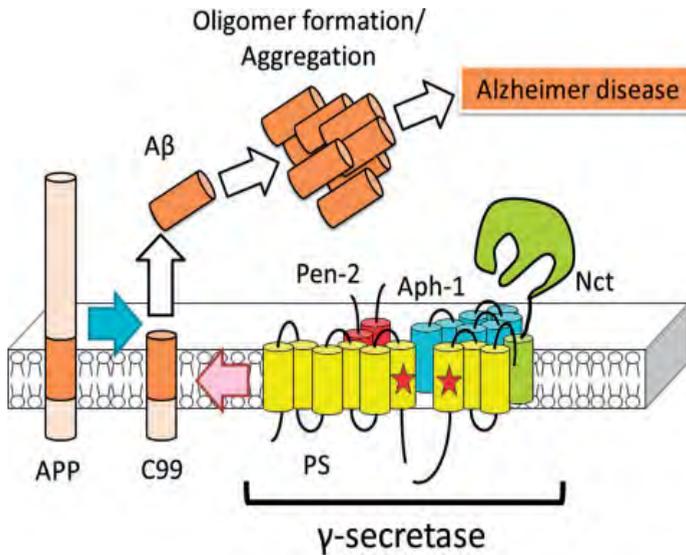


Figura 2. Procesamiento proteolítico de la APP<sup>3</sup>

Existen, sin embargo, algunos aspectos que parecen contradecir, *a priori*, algunos postulados de la teoría amiloidogénica<sup>2</sup>:

- Poca correlación entre deterioro cognitivo en pacientes con EA y cantidad de placas amiloides.
- Presencia de placas amiloides sin asociación a deterioro cognitivo.
- Formas tóxicas solubles de A $\beta$  (ADDLs) y tau fosforilada, que difunden por el parénquima cerebral y generan activación de respuesta inflamatoria, pérdida sináptica y fallos cognitivos en fases tempranas de EA.
- Escasa evidencia científica de efectos clínicos significativos de las terapias antiamiloidogénicas actuales.

4.  $\gamma$ -SECRETASA

La formación del péptido A $\beta$  es un proceso complejo, en el que participan varios sistemas enzimáticos de forma secuencial. Uno de ellos es la  $\gamma$ -secretasa, la cual se encuentra compuesta por varias proteínas: nicastrina, PEN-2, Aph-1 (proteínas accesorias implicadas en la estabilización y maduración del complejo) y presenilinas 1 y 2 (PS1 y PS2), siendo las dos últimas las que conforman el sitio catalítico del complejo<sup>2, 3, 6</sup>. La  $\gamma$ -secretasa lleva a cabo una proteólisis intramembrana entre TMD6 y TMD7 (dominios transmembrana) mediante el reconocimiento de algunos elementos estructurales que le sirven como sitio de reconocimiento y sitio catalítico<sup>3</sup>. A partir de estudios “knock-out” de genes PS se ha demostrado la desaparición de aspartatos de TMD6 y TMD7 (sitios catalíticos para la proteólisis)<sup>2, 3</sup>.

Un análisis estructural mediante el método SCAM (“substituted cysteine accessibility method”) reveló que la PS1 alberga una estructura hidrófila, “poro catalítico”, formada dentro de la membrana, que se altera tras la activación del complejo, tratamiento inhibitorio o mutaciones ligadas a la EA familiar, lo que induce a pensar en el carácter crítico que supone este medio hidrófilo para la generación de A $\beta$ <sup>3</sup>.

La  $\gamma$ -secretasa lleva a cabo la escisión intramembrana del fragmento CTF $\beta$  (denominado C99), generado a partir de la reacción catalizada por la  $\beta$ -secretasa desde la frontera entre el citosol y la membrana<sup>6</sup>. Existen dos tipos de escisión:

- La  $\epsilon$ -escisión da lugar a AICDs y a la producción de las formas A $\beta$ 48 y A $\beta$ 49.
- La  $\gamma$ -escisión, un recorte de la secuencia hidrófoba (3/4 residuos) desde el lado citosólico de la membrana, originándose A $\beta$ 46, A $\beta$ 43 y A $\beta$ 40 a partir de A $\beta$ 49 y A $\beta$ 45, A $\beta$ 42 y A $\beta$ 38 a partir de A $\beta$ 48, fundamentalmente.

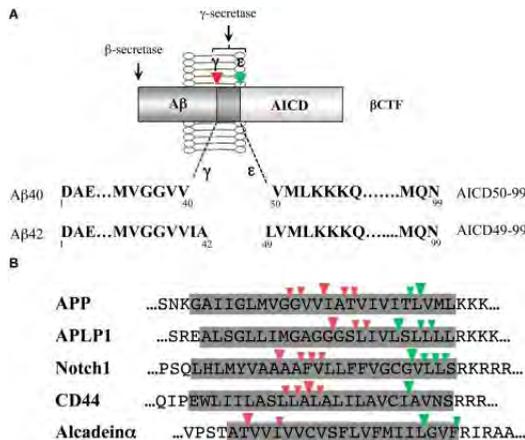


Figura 3. Escisión gamma y épsilon llevada a cabo por el complejo  $\gamma$ -secretasa<sup>6</sup>

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN: INHIBIDORES Y MODULADORES DE LA $\gamma$ -SECRETASA

Desde el descubrimiento del complejo enzimático responsable de la producción, en última instancia, de  $A\beta$ , se propuso su inhibición/modulación como una estrategia terapéutica lógica en la EA. Sin embargo, la  $\gamma$ -secretasa resultó ser, desde un principio, muy problemática desde el punto de vista de la seguridad, debido a que cataliza la proteólisis de más de 50 proteínas membranales, entre las que se encuentran Notch-1, APLP1/2, CD44, alcadeínas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , receptores LDL, NaV $\beta$ 2, etc.<sup>2,6</sup> La disminución del procesamiento de estos sustratos, necesarios para la supervivencia neuronal, ha supuesto que se cuestione, en gran medida, la utilidad de estos fármacos como terapia para la EA.

### 5.1. INHIBIDORES DE LA $\gamma$ -SECRETASA (GSI)

La capacidad de recuperación cognitiva en ratones con signos de Alzheimer, demostrada por algunos inhibidores de secretasas a partir del año 2000, motivó a algunas farmacéuticas a ensayar en humanos con inhibidores y moduladores de  $\beta$  y  $\gamma$ -secretasa<sup>7,8</sup>. Sin embargo, pocos de los fármacos experimentales que habían entrado en fase de ensayos clínicos prosiguieron en ellos. Los más relevantes son:

- *Semagacestat*, cuyos ensayos en fase I demostraron una reducción de péptido  $A\beta$  seguido de un incremento de rebote. Los estudios en fase II confirmaron una reducción dependiente de la dosis, mientras que los estudios en fase III (IDENTITY 1 y 2) se detuvieron porque se observó un incremento en cáncer de piel relacionado con la inhibición del receptor Notch, infecciones frecuentes y deterioro cognitivo más acelerado<sup>8,9</sup>.
- *Avagacestat*, cuyo estudio se dio por terminado antes de llegar a la fase III por motivos similares a los citados en el caso anterior, asociados a efectos adversos gastrointestinales intolerables<sup>8,9</sup>.

Hasta la fecha, de la experiencia clínica en humanos con EA se puede deducir que el tratamiento con los GSI a largo plazo se asocia con efectos secundarios inaceptables y/o falta de eficacia clínica, lo que induce a pensar en la falta de viabilidad de esta estrategia para el tratamiento crónico de la EA<sup>2</sup>. Para intentar paliar los efectos adversos se han intentado desarrollar GSI selectivos de APP, que redujesen in vivo la toxicidad y permitiesen una reducción significativa de los niveles de  $A\beta$  en el cerebro; sin embargo nada de esto se ha logrado hasta la fecha<sup>2,9</sup>. Por todo

ello, no se valoran los GSI como posible tratamiento para la EA y no hay ensayos clínicos en curso con este tipo de fármacos.

## 5.2. MODULADORES DE LA $\gamma$ -SECRETASA (GSM)

Después del descubrimiento de los GSI como posible terapia de la EA, se identificó un subconjunto de agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs) con capacidad de modular la actividad del complejo  $\gamma$ -secretasa<sup>9,10</sup>. A continuación se resumen brevemente los ensayos clínicos más relevantes sobre terapias basadas en la modulación del citado complejo:

- a) Un ensayo multicéntrico comparó la administración de ibuprofeno frente a placebo en personas con EA leve/moderada, no obteniendo diferencias en ningún resultado. Este fármaco se eliminó de los ensayos en fase III<sup>8</sup>.
- b) Un metaanálisis de ensayos clínicos con NSAIDs, en los que estaba incluido el ibuprofeno, demostró que no reportaban ningún beneficio cognitivo significativo. De forma general, todos los ensayos clínicos enfocados hacia los NSAIDs han resultado negativos<sup>8</sup>.
- c) A partir de los ensayos con ibuprofeno, se ha dado pie al ensayo con tarenflurbil (flurizan o R-flurbiprofeno), fármaco que lleva a cabo su acción sobre la PS del complejo de la  $\gamma$ -secretasa. En pacientes con EA leve no mostró beneficios en los resultados funcionales o cognitivos, por lo que fracasó en fase III. El motivo de esta falta de eficacia se fundamentó en la imposibilidad de alcanzar dosis terapéuticamente eficaces a nivel central<sup>2,8,9</sup>.
- d) Recientemente se ha producido el cese del ensayo con BMS-932481 debido a reacciones adversas a nivel hepático, aun a pesar de haber demostrado actividad como modulador de la  $\gamma$ -secretasa, tanto a nivel central como periférico en voluntarios sanos, y disminuir los niveles de A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42, dosis-dependiente, en cerebro y líquido cefalorraquídeo de ratas y perros<sup>10</sup>.

Actualmente existen varios ensayos activos con moduladores de la  $\gamma$ -secretasa. EVP-0962 se encuentra en fase III y NIC 5-15 “D-Pinitol” en fase II<sup>8</sup>. No se cierra la puerta al desarrollo de GSM de 2<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup> generación, que presenten una mayor penetración a nivel central y una mayor eficacia<sup>9</sup>.

## 5.3. DIFERENCIAS ENTRE INHIBIDORES Y MODULADORES DE LA $\gamma$ -SECRETASA

Los inhibidores de la  $\gamma$ -secretasa impiden la formación de cualquier péptido A $\beta$  al imposibilitar el metabolismo de la proteína APP, mientras que los modula-

dores de esta misma enzima, cambian la ubicación donde la  $\gamma$ -secretasa escinde la proteína APP. A continuación se detallan las principales características de los GSM con respecto a los GSI y una tabla resumen con las diferencias principales entre los GSI, GSM y derivados de estos últimos<sup>2, 9</sup>:

- Disminuye la síntesis de las formas más largas y tóxicas de  $A\beta$  ( $A\beta_{42}$ ), tanto in vivo como in vitro, y aumentan las formas más cortas y menos tóxicas de  $A\beta$  ( $A\beta_{38}$ ).
- No aumenta APP CTF.
- No se altera la proteólisis de Notch-1

*Tabla comparación de los efectos de GSIs, GSMs y derivados<sup>9</sup>*

	Total $A\beta$	$A\beta$ 1-37	$A\beta$ 1-38	$A\beta$ 1-40	$A\beta$ 1-42	APP CTF	Notch	EC50 $A\beta$ 42	Binding target
GSI	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓	≈500pM	PSEN1/2
NSAID-GSM	=	=	↑	=	↓	=	=	≈10 $\mu$ M	APP/Substrate
2nd GENERA	=	=	↑	=	↓	=	=	≈50nM	PSEN1/2
Non-acidic	=	↑	↑	=	↓	=	=	≈50nM	PSEN/PEN2
Triterpenoid	=	=	↓	=	↓	=	=	≈50nM	?
IGSM	=	↓ or =	↓ or =	=	↑	=	=	≈10 $\mu$ M	APP/Substrate

## 6. CONCLUSIONES

Actualmente tan solo existen 5 fármacos aprobados con indicación para la EA: donepezilo, galantamina, memantina, rivastigmina y tacrina<sup>8</sup>. Las evidencias obtenidas de los estudios clínicos sugieren que detener el progreso o revertir los síntomas de la enfermedad es un objetivo inalcanzable a día de hoy<sup>7</sup>. Sin embargo, se cree que la prevención es un objetivo factible, deteniendo la neurodegeneración en la etapa asintomática de la enfermedad<sup>7</sup>. Es aquí donde aparece la posibilidad de desarrollar un GSM seguro, que actúe como agente profiláctico en pacientes asintomáticos. Además de los GSM y



Figura 4. *Tratamientos actuales en la enfermedad del Alzheimer<sup>8</sup>*

sus variantes, los ensayos clínicos se están centrando en terapias inmunes e inhibidores de la  $\beta$ -secretasa<sup>8</sup>. Existen investigaciones, lideradas por científicos de la Universidad de Harvard, que sugieren que las placas de A $\beta$  no serían más que un remanente del sistema inmune, que supone la primera línea de defensa frente a una infección a nivel central, que resultaría ser el verdadero origen de la EA<sup>11</sup>.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- J. HARDY, "The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics", *Science*, 2002; 297(5580):353-356.
- P. CARRILLO, F. MENA, H. NAVARRETE, "Estado actual de las terapias modificadoras en enfermedad de Alzheimer", *Rev Mex Neuroci.*, 2013; 14(4):201-214.
- T. TOMITA, "Molecular mechanism of intramembrane proteolysis by  $\gamma$ -secretase", *J Biochem.*, 2014; 156(4):195-201.
- S. JIMÉNEZ, *Efectos de la acumulación del péptido beta amiloide en tejido cerebral de ratones PS1\*APP modelos de la enfermedad de Alzheimer* [tesis doctoral], Sevilla 2015.
- D. VOET, J. VOET, *Bioquímica*, Buenos Aires 2006, vol I, 3 ed.
- M. MORISHIMA-KAWASHIMA, "Molecular mechanism of the intramembrane cleavage of the  $\beta$ -carboxyl terminal fragment of amyloid precursor protein by  $\gamma$ -secretase", *Front Physiol*, 2014; 5:1-7.
- "Agentes terapéuticos: ciencia o cháchara al servicio de la salud", España: Wordpress.com; 2014 [actualizado 4 Jun 2014; citado 1 Jun 2016]. Disponible en: <https://eduardosetti.wordpress.com/page/3/>
- "Alzforum. Networking for a cure", España: Alzforum.org; 2016 [actualizado 14 May 2015; citado 1 Jun 2016]. Disponible en: <http://www.alzforum.org/therapeutics/search?therapeutic-name=AAB-003&therapeutic-name=E2012>
- T. GOLDE, E. KOO, K. FELSENSTEIN, B. OSBORNE, L. MIELE, " $\gamma$ -Secretase inhibitors and modulators", *Biochim Biophys Acta*, 2013; 1828(12):2898-2907.
- H. SOARES, M. GASIOR, J. TOYN, J. WANG, Q. HONG, F. BERISHA *et al.*, "The Gamma Secretase Modulator, BMS-932481, Modulates A Peptides in the Plasma and CSF of Healthy Volunteers", *J Pharmacol Exp Ther.*, 2016; 357:1-47.
- S. SOSCIA, J. KIRBY, K. WASHICOSKY, S. TUCKER, M. INGELSSON, B. HYMAN *et al.*, "The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid  $\beta$ -Protein Is an Antimicrobial Peptide", *PLoS ONE*. 2010; 5(3):1-10.