



Malaltia d'Alzheimer: Una història que tot just comença

Jordi Pérez-Tur

Unitat de Genètica Molecular, Institut de Biomedicina de València, CSIC, València

Correspondència: jpereztur@ibv.csic.es. Tel. 96-3391755. Fax 96-3393774

Es mitjans de comunicació acostumen a parlar-nos de les malalties humanes com les *epidèmies del segle XXI*. Potser siga ben cert això i ens trobem, a hores d'ara, davant d'una explosió de la incidència i la prevalença de moltes malalties que, no fa tant de temps, no passaren de ser problemes menors des de la perspectiva de la salut pública. D'un dels components d'aquesta teòrica epidèmia tracta el text que esteu a punt de llegir: la malaltia d'Alzheimer (MA), la principal causa de demència en la gent gran i, per extensió, en la societat moderna. Es considera que afecta prop del 10 per cent de la població major de 65 anys i que arriba fins al 20 per cent en els grups d'edat superior als 75 anys [<http://www.wellcome.ac.uk/en/genome/genesandbody/hg06f015.html>]. És aquesta una malaltia considerada moderna bàsicament per l'augment de la seva prevalença lligat a l'envelliment exponencial de la població a les societats desenvolupades. Així, un estudi dut a terme als Estats Units preveu que l'augment de gent gran a la societat nord-americana als propers 50 anys durà un augment de la prevalença de la MA, passant dels poc més de 4 milions de malalts que existien l'any 2000 als prop de 13 milions d'afectats que, de no produir-se cap canvi espectacular pel que fa a la prevenció i el tractament de la malaltia, existiran l'any 2050 [32]. Aquest augment, que durà aparellat un augment igualment important dels recursos econòmics i socials que s'hauran de destinar al suport

d'aquest grup, serà conseqüència de l'augment del nombre de gent major de 74 anys que es produirà al mateix període.

Fou l'any 1901 quan la malalta Auguste D. va ser presentada al Dr. Alois Alzheimer, qui treballava a un asil de Frankfurt. Aleshores, la malalta presentava trastorns cognitius i de llenguatge, al·lucinacions visuals, paranoia i comportament agressiu. Quan morí, l'any 1908, el seu cervell fou enviat a l'Institut de Munic, on Alzheimer s'havia traslladat uns anys abans per treballar amb el Prof. Kraepelin, una eminència de la psiquiatria alemanya d'aleshores. L'estudi d'aquell cervell dugué Alzheimer a descriure amb tot detall les anormalitats histològiques observades i féu que el seu superior, el Prof. Kraepelin, proposés el nom de malaltia d'Alzheimer per designar aquella entitat estudiada pel seu deixeble aconseguint, d'altra banda, una certa reconeixença per a la institució on aquell treballava.

Naturalment, la descripció del cas que féu Alzheimer presentà l'aparició de lesions arterioscleròtiques i altres dues lesions histològiques que, hui en dia, són la marca fonamental d'aquesta devastadora malaltia: les plaques senils i els cabdells neurofibrilars (fig. 1). Poc després de l'estudi i presentació del cas d'Auguste D., Alzheimer estudià un segon cas de demència amb característiques clíniques semblants, el cas de Johann F. i que pot considerar-se el primer cas de la història on s'emprà la denominació de malaltia d'Alzheimer. Fou el mateix Alzheimer que féu servir aquesta denominació tot just després de la publicació de la vuitena edició del manual de psiquiatria del Prof. Kraepelin, on aquest proposà aquesta denominació per la malaltia descrita amb precisió pel seu col·lega.

En aquest punt, dos són els aspectes històrics més discutits. D'una banda, els dos malalts inicialment descrits per Alzheimer el 1907 i el 1911 havien patit d'una veritable, en el sentit actual del terme, malaltia d'Alzheimer? I per una altra banda, fou Alzheimer el primer a descriure la malaltia amb el seu nom? Pel que fa al primer punt, la recuperació dels informes clínics i, allò que és més important, de mostres histològiques dels malalts inicialment descrits per Alzheimer permeté afirmar el diagnòstic de malaltia d'Alzheimer per a tots dos malalts [28,49]. Tot i això, és clar que, particularment al cas d'Auguste D., la presència d'altres símptomes com arteriosclerosi, al·lucinacions o la mateixa edat de començament de la malaltia serien motius sinó per descartar completament el diagnòstic de malaltia d'Alzheimer, sí per posar-hi un dubte raonable.

D'una altra banda, és evident que, a la literatura mèdica de començaments del segle xx hi havia descripcions de malalts amb diverses formes de demència. Ja al 1887, Beljadow descrigué la presència de plaques senils

en casos de demència i, uns mesos abans de la publicació del primer cas d'Alzheimer, un estudiós nord-americà, Fuller, ja havia descrit la presència de cabdells neurofibrilars en casos de demència senil; mentre un altre psiquiatra a Praga, Fischer, també suggerí que la presència de plaques o *necrosi miliar*, hauria de considerar-se com un marcador de la demència. Possiblement, Alzheimer no tingués intenció de descriure un nou procés patològic sinó de presentar, caracteritzant-la amb molt detall, l'existència d'un procés demencial típic d'edats avançades en etapes cronològicament menys avançades, el *senium praecox*. Per què hui només recordem el nom d'un dels que van descriure les característiques anatomopatològiques i clíniques de la demència senil? Possiblement la raó siga una barreja d'interessos polítics del director de l'institut on Alzheimer treballava per augmentar la seua influència acadèmica sobre altres col·legues com ara Pick, qui treballava a Praga, a més de garantir, amb la descripció de noves entitats clínico-patològiques, un nivell de finançament adequat per al seu Institut.

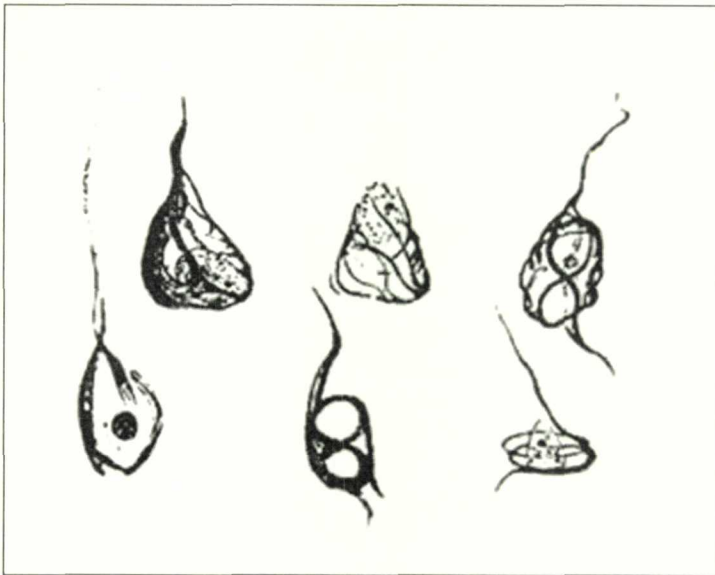


Fig. 1. Representació gràfica dels cabdells neurofibril·lars segons els va interpretar Alzheimer i apareguts a l'article descriptiu del primer cas, Auguste D. [28,49].

Història natural de la malaltia

La MA és una malaltia crònica i progressiva que provoca la pèrdua de la independència del malalt. En un primer moment, l'individu ha de patir l'efecte dels factors inductors, genètics o ambientals, que, després d'un període d'incubació sense manifestació clínica aparent, i conjuntament amb altres factors promotors, com ara l'edat, promouen el desenvolupament de la malaltia encara en la fase preclínica. En aquesta etapa, etapa d'inducció, la mort neuronal és encara reduïda i les lesions histopatològiques més comunes són les plaques difuses. Més endavant, al període de latència, la degeneració neurofibril·lar comença a aparèixer, especialment a l'escorça entorinal, i les plaques senils maduren, convertint-se les difuses en plaques compactes. Clínicament, aquest període es caracteritza per l'existència de lleus dèficits cognitius o alteracions del comportament o del caràcter. Més endavant, en una etapa difusa on es parla d'Alzheimer lleu, l'escorça cerebral comença a reduir-se per causa de la mort neuronal. Aquesta etapa és seguida de l'etapa moderada, on els símptomes clínics s'accentuen fins a arribar a l'etapa greu, caracteritzada per una degeneració neuronal que afecta quasi tota l'escorça. Normalment, el malalt d'Alzheimer pot conviure amb la malaltia entre 10 i 15 anys, sense tenir en compte els 5-20 anys de l'etapa preclínica de la malaltia, tot i que no és estrany arribar fins als 20 anys de durada de la malaltia.

L'evolució de la malaltia també és la típica d'un procés crònic amb un començament lleu, normalment després dels 65 anys, que normalment afecta la memòria i que evoluciona fins a una demència completa. Els símptomes inicials són, habitualment, una pèrdua de memòria que afecta els aspectes més propers en el temps o els noms de les persones, canvis a la personalitat i deficiències de raonament. L'evolució de la malaltia, però, és el d'una pèrdua constant de les capacitats cognitives fins al desenvolupament d'una demència completa. De fet, el diagnòstic clínic de MA no es basa exclusivament en l'aparició de la demència. A més d'una memòria afectada, el diagnòstic de demència requereix de la presència d'almenys una de les següents característiques: afàsia o dificultat en el llenguatge; apràxia o dificultats en fer moviments complexos; i agnòsia o dificultats en la identificació d'objectes i deteriorament de capacitat executiva i dificultat en la presa de decisions habituals.

La diagnosi de MA s'estructura de manera que es descarten altres causes de demència, especialment aquelles que pogueren ser tractables, i s'establisca que els símptomes encaixen amb la definició clínica de demència.

Normalment, la consulta a l'especialista es produeix quan el malalt pateix d'una pèrdua progressiva de memòria i de la capacitat d'interacció amb el seu cercle habitual, la qual cosa li pot arribar a produir una frustració que el duu a un abandonament dels seus hàbits socials. Per la falta de marcadors biològics de la malaltia, el diagnòstic clínic de MA no es pot fer d'una manera precisa i obliga a l'exclusió d'altres malalties. Normalment, l'aparició de símptomes anormals, com ara l'existència i preponderància d'un trastorn del moviment, problemes amb el moviment dels ulls, existència d'una història prèvia de determinades malalties (diabetis, SIDA, alcoholisme) o l'existència de símptomes clars d'alteracions vasculars són indicatius de l'existència d'una demència no Alzheimer.

Críteris per arribar al diagnòstic de demència de tipus Alzheimer.

a) Desenvolupament de múltiples dèficits cognitius manifestats per les dues característiques següents: problemes de memòria (capacitat reduïda d'aprendre informació nova o de recordar informació apresada amb anterioritat), i un o més dels següents problemes cognitius: afàsia (problemes de llenguatge), apràxia (capacitat reduïda de dur a terme activitats motores sense alteracions de la funció motora), agnòsia (capacitat alterada per reconèixer o identificar objectes en absència de problemes sensorials), problemes en la funció executiva (com p. e. planejar, organitzar, raonament abstracte). *b)* Els dèficits cognitius descrits presenten problemes de funcionament social o ocupacional i representen un empitjorament de la situació anterior. *c)* El procés es caracteritza per un començament gradual i un deteriorament cognitiu continu. *d)* Els dèficits cognitius dels críteris abans esmentats no es deuen a cap dels següents motius: altres condicions del sistema nerviós central que causen dèficits progressius de memòria i cognició (p. e. malaltia cerebrovascular, malaltia de Parkinson, malaltia de Huntington, hematoma subdural, tumor cerebral); condicions sistèmiques conegudes per causar demència (p. e. hipotiroïdisme, deficiència de vitamina B₁₂ o àcid fòlic, deficiència de niacina, hipercalcèmia, neurosífilis, HIV); i condicions induïdes per substàncies o drogues. *e)* Els dèficits no apareixen de manera exclusiva junt a un deliri. *f)* Els problemes no s'expliquen millor per cap altra malaltia del Exe I (p. e. malaltia depressiva major, esquizofrènia).

Descripció del «deteriorament cognitiu relacionat amb l'edat».

Aquesta categoria pot fer-se servir quan el subjecte en estudi té un deteriorament

cognitiu objectiu i relacionat amb l'envelliment però que resta normal dintre dels límits en funció de l'edat de l'individu. Els subjectes poden referir problemes recordant noms o cites, o poden tenir problemes amb la resolució de problemes complexos. Aquesta categoria només ha de considerar-se si s'ha determinat que el deteriorament cognitiu no pot atribuir-se a una malaltia mental o una altra condició neurològica.

Tot i això, el criteri per arribar amb certesa al diagnòstic de demència implica arribar a l'anàlisi anatomopatològica. Només amb l'examen i determinació del tipus, distribució i densitat de les lesions cerebrals podem afirmar sense cap dubte la presència d'una MA. Malgrat allò indicat abans i per causa del desenvolupament de noves tècniques d'imatge, es pot arribar a un grau de confiança semblant al que s'obté amb les ferramentes immunohistoquímiques, tot i que aquestes són, encara, l'estàndard pel qual s'han de mesurar la resta de tècniques. Com és natural, les proves diagnòstiques han d'acompanyar-se de proves de laboratori, exploració radiològica i, si està justificat, de proves genètiques.

Epidemiologia de la malaltia d'Alzheimer. Factors de risc

Com s'ha indicat abans, el parlar d'epidèmia referint-se a la MA implica que la prevalença de la malaltia ha de ser important. Així, s'estima que la prevalença de la MA és de l'ordre del 0,5 per cent, però aquesta xifra no dóna idea de la magnitud del problema, car la malaltia es concentra en grups d'edats determinades. Així, un 10 per cent dels majors de 65 anys pateixen la malaltia, mentre que entre el 15-20 per cent dels majors de 75 la pateixen i s'arriba fins el 50 per cent d'aquells majors de 80 anys. De fet, la prevalença de la malaltia sembla doblar-se cada període de 5 anys. Per aquest motiu, a causa de l'increment en l'esperança de vida i de l'envelliment progressiu de la població, les demències en general i la MA en particular poden arribar a representar un esforç econòmic i social excessiu dintre de 50 anys. Però malgrat l'elevada freqüència de la malaltia, sembla que aquest procés tot i estar clarament lligat a l'envelliment, no és inevitablement el destí de totes les persones. Actualment existeix un gran nombre de persones en unes edats molt avançades que mantenen les seves capacitats cognitives.

La MA afecta tots els grups ètnics i classes socials estudiats. Els principals factors de risc de la MA identificats són:

a) L'edat: com ja s'ha indicat, la prevalença de la malaltia augmenta conforme augmenta l'edat de la població. Això suggereix que part del procés natural de l'envelliment, en unes determinades persones, pot alterar el funcionament cel·lular normal i induir l'aparició de la malaltia.

b) El sexe: sembla ser que la prevalença de la malaltia és major en dones que en homes. Històricament, aquesta diferència s'ha associat als estrògens femenins tot i que no està clar que sigui així.

c) Antecedents familiars: l'existència d'antecedents familiars de demència implica un augment del risc de patir la MA. Com es veurà més endavant, aquest factor de risc implica l'existència de casos amb una influència genètica més o menys clara.

d) Nivell educatiu: sembla que el risc de patir la malaltia és més reduït als grups de població amb més alt nivell educatiu. Malgrat això, quan apareix la malaltia presenta unes característiques semblants pel que fa a les manifestacions clíniques i la seua durada entre els malalts amb diferents nivells educatius. Aquestes dades duen a postular l'existència d'una «reserva cognitiva» que seria el resultat d'un major exercici mental al llarg de la infantesa i l'adolescència. Aquelles persones intel·lectualment actives vorien reduït el seu risc de malaltia d'Alzheimer. En tot cas, la interpretació d'aquests resultats és difícil per la coexistència d'altres factors ambientals que podrien influenciar també aquest risc, com ara factors associats a un nivell social determinat o d'altres ambientals.

e) Traumatisme cerebral: estudis epidemiològics posen en evidència un augment de la prevalença de la malaltia en aquell grup de gent que ha patit un fort traumatisme cranial, especialment si aquest s'ha produït després dels 50 anys d'edat de l'individu. A més a més, aquest risc es veu augmentat de manera important per la presència d'un al·lel $\epsilon 4$ al locus de l'apolipoproteïna E (vegeu més endavant).

f) Consum de tabac: alguns estudis epidemiològics suggereixen que el consum de tabac podria arribar a ser protector contra la malaltia.

g) Altres factors. A banda dels factors esmentats, l'historial clínic de la persona també pot tindre un paper pel que fa al risc de patir la malaltia. Així, una història prèvia de depressió o l'existència d'antecedents familiars de la síndrome de Down, són condicions que apareixen en individus amb una major predisposició a la malaltia.

Etiopatogènia i fisiopatologia de la MA

Malgrat un estudi intensiu de la malaltia, a hores d'ara no es coneixen de manera detallada els mecanismes etiopatogènics que condueixen a l'aparició de la MA. Fins i tot és possible que no tots els malalts ho siguin mitjançant un mateix mecanisme, sinó que tots ells arriben a un punt determinat de la malaltia comú.

El punt comú a tots els malalts d'Alzheimer és l'aparició de les plaques senils i dels cabdells neurofibril·lars com estructures anormals acompanyades de la pèrdua de connexions sinàptiques a l'escorça cerebral i a l'hipocamp, però el camí per arribar-hi pot deure's a combinacions de factors genètics i ambientals específics per a cada grup de malalts. A més a més, la relació entre les lesions típiques de la MA no és tampoc coneguda. La hipòtesi més acceptada és la coneguda com cascada amiloide segons la qual, la formació de les plaques senils seria el procés fonamental que produiria una resposta, possiblement inflamatòria, que provoqués la degeneració axonal, l'alteració de l'estructura del citosquelet neuronal i l'aparició dels cabdells neurofibril·lars que conduiria a la mort neuronal.

Components de les lesions de la malaltia d'Alzheimer. El procés de formació de les plaques senils no és tampoc conegut. L'anàlisi dels components d'aquestes estructures extracel·lulars indica que el component majoritari és un pèptid de 40 o 42 aminoàcids, el pèptid amiloide o A β . Aquest pèptid és un producte natural del processament d'un precursor, la proteïna precursora de l'amiloide o APP. Com s'indica a la fig. 2, l'APP és una proteïna transmembrana que és processada per l'acció de tres proteases, conegudes històricament com α -, β - i γ -secretases. L'acció de l' α -secretasa solubilitza una proteïna (sAPP α) d'una llargària variable, per l'existència d'isoformes de l'APP, i deixa a la membrana la part C-terminal de l'APP, (C83). Aquesta és processada posteriorment per la γ -secretasa, que allibera el pèptid p3 i el pèptid AICD (per APP *intracellular domain*). Alternativament, si el processament de l'APP comença per l'acció de la β -secretasa, s'allibera una part soluble de l'APP (sAPP β) 64 aminoàcids més llarga que la sAPP α i el que queda retingut a la membrana és el fragment conegut com a C99, que és posteriorment digerit per alliberar el pèptid A β i l'AICD. Aquestes dues vies alternatives són conegudes com «no amiloidogènica» la primera i com «amiloidogènica» la segona, per causa de la capacitat de la darrera de produir el pèptid A β . En condicions normals, el metabolisme de l'APP segueix les dues vies, però d'una forma

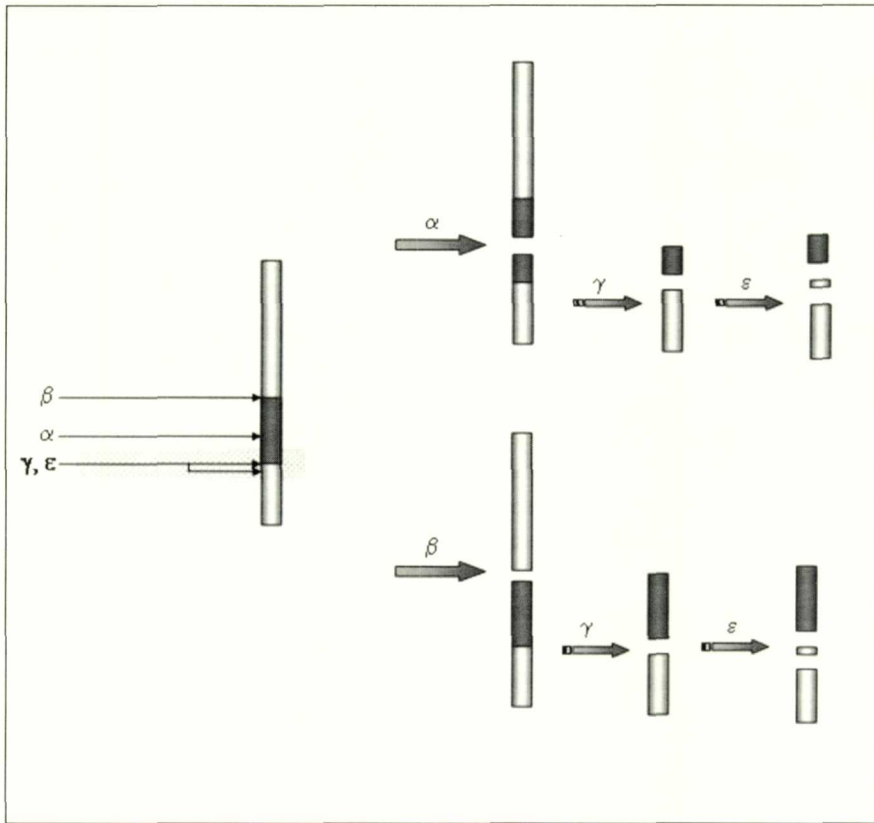


Fig. 2. Processament de l'APP per les secretases. A la part esquerra de la figura es representa esquemàticament l'APP, indicant també, amb gris més obscur, la posició del pèptid A β . Quan s'activa la *via no amiloïdògena* (part dreta superior) l' α -secretasa talla dintre del pèptid A β , alliberant la part N-terminal soluble de l'APP (sAPP α) i deixant a la membrana el fragment C-terminal, que és digerit per l'acció de la γ -secretasa i, posteriorment l' ϵ -secretasa. Pel contrari, la *via amiloïdògena* (part dreta inferior) comença amb l'acció de la β -secretasa que allibera el fragment sAPP β . L'acció posterior de la γ -secretasa allibera el pèptid A β , mentre que l' ϵ -secretasa allibera el fragment C-terminal.

regulada. En la majoria dels casos genètics de MA, es produeix una desregulació d'aquestes vies i la producció del pèptid A β es veu augmentada. A més a més, la proteòlisi catalitzada per la γ -secretasa és heterogènia, la major part del producte té 39-40 aminoàcids de llargària (A β 40), però una part minoritària és lleugerament més llarga i arriba fins als 42-43 aminoàcids (A β 42). La sobreproducció del pèptid A β seria perjudicial per

a les neurones. Possiblement, una de les formes de protecció per a les neurones serà la secreció d'aquest excés a l'espai extracel·lular on s'agregaria en fibril·les que, finalment, formarien les plaques senils. És important assenyalar ací que les característiques fisicoquímiques dels pèptids A β 40 i A β 42 són molt diferents. L'A β 42 té una major tendència a la formació de fibril·les i l'agregació en plaques [35] i, com van demostrar Iwatsubo i col·laboradors, les plaques senils estan formades, fonamentalment, per A β 42 [34].

Com ja ha estat indicat abans, les lesions anatomopatològiques que apareixen al cervell dels malalts d'Alzheimer són dues; a més de les plaques senils, s'hi troben els cabdells neurofibril·lars. Aquests cabdells són dipòsits insolubles majoritàriament formats per la proteïna *tau* (la nomenclatura correcta per a aquesta proteïna és MAPT, per *microtubule associated protein tau*, aquest és el nom que faré servir al llarg d'aquest text). Els cabdells neurofibril·lars són també unes fibril·les formades per l'oligomèrització de la proteïna MAPT en forma de filaments aparellats helicoidalment (en anglès, PHF). El procés d'oligomèrització de MAPT per formar els PHF és desconegut. La MAPT és, com el seu nom indica, una proteïna que ajuda a la formació i l'estabilització dels microtúbuls neuronals i ajuda així al manteniment de l'estructura cel·lular, al transport de vesícules i orgànuls cel·lulars i als processos de creixement i elongació de dendrites i axons. La funció de MAPT ve regulada per un equilibri entre fosforilació i defosforilació en llocs Ser/Thr-Pro i la formació d'estructures anormals ve determinada per una hiperfosforilació en llocs específics de la proteïna que indueixen la formació dels PHF i la formació dels cabdells neurofibril·lars. Cal assenyalar ací que la formació d'estructures insolubles de MAPT no és exclusiva de la MA, sinó que es troben també en altres entitats patològiques com ara la demència frontotemporal, la paràlisi supranuclear progressiva i d'altres.

Les plaques senils i els cabdells neurofibril·lars no són estructures formades per una única proteïna sinó per tot un conjunt de molècules. A hores d'ara no s'ha pogut establir quines d'aquelles molècules, si n'hi ha cap, poden estar relacionades amb la malaltia o bé apareixen a les lesions de la MA per trobar-se «capturades» per aquelles. En concret, les plaques senils contenen components típics de resposta inflammatòria com ara l' α -1-antiquimotripsina, l' α -2-macroglobulina, la proteïna C reactiva o l'apolipoproteïna E. A més a més, la presència de les plaques senils va normalment acompanyada de neurites distròfiques i axons degenerats amb astròcits i microglia activada.

Patró d'aparició de les lesions. L'aparició de la MA és un procés progressiu que segueix un patró relacionat amb l'aparició de les lesions. Estudis anatomopatològics fets en sèries grans de cervells de donants, han permès establir la seqüència temporal i espacial en la formació de les plaques senils i dels cabdells neurofibril·lars. Les plaques senils comencen a formar-se en àrees pobres en mielina del neocòrtex basal. Després s'estenen per l'hipocamp i acaben per arribar a totes les àrees de l'escorça. D'una altra banda, els cabdells neurofibril·lars apareixen inicialment a la regió transentorinal i després s'estenen per la regió entorinal i el corn d'Ammon i pel neocòrtex segons un patró descrit per Braak i Braak [6,7]. Aquest patró d'aparició dels cabdells ha permès dividir l'evolució de la malaltia en sis etapes que es relacionen amb l'evolució clínica. Així, les etapes I-II, les etapes d'afectació de la regió transentorinal, representen el començament de la malaltia i es produeixen sense cap manifestació clínica apreciable. Després, a les etapes III-IV, etapes límbiques, comença a detectar-se la malaltia clínicament. Finalment, les etapes V-VI, etapes d'afectació neocortical, són aquelles que es corresponen amb una MA completa. Així doncs, els símptomes clínics de la malaltia segueixen el procés neuropatològic. Les alteracions de memòria i llenguatge indiquen l'aparició de lesions de l'hipocamp i a l'escorça temporal, mentre que l'aparició de símptomes psiquiàtrics i pèrdua de capacitat del llenguatge i de funcions executives complexes reflecteix l'extensió de les lesions a l'escorça frontal i temporoparietal. Un esquema semblant pot fer-se també amb l'aparició de les plaques senils, però no s'hi observa cap correlació tan clara amb les manifestacions clíniques.

Hipòtesis etiopatològiques. La hipòtesi de la cascada amiloide no més intenta explicar l'evolució dels processos moleculars que s'hi produeixen quan la malaltia ja ha començat però no intenta explicar com comencen aquests processos moleculars. A hores d'ara, i llevat dels casos purament genètics de què parlaré més endavant, cap teoria sembla capaç d'explicar el procés que duu a la mort neuronal, entre altres problemes, perquè no és possible normalment tenir accés a les etapes inicials, preclíniques, de la malaltia, la qual cosa dificulta aquesta anàlisi car no és tasca simple distingir entre els processos causals i aquells processos que són conseqüència de la mateixa neurodegeneració. Un d'aquests és l'existència d'alteracions degudes a estrès oxidatiu. És evident que la neurodegeneració duu a la producció excessiva de radicals lliures que poden ells mateixos establir un bucle de retroalimentació si s'ha produït una disminució

de la capacitat antioxidant del cervell. Però altres causes són també possibles, com les alteracions neuroquímiques, fonamentalment al sistema colinèrgic. Segons s'ha vist, les neurones inicialment afectades per la MA són colinèrgiques i això fa que els dèficits principals en les etapes inicials estiguin relacionats amb aquesta pèrdua funcional. Però altres neurotransmissors també han estat implicats en la fisiopatologia de la malaltia com ara la noradrenalina, la dopamina, neuropèptids i aminoàcids excitotòxics com el glutamat. En qualsevol cas, l'apreciació més generalment acceptada és la que situa els dèficits als diferents sistemes de neurotransmissió com un epifenomen de la MA.

Una altra hipòtesi sobre l'etiologia de la malaltia implica l'existència de trastorns immunitaris, de tipus autoimmunitari, que alteraria la integritat funcional de la barrera hematoencefàlica i, així, disminuiria la capacitat de preservació del sistema nerviós central contra els atacs per part de virus i bacteris, bé directament, bé mitjançant toxines. Una altra possibilitat dintre d'aquesta hipòtesi seria que la desorganització del citoesquelet neuronal provocaria una alteració en l'arquitectura de les membranes cel·lulars que tindria com a conseqüència l'exposició al sistema immunitari, la microglia del cervell, d'epítops normalment separats d'ell.

La tercera hipòtesi que intenta explicar l'etiologia de la malaltia es basa en la detecció de quantitats excessives de metalls, fonamentalment, zinc, coure, alumini i ferro, a les plaques senils. En particular, s'ha trobat una forta correlació entre el nombre de casos amb MA i la concentració d'alumini a les aigües de consum. L'alumini podria estar implicat en la potenciació de l'estrès oxidatiu observat a la MA; a més a més, l'alumini estimula els fagòcits i així contribuiria a la generació de més radicals lliures.

Genètica de la malaltia d'Alzheimer

A hores d'ara, una part molt important del coneixement molecular que existeix sobre els processos que es donen en la malaltia d'Alzheimer ve derivat de l'anàlisi genètica de la malaltia, que ha permès identificar una sèrie de molècules clau. Aquesta anàlisi ha estat possible perquè una part molt reduïda de malalts tenen una història familiar amb una transmissió de la malaltia compatible amb les lleis d'herència de Mendel. Tot i que no hi ha estudis epidemiològics clars, aproximadament un cinc per cent dels malalts d'Alzheimer poden tenir una història familiar de MA. Aquests pocs casos han permès identificar, fins ara, tres gens que provoquen

l'aparició de la malaltia quan apareixen mutacions sobre ells. Des de la perspectiva clínica, aquests casos són molt semblants, generalment amb poques diferències significatives dels malalts sense història familiar clara. Les diferències principals són dues: la mateixa transmissió de la malaltia a la família i una edat de començament de la malaltia de tipus juvenil. De fet, l'existència d'antecedents familiars i l'edat de començament de la malaltia són els dos factors que serveixen per fer una classificació dels malalts dividint-los segons l'existència o no d'antecedents familiars (en formes familiars i formes esporàdiques) i també segons l'edat de començament de la malaltia en formes de començament precoç o presenil (edat de començament inferior als 65 anys) i formes de començament senil (aquestes amb un començament posterior als 65 anys). Òbviament, aquesta classificació és artificial però permet la formació de grups que són útils pel que fa a l'estudi de les característiques de cadascun d'ells. També convé tenir en compte que l'absència d'història familiar en qualsevol malaltia associada a l'envelliment pot ser perquè altres individus dintre de la mateixa família no han pogut desenvolupar la malaltia per haver desaparegut abans de l'edat en què aquesta s'hauria manifestat.

Proteïna precursora de l'amiloide (APP)

Identificació i mutacions. El 1987 fou el primer any d'una sèrie que ha permès als investigadors identificar gens i vies moleculars que dirigeixen la investigació sobre aquesta malaltia en uns processos determinats. Aquell any el grup de St. George-Hyslop trobà que en algunes famílies amb MA el defecte genètic havia de localitzar-se al cromosoma 21 [70]. Poc després, descrivien la clonació del gen que codificava l'APP i que també es localitzava al cromosoma 21 [76]. A més a més, se sabia que els malalts amb síndrome de Down patien d'una forma de deteriorament cognitiu, que fins i tot pot arribar a ser una forma de demència, tot i que no resulta fàcil de mesurar, que tenia un substrat anatomopatològic molt semblant al de la malaltia d'Alzheimer típica, però amb un començament més precoç. Malgrat aquestes coincidències, el mateix grup demostrà poc temps després que la major part de les famílies que St. George-Hyslop considerà lligades al cromosoma 21 no ho eren [77]. No va ser fins al 1991 quan la situació va ser aclarida. Finalment el grup de John Hardy trobà mutacions en un reduït nombre de famílies amb MA familiar [12,26]. Açò fou el reflex d'una situació que ningú no havia sabut preveure en aquell temps, l'existència d'heterogeneïtat genètica. Fins aleshores, es treballava amb el convenciment que una mateixa malaltia genètica havia d'estar causada per

mutacions en un únic gen. La malaltia d'Alzheimer fou de les primeres en què es demostrà que mutacions en més d'un gen poden donar lloc a una mateixa malaltia. Açò fou confirmat poc després pel grup de Schellenberg, qui va demostrar que moltes de les famílies que es pensava que havien estat lligades al cromosoma 21 pel grup de St. George-Hyslop estaven lligades genèticament a un altre locus al cromosoma 14 [63]. L'explicació d'aquesta discrepància és, en realitat, molt simple. Donat que la malaltia en totes les formes familiars era molt similar, amb una edat de començament mitjana semblant, semblava raonable considerar que en totes les famílies estudiades la malaltia deuria aparèixer a conseqüència de mutacions en el mateix gen. Això féu que l'anàlisi estadística de les dades experimentals prenguera en compte el conjunt de les famílies. Les poques famílies lligades al cromosoma 21 donaren uns valors de lligament amb tanta certesa que compensaren els valors deguts a les famílies no lligades, de manera que el resultat global era prou per determinar l'existència de lligament estadísticament significatiu.

A hores d'ara són poques les famílies que, a tot el món, presenten mutacions a l'APP. De manera remarcable, les mutacions descrites fins ara es localitzen en una part molt concreta de la proteïna, al voltant dels llocs on actuen els enzims que processen l'APP per produir el pèptid A β (fig. 3). S'ha vist que l'efecte de les mutacions és alterar el processament de l'APP afavorint la via amiloïdogènica, la qual cosa fa que es produeixi més pèptid A β 40, més pèptid A β 42 o més quantitat de tots dos segons que les mutacions afecten el lloc d'acció de la β -secretasa o el de la γ -secretasa.

També és interessant assenyalar ací que les mutacions en l'APP no són exclusives de la MA. L'any 1990, van Broeckhoven i col·laboradors descrigueren l'existència d'una mutació, E693K, que era la causa d'una forma hereditària de l'amiloïdosi cerebroarterial de tipus flamenc (*Flemish*). En aquest cas, la mutació en l'APP es troba a prop del lloc de reconeixement de l' α -secretasa [81]. Posteriorment s'han descrit altres mutacions que afecten el mateix lloc de la proteïna i que donen lloc a processos semblants; són les mutacions conegudes com *Arctic*, *Iowan* i *Flemish*, en contraposició a la *Dutch*, que fou la primera descrita.

Processament de l'APP. L'APP (fig. 4) és una proteïna transmembrana tipus I codificada per un gen de 18 exons que abasta una regió cromosòmica de 170 kb. El pèptid A β es troba codificat entre els exons 16 i 17 a nivell genètic. Dintre de l'APP, una part del pèptid A β es troba a l'ectodomini de la proteïna mentre l'altra s'inclou a la membrana plasmàtica. L'APP és una

proteïna amb un patró complex d'expressió. Existeixen tres isoformes principals de l'APP [40] que difereixen per l'absència (APP695) o presència (APP751 i APP770) d'un domini inhibidor de proteases de tipus Kunitz (KPI) que es troba a l'extrem N-terminal de la proteïna (fig. 4). A més, les isoformes APP751 i APP770 es diferencien per l'absència o inserció, respectivament, de l'exó 8 [86]. D'una altra banda, l'APP forma part d'una família de gens amb dos altres components, les proteïnes semblants a la precursora de l'amiloide o *amyloid precursor-like protein* (APLP). Aquestes tres proteïnes són molt paregudes però ni APLP-1 ni APLP-2 tenen una seqüència equivalent a la del pèptid A β .

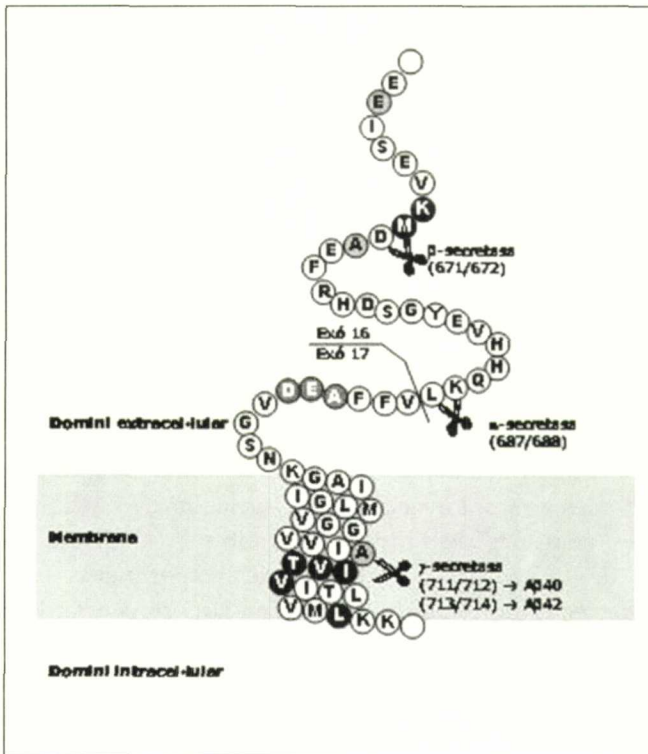


Fig. 3. Detall del pèptid A β indicant la seqüència del pèptid, els punts on tallen les secretases i els canvis identificats en aquesta regió. Els aminoàcids normals s'indiquen amb el codi d'aminoàcid en negre sobre fons blanc. Els canvis polimòrfics, no patològics, identificats s'indiquen amb codi d'aminoàcid en gris clar. Els canvis patològics que donen lloc a una MA familiar s'indiquen amb el codi d'aminoàcid en blanc sobre fons negre. Els canvis patològics que donen lloc a hemorràgies cerebrals (*Dutch, Arctic, Icelandic, Iowan*) s'indiquen amb el codi d'aminoàcid en blanc sobre fons gris fosc.

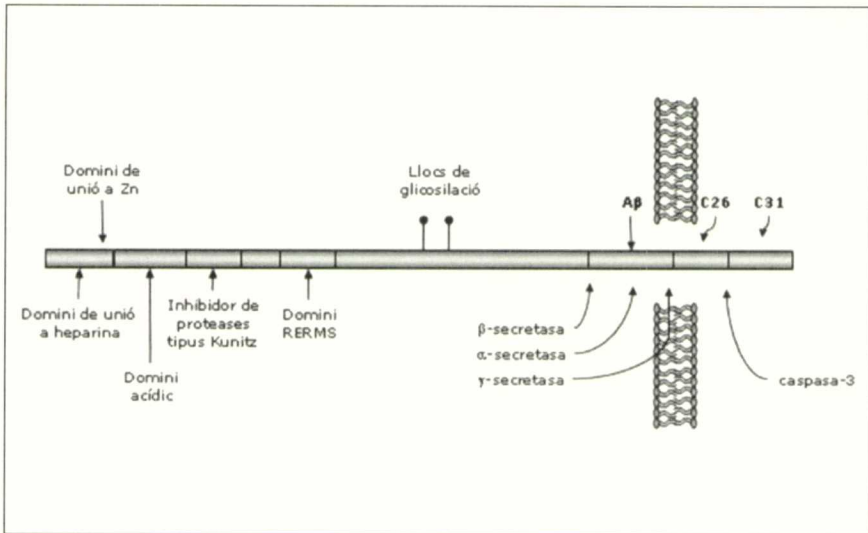


Fig. 4. Representació esquemàtica dels dominis de l'APP. S'indiquen els dominis identificats a la proteïna, els llocs de glicosilació, els punts de reconeixement de les secretases i els fragments C-terminal que resulten de l'acció de les secretases.

Poc es coneix de la funció de l'APP. És aquest un gen amb una expressió augmentada després de patir una lesió cerebral així com per l'efecte de factors neurotròfics i de creixement. Salinero i col·laboradors han demostrat que una isoforma de l'APP, modificada posttraduccionalment amb sulfat és capaç de promoure el creixement neurític *in vitro* [62]. D'una altra banda, APP és una proteïna que es troba als terminals sinàptics de les neurones [41]. A més a més, l'injecció intraventricular de sAPP recombinant protegeix les neurones de l'hipocamp contra la isquèmia i afavoreix l'adquisició de la memòria [50,89]. Altres experiments *in vitro* han demostrat efectes importants de la sAPP en supervivència de neurones, creixement neurític i adhesió cel·lular (revisat a [61]). La sAPP pot estar implicada en la proliferació de cèl·lules embrionàries [56]. Finalment, s'ha proposat que l'APP regula, inhibint-los, els nivells de β -catenina i que les mutacions a l'APP potencien aquesta funció. Així doncs, aquesta funció suggeriria que les mutacions a l'APP poden provocar la mort de les neurones per apoptosi [13].

Però el processament de l'APP també inclou la hidròlisi del AICD per una caspasa encara per determinar (revisat en [73]). Aquest processament allibera un pèptid anomenat C31 que és un potent inductor de la mort cel·lular [47]. D'una altra banda, el pèptid A β sembla ser ell mateix neu-

rotòxic, així la sobreproducció del pèptid A β que és conseqüència de les mutacions al gen de l'APP podria augmentar l'expressió de les caspases que digeririen els AICD. A més a més, la regió citoplasmàtica de l'APP es troba molt conservada a la família gènica i és susceptible de ser hidrolitzada per les caspases i induir al seu torn la mort neuronal per apoptosi [25]. Això fa que un augment en l'activitat de les caspases degut a la sobreproducció del pèptid A β tinga com conseqüència un augment en la producció del pèptid C31, potser incloent-hi ací els fragments derivats de l'APP i de les APLP-1 i APLP-2, de manera que s'establisca un sistema de retroalimentació que potenciaria la mort neuronal. Alternativament, també s'ha proposat que la toxicitat deguda a C31 pot ser independent de les caspases i que siga conseqüència d'un augment en el processament de l'APP per la via amiloïdògena [19]. Finalment, la producció de C31 sembla induir l'expressió de la cinasa de la sintasa del glicogen-3b, per causa de la relació d'aquesta cinasa amb el component majoritari dels cabdells neurofibril·lars, la sobreproducció del pèptid C31 podria potenciar l'hiperfosforilació de la proteïna MAPT que provocaria o, si més no, potenciaria la formació dels cabdells neurofibril·lars.

APP i MAPT. Amb independència de la hipòtesi etiopatològica que considerem, és evident que el procés neurodegeneratiu que coneixem com malaltia d'Alzheimer provoca la mort neuronal i l'aparició de dos tipus de lesions anatomopatològiques que han de tenir alguna relació. A hores d'ara, no hi ha cap demostració de com l'aparició d'una de les lesions acaba produint l'aparició de l'altra.

Malgrat que resulti molt atractiu el lligar l'existència de les dues lesions i considerar l'una com la causa de l'altra, seria igualment possible la situació oposada, que les dues lesions siguen completament independents. Açò recolza en el fet que no és infreqüent trobar plaques senils o cabdells neurofibril·lars independents els uns dels altres. Cabdells neurofibril·lars formats per l'agregació de proteïna MAPT molt semblant o, fins i tot, indistingibles des d'un punt de vista bioquímic dels trobats a la malaltia d'Alzheimer han estat descrits en una dotzena, com a mínim, de malalties neurodegeneratives, malalties en què pràcticament no apareixen dipòsits d'A β . Però el contrari també és veritat; uns pocs casos han estat descrits en què l'anàlisi del cervell no mostrava gaires cabdells, només uns pocs a nivell del neocòrtex malgrat haver-hi un nombre important de plaques senils [80]. Semblaria, però, que en uns pocs d'aquests casos hi ha formació d'un altre tipus d'inclusió citoplasmàtica, els cossos de Lewy,

que són acúmul·ls insolubles d'una proteïna anomenada α -sinucleïna (SNCA), proteïna relacionada amb la MP (malaltia de Parkinson). Aquesta variant de la MA, coneguda com variant amb cossos de Lewy, i que és diferent de la malaltia amb cossos de Lewy difusa, que té molt poques plaques senils, si es que en té alguna, podria ser una forma de MA amb la quantitat habitual d'A β [30]. Igualment, l'aparició de cabdells neurofibril·lars en absència de plaques senils (paràlisi supranuclear progressiva, panencefalitis esclerosant subaguda) podria interpretar-se com una prova que els cabdells són respostes secundàries de les cèl·lules a lesions cerebrals. Si aquesta interpretació fóra correcta, aleshores els cabdells de la MA serien una més de les manifestacions secundàries que s'originen a conseqüència de l'aparició i/o acumulació del pèptid A β .

Presenilines. El descobriment de la presenilina 1 (PSEN1) es va produir mitjançant l'anàlisi genètica de les famílies lligades al cromosoma 14 [67]. Poc després, es va determinar l'existència d'una proteïna homòloga al cromosoma 1, la presenilina 2 (o PSEN2) [45]. Aquestes dues proteïnes presenten mutacions causals de la MA amb una edat de començament que pot arribar a ser inferior als 30 anys. Al contrari del que succeeix amb l'APP, les mutacions dintre d'aquest gen no segueixen un patró especial, sinó que es distribueixen per tot el gen, tot i que podria considerar-se que hi ha una mínima agrupació a l'exó 9. PSEN1 és una proteïna amb 12 exons codificada per un gen d'entre 50-75 Kb. La proteïna té 467 aminoàcids i s'expressa de manera ubíqua per tot el cervell. Aquesta proteïna pot tenir dues isoformes fonamentalment, una sense l'exó 8, la qual cosa li fa perdre un domini habitualment associat a la membrana plasmàtica; l'altra isoforma resulta d'un processament que elimina la seqüència VRSQ que es troba al final de l'exó 3 per causa de l'existència de dues seqüències consens per al processament. D'altra banda, aquesta seqüència, VRSQ, pot servir de diana per a alguna cinasa tot i que, a hores d'ara, encara no s'ha comprovat la seua funcionalitat. L'estructura gènica i proteica de les dues PSEN és molt semblant (fig. 5).

Al contrari del que passa amb l'APP, el nombre de mutacions trobades en famílies amb MA és molt superior. El setembre de 2004 el nombre de mutacions descrites a PSEN1 és de 139, mentre que el nombre de famílies afectades és de 277, és a dir un 60-65 per cent de les famílies analitzades. De manera semblant al que passava amb l'APP, les mutacions a la PSEN2 no són massa abundants (10 mutacions descrites en 16 famílies) (per veure un llistat actualitzat de mutacions, vegeu <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations>).

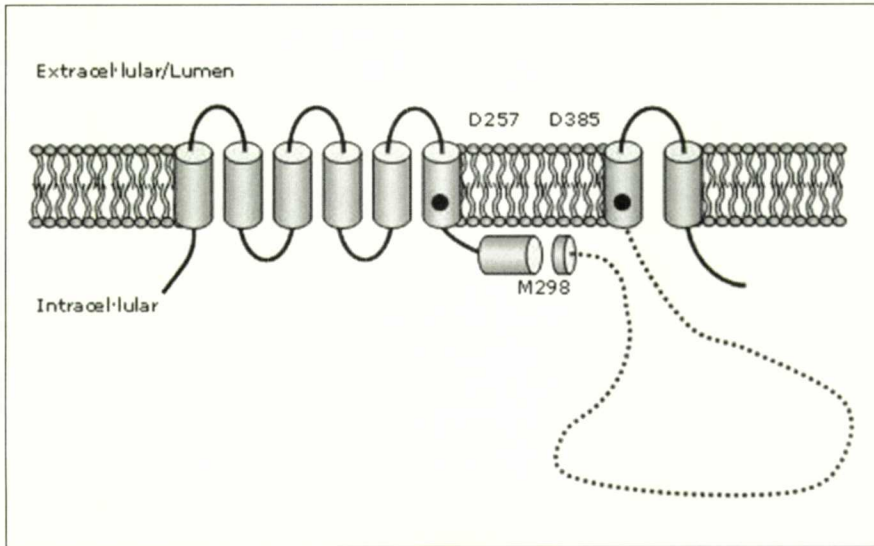


Fig. 5. Representació esquemàtica de les presenilines. S'indica l'orientació de la proteïna en la membrana, l'aminoàcid on talla la presenilinas (M298) i els dos residus d'àcid aspàrtic que formen el centre actiu de l'enzim. El bucle principal entre els dominis transmembrana 6 i 7 es representa amb punts per ser un dels llocs on divergeixen PSEN1 i PSEN2.

Relació amb la MA. Les presenilines són proteïnes de membrana tot i que la seua topologia precisa no siga completament coneguda. Alguns grups mantenen la idea que PSEN1 és una proteïna amb 8 dominis transmembrana i altres que la consideren membre de les proteïnes amb 7 dominis transmembrana [16]. L'homologia entre les dues proteïnes és molt gran, al voltant del 65 per cent, sent major als dominis N-terminal i el sisè bucle hidrofílic. L'expressió de PSEN1 és bàsicament neuronal sense marcatge d'altres tipus cel·lulars.

La maduració de les presenilines (PSEN) implica la hidròlisi d'un enllaç peptídic per formar 2 dominis independents però que resten associats. L'enzim que catalitza aquesta hidròlisi és, fins al moment, desconegut i s'anomena *presenilinas*. A més d'aquesta hidròlisi, les presenilines també son substrat per a dues altres hidròlisis a les posicions 345/346 i 329/330, que es troben en seqüències semblants a les dianes de les proteases de tipus caspasa [39]. Kim i col·laboradors també han observat que la presència de la mutació N141I en PSEN2 augmenta la susceptibilitat contra aquesta hidròlisi, mentre que altres mutacions no tenen un efecte semblant en la susceptibilitat de la proteïna per capsases. Més recentment, Tekirian i col·laboradors han estudiat la distribució dels fragments C-terminals

obtinguts a partir de la hidròlisi de PSEN2 per la presenilinasina o per la caspasa i ha pogut demostrar que la distribució subcel·lular d'aquests dos tipus de fragments és diferent [79]. A més a més, també demostraren que el fragment derivat de l'acció de la caspasa tenia una distribució diferent dintre dels orgànuls cel·lulars segons l'expressió de PSEN2, la qual cosa suggereix l'existència d'un mecanisme de regulació específic per a cada tipus de processament hidrolític.

El descobriment de les presenilines donà a conèixer unes proteïnes de funció desconeguda, per la qual cosa molts grups s'interessaren en identificar i caracteritzar proteïnes que pogueren interaccionar amb elles (revisat a [73]). A la taula 1 es fa un resum de part de les interaccions entre les PSENs i altres proteïnes.

Hi ha múltiples evidències que el paper de les PSEN es relaciona amb el metabolisme de l'APP, concretament amb la producció d'A β . D'una banda, les mutacions lligades a MA familiar produeixen un augment de la producció del pèptid A β 42 [65]; d'una altra, aquest efecte observat *in vivo* també es produeix en models *in vitro* de sobreexpressió com ara cultiu cel·lular o animals transgènics [2,17] encara que aquest efecte s'acompanya de la disminució de la secreció de sAPP β [2,48]. Com poden les presenilines tenir aquest efecte? D'una banda, és possible que les mateixes PSEN siguin les responsables del processament de l'APP i la formació de l'A β . Tres grups varen arribar a una conclusió semblant després de marcar amb inhibidors específics de l'activitat γ -secretasa els dos fragments resultants de l'acció de la presenilinasina [22,46,66]. A més a més, s'ha determinat que dos residus Asp (Asp257 i Asp385) són crítics per al processament de les PSEN per la presenilinasina i, per extensió, per a la formació d'A β [3,10,58]. Aquest resultat fou fonamental per proposar que les PSEN eren un nou tipus de aspartil proteases activades autocatalíticament, però, com discuteixen extensament Suh i Checler [73], el conjunt de resultats farmacològics i per mutagènesi permeten demostrar que les activitats γ -secretasa i presenilinasina poden ser diferenciades i separades.

Yu i col·laboradors demostraren que PSEN1 era part d'un complex i que el segon dels components del complex era una proteïna anomenada nicastrina (NCSTN) [87]. NCSTN és una proteïna de membrana tipus I glicosilada i que necessita la presència de PSEN per migrar del reticle endoplasmàtic fins a la superfície cel·lular, però una reducció en el nivell d'expressió de NCSTN també afecta l'estabilitat de PSEN [20]. Per sobre de tot açò, s'ha vist que la coexpressió de NCSTN i la forma silvestre de la PSEN1, *in vitro*, no són suficients per augmentar la producció d'A β , la qual

Taula 1. Proteïnes que interaccionen amb les PSENs i funcions hipotètiques

Regió d'unió	Nom	Interacciona amb	Funció teòrica	Ref.
N-terminus	GSK3b	PSEN1	Serin-treonin-proteïna cinasa	[74]
N-terminus	TPIP	PSEN1	?	[57]
N-terminus	RabGDI	PSEN1	Inhibidor de la dissociació de Rab GDP, regulador del trànsit de vesícules	[64]
N-terminus	CLIP-170	PSEN1	Enllaça orgànuls de membrana als microtúbuls	[36]
Bucle gran	b/d-Catenin	PSEN1	Senyalització per Wnt, adhesió cel·lular	[90]
Bucle gran	ABP-280	Ambdós	Entrecreuament dels filaments d'actina i lligam entre filaments d'actina i glicoproteïnes de membrana	[88]
Bucle gran	RAB11	PSEN1	Trànsit i reciclatge de proteïnes inter-nalitzades	[18]
Bucle gran	BCL-XL	Ambdós	Antiapoptosi	[53]
Bucle gran	Calmyrin	PSEN2	Calci-miristoil?	[71]
Bucle gran	HC5/ZETA	PSEN1	Subunitats catalítiques, 20S del proteasoma	[82]
C-terminus	G0	PSEN1	Senyalització	[69]
C-terminus	Calsenilin	Ambdós	?, unió a calci	[9]
C-terminus	m-Calpain	PSEN2	Proteasa de tiol calci dependent	[68]
C-terminus	PSAP	PSEN1	?	[85]
C-terminus	Omi/HtrA2	PSEN1	Serin proteasa	[29]
Prot.Sencera	BCL-2	PSEN1	Antiapoptòtic	[1]
Prot.Sencera	QM/JIF-1	PSEN1	Regulador negatiu de la transcripció de c-jun	[33]
Prot.Sencera	NOTCH1	PSEN1	Media el destí cel·lular al llarg del desenvolupament	[59]
Prot.Sencera	IRE1	PSEN1	Cinasa transmembrana, sensor d'estrès del reticle endoplasmàtic	[37]

cosa suggereix l'existència d'altres factors necessaris per aconseguir l'activitat γ -secretasa. Mitjançant l'anàlisi de vies moleculars equivalents en *Caenorhabditis elegans* es van poder identificar altres dos components d'aquest complex, PEN2 i APH1 [23,27]. Com ja s'havia demostrat, PSEN s'uneix a NOTCH per processar-la mitjançant l'activitat γ -secretasa. Aquesta activitat necessita que tots els membres del complex hi estiguin

presentes, la reducció de l'expressió de qualsevol d'ells o l'expressió de qualsevol combinació de tres dels quatre components dona lloc a l'eliminació de l'activitat γ -secretasa lligada a les presenilines [23,44,75]. A més a més, aquest complex pot acoblar-se segons un patró establert que començaria per la unió entre NCTS i APH1. Aquest primer complex s'associa a la membrana del reticle o de l'espai de transició al Golgi i després uneix la PSEN immadura, formant-se el complex amb tres proteïnes. La maduració de NCSTN al Golgi/*trans*Golgi i l'entrada de PEN2 al complex afavoririen el processament i maduració de la PSEN, que és hidrolitzada específicament per la presenilinas.

Però no tota l' $A\beta$ es produeix a través de l'activitat γ -secretasa de les PSEN. S'ha demostrat que, en absència de PSEN1 i PSNE2, les cèl·lules encara mantenen una mínima activitat γ -secretasa que es troba localitzada al començament de la via secretora [83].

Altres funcions del complex g-secretasa. La identificació de les PSEN permeté descobrir un nou mecanisme enzimàtic al si de les cèl·lules. El processament de l'APP per la γ -secretasa era una reacció atípica perquè necessita d'un ambient hidrofílic en una part de la proteïna que es troba dintre d'una membrana cel·lular. Aquesta reacció, anomenada proteolisi intramembranar regulada (en anglès, *RIP*), no és, però, exclusiva de l'APP i s'han identificat altres substrats potencials per a aquest procés [42]. El més important d'aquests és el receptor de NOTCH1, una proteïna transmembrana de tipus I que presenta un processament, induït per la unió del lligam, equivalent al de l'APP i que té un paper fonamental en el desenvolupament embrionari. Per una discussió d'aquest punt vegeu Kopan i Ilagan [42].

Apolipoproteïna E. Fins ara hem vist com la identificació de gens alterats en les formes familiars de la MA ha permès caracteritzar algunes vies moleculars importants per a la malaltia i conèixer altres molècules també implicades en aquest procés. Però la major part dels malalts d'Alzheimer no pertanyen a formes familiars amb un patró d'herència clarament definit. En aquests casos, la malaltia serà el resultat d'una combinació de factors, ambientals, però també genètics. El 1991 es va descriure l'existència de lligament genètic entre la malaltia d'Alzheimer familiar amb començament senil i un *locus* del cromosoma 19 [55]. Més tard es va aïllar aquest gen i es va comprovar que era el gen que codificava l'apolipoproteïna E (APOE) [72]. L'APOE és una proteïna que està implicada en el

metabolisme del colesterol, transportant-lo entre teixits diferents i a l'interior d'un mateix teixit. També, és un dels factors genètics que causa la hiperlipoproteinèmia familiar. Genèticament, hi apareixen 3 al·lels majoritaris a la població, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$, tot i que existeixen moltes altres variants amb freqüències molt reduïdes. El grup responsable de la identificació d'aquest gen en relació amb la malaltia d'Alzheimer demostrà de manera prou concloent que la possessió de, almenys, una còpia de l'al·lel $\epsilon 4$ era suficient per augmentar el risc de patir la MA. A més a més, aquest risc estadístic donava suport a l'existència d'un efecte dependent de la dosi que feia que a major dosi (2 còpies, 1 còpia o cap còpia de l'al·lel $\epsilon 4$), l'aparició de la malaltia fos més precoç i el grau de deposició del pèptid $A\beta$ fós més important [15,72]. D'una altra banda, Corder i col·laboradors també proposaren que, en absència de l'al·lel $\epsilon 4$, la possessió de, almenys, un al·lel $\epsilon 2$ podia resultar, d'altra banda, protector contra la malaltia. Bickeboller i col·laboradors quantificaren amb més precisió l'efecte de la possessió de l'al·lel $\epsilon 4$ en el risc de la malaltia i observaren que, comparant amb el genotip $\epsilon 3/\epsilon 3$, el risc de patir una MA d'una persona amb el genotip $\epsilon 3/\epsilon 4$ era de 2,2 voltes el del control, mentre que el mateix risc per a una persona amb el genotip $\epsilon 4/\epsilon 4$ era d'11,2. A més a més, varen poder demostrar que l'efecte de l'APOE era més gran en el grup de edat entre 60 i 79 anys [5]. A hores d'ara no queda clar per què determinats individus amb el mateix genotip $\epsilon 3/\epsilon 4$ semblen resistents de patir la malaltia mentre altres la pateixen, en teoria, per la possessió d'un genotip particular a aquest *locus*. L'existència d'altres factors modificadors ha estat proposada però mai demostrada. En tot cas, sembla que la configuració genètica que pot estar relacionada amb la MA inclouria també altres polimorfismes dintre d'aquest *locus*, com són aquells que apareixen al promotor [8,43].

L'APOE no és un marcador específic de la MA. S'ha vist que la possessió d'un al·lel $\epsilon 4$ també té una influència amb característiques clíniques en altres malalties del sistema nerviós com ara l'esclerosi múltiple [11], la resposta al traumatisme cranial [78], les malalties vasculars [24], les demències inespecífiques [52] o l'esquizofrènia [31]. Tot açò suggereix que l'efecte fisiològic de l'APOE no és iniciar la malaltia, sinó dificultar l'acció dels mecanismes compensadors que el cervell posarà en marxa per respondre a les agressions que siguin la veritable causa de la malaltia.

La MA és una malaltia complexa. De l'anàlisi de la situació a la població amb una malaltia d'Alzheimer de tipus senil podem extraure dues observacions. D'una banda, que no totes aquelles persones que tenen

un al·lel $\epsilon 4$ són predisposades a patir la malaltia i d'una altra, que molts malalts no presenten cap al·lel de risc a aquest locus. Així doncs, el gen de l'APOE no és l'únic factor genètic de risc de la MA i d'altres esperen ser descoberts. En aquest sentit, les aproximacions metodològiques a l'abast dels investigadors, aquelles típiques de l'epidemiologia genètica, depenen força de la importància que el factor cercat pugui tenir pel que fa al risc de desenvolupar la malaltia. En aquests darrers anys, dues han estat les aproximacions més usades per identificar variabilitat genètica associada amb la MA. D'una banda els estudis de gen candidat, en els quals es formula una hipòtesi derivada del coneixement anterior sobre la fisiopatologia de la malaltia i sobre la funció d'un gen que és el gen candidat. Aquest tipus d'estudis, normalment duts a terme mitjançant un disseny cas-control, estan subjectes a un nombre important de factors i de biaixos que han de controlar-se per evitar l'aparició de falsos positius o falsos negatius als resultats. D'una altra banda, els estudis genètics sense hipòtesi prèvia s'han dut a terme en poblacions amb antecedents familiars, normalment mitjançant un disseny de tipus *parelles de germans*. Aquests són estudis complexos que necessiten un nombre molt important de malalts per poder arribar a tenir un nivell adequat de potència estadística i demanen molts recursos econòmics i de temps per poder dur-se a terme. A més, són estudis que, al contrari del que succeeix als estudis familiars amb famílies amb herència autosòmica dominant, els resultats només permeten identificar *locus* amb una grandària molt superior a aquells fins al punt a on no es pot avançar en la identificació dels gens si no és mitjançant estudis de tipus gen candidat. Però aquests estudis presenten l'avantatge que permeten identificar més d'un *locus* per analitzar una població gran de malalts, normalment al voltant de les 500 parelles de malalts. Així doncs, aquesta aproximació aplicada a una malaltia etiopatogènicament complexa com la MA ens permet identificar un nombre de variable de *loci* que dependria del risc que cadascun d'aquells *loci* conferira i de la potència estadística de la població.

Estudis cas-control. Cercant la base de dades pública de literatura mèdica PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed>) amb els termes Alzheimer i *case-control* s'obté un total de 1138 referències a treballs publicats des del 1966. Fins ara, de tots els gens estudiats, molt pocs són els que han arribat a donar uns resultats consistents entre diferents estudis. Aquesta falta de reproduïbilitat pot estar causada per problemes de tipus estadístic (falsos positius o negatius, potència estadística

compromesa), en la selecció de les poblacions analitzades (criteris clínics diferents, biaixos existents a la població) o problemes de tipus genètics (origen ètnic diferent de les poblacions entre diversos estudis). En tot cas, pocs resultats han arribat a tenir la consideració de consistents i, molt menys, han arribat al nivell de confiança i reproducibilitat de l'APOE.

Diversos laboratoris s'han interessat per la identificació de factors de susceptibilitat de la malaltia. Les hipòtesis establertes per a la selecció dels gens d'interès van des dels hipotèticament implicats en el metabolisme del pèptid A β (*APOE*, *PSEN1*, *PSNE2*, *A2M*) o del colesterol (*LRP*, *LRPAP1*, *VLDLR*, *LPL*), fins a aquells implicats en l'estrès oxidatiu (*NOS3*, *NOS2*, *DLST*, *CYP2D6*, *HEE*), la inflamació (*HLA-A2*, *IL-1A/1B*, *IL6*, *TNF α*), les malalties cardiovasculars (*ACE*, *CYSC*) o altres implicats en malalties relacionades (*MAPT*, *NACP*, *PRNP*) (revisat en [14]).

Estudis familiars. Els estudis familiars fets sobre la MA de començament senil i amb història familiar han identificat tres *loci* de manera consistent pels grups de la Duke University (Margaret Pericak-Vance), Vanderbilt University (Johnatan Haines), Washington University (Alison Goate), Harvard University (Rudy Tanzi) i National Institute of Aging (John Hardy) entre d'altres col·laboradors. El grup de Pericak-Vance demostrà l'existència d'un gen relacionat amb la MA al cromosoma 12 [54]. Aquest resultat fou confirmat per dos altres grups tot i que les regions cromosòmiques identificades no coincidien físicament [60,84]. Més endavant Kehoe i col·laboradors, Ertekin-Taner i col·laboradors i Bertram i col·laboradors, presentaren els resultats de tres anàlisis diferents amb punts de coincidència als cromosomes 10, 6 i 9 [4,21,38,51]. A hores d'ara, els gens responsables d'aquestes associacions no estan clarament identificats tot i que hi ha hagut indicacions que el gen del cromosoma 12 podria ser l' α 2-macroglobulina o la proteïna semblant al receptor de lipoproteïnes (*LRP*). En el cas del cromosoma 10 se suggerí l'enzim que degrada la insulina (*IDE*). En tot cas, encara no s'ha arribat a obtenir la prova definitiva de la implicació d'aquestos gens en el desenvolupament de la malaltia. Cal imaginar que els propers anys ens duran noves troballes genètiques que, combinades amb el coneixement assolit per altres aproximacions, ens aclariran les causes de la malaltia i dirigiran amb més encert el disseny d'aproximacions terapèutiques efectives.

Bibliografia

1. Alberici A, Moratto D, Benussi L, Gasparini L, Ghidoni R, Gatta LB, Finazzi D, Frisoni GB, Trabucchi M, Growdon JH, Nitsch RM, Binetti G (1999) Presenilin 1 protein directly interacts with Bcl-2. *J Biol Chem* 274:30764-30769
2. Ancolio K, Marambaud P, Dauch P, Checler F (1997) α -secretase-derived product of β -amyloid precursor protein is decreased by presenilin 1 mutations linked to familial Alzheimer's disease. *J Neurochem* 69:2494-2499
3. Berezovska O, Jack C, McLean P, Aster JC, Hicks C, Xia W, Wolfe MS, Kimberly WT, Weinmaster G, Selkoe DJ, Hyman BT (2000) Aspartate mutations in presenilin and γ -secretase inhibitors both impair notch1 proteolysis and nuclear translocation with relative preservation of notch1 signaling. *J Neurochem* 75:583-593
4. Bertram L, Blacker D, Mullin K, Keeney D, Jones J, Basu S, Yhu S, McInnis MG, Go RC, Vekrellis K, Selkoe DJ, Saunders AJ, Tanzi RE (2000) Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. *Science* 290:2302-2303
5. Bickeboller H, Campion D, Brice A, Amouyel P, Hannequin D, Didierjean O, Penet C, Martin C, Perez-Tur J, Michon A, Dubois B, Ledoze F, Thomas-Anterion C, Pasquier F, Puel M, Demonet JF, Moreaud O, Babron MC, Meulien D, Guez D, Chartier-Harlin MC, Frebourg T, Agid Y, Martinez M, Clerget-Darpoux F (1997) Apolipoprotein E and Alzheimer disease: genotype-specific risks by age and sex. *Am J Hum Genet* 60:439-446
6. Braak H, Braak E (1995) Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging* 16:271-278; discussion 278-284
7. Braak H, Braak E (1997) Diagnostic criteria for neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 18:S85-88
8. Bullido MJ, Artiga MJ, Recuero M, Sastre I, Garcia MA, Aldudo J, Lendon C, Han SW, Morris JC, Frank A, Vazquez J, Goate A, Valdivieso F (1998) A polymorphism in the regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia. *Nat Genet* 18:69-71
9. Buxbaum JD, Choi EK, Luo Y, Lilliehook C, Crowley AC, Merriam DE, Wasco W (1998) Calsenilin: a calcium-binding protein that interacts with the presenilins and regulates the levels of a presenilin fragment. *Nat Med* 4:1177-1181
10. Capell A, Steiner H, Willem M, Kaiser H, Meyer C, Walter J, Lammich S, Multhaup G, Haass C (2000) Maturation and pro-peptide cleavage of β -secretase. *J Biol Chem* 275:30849-30854
11. Chapman J, Vinokurov S, Achiron A, Karussis DM, Mitosek-Szewczyk K, Birnbaum M, Michaelson DM, Korczyn AD (2001) APOE genotype is a major predictor of long-term progression of disability in MS. *Neurology* 56:312-316
12. Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H, Warren A, Hughes D, Fidani L, Goate A, Rossor M, Roques P, Hardy J, Mullan M (1991) Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature* 353:844-846
13. Chen YZ (2004) APP induces neuronal apoptosis through APP-BP1-mediated down regulation of beta-catenin. *Apoptosis* 9:415-422
14. Combarros O, Álvarez-Arcaya A, Sánchez-Guerra M, Infante J, Berciano J (2002) Candidate gene association studies in sporadic Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 14:41-54
15. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993) Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921-923
16. Doan A, Thinakaran G, Borchelt DR, Slunt HH, Ratovitsky T, Podlisky M, Selkoe DJ, Seeger M, Gandy SE, Price DL, Sisodia SS (1996) Protein topology of presenilin 1. *Neuron* 17:1023-1030

17. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez-Tur J, Hutton M, Buee L, Harigaya Y, Yager D, Morgan D, Gordon MN, Holcomb L, Refolo L, Zenk B, Hardy J, Younkin S (1996) Increased amyloid- β 42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 383:710-713
18. Dumanchin C, Czech C, Campion D, Cuif MH, Poyot T, Martin C, Charbonnier F, Goud B, Pradier L, Frebourg T (1999) Presenilins interact with rab11, a small GTPase involved in the regulation of vesicular transport *Hum Mol Genet* 8:1263-1269
19. Dumanchin-Njock C, Alves da Costa CA, Mercken L, Pradier L, Checler F (2001) The caspase-derived C-terminal fragment of β APP induces caspase-independent toxicity and triggers selective increase of A β 42 in mammalian cells. *J Neurochem* 78:1153-1161
20. Edbauer D, Winkler E, Haass C, Steiner H (2002) Presenilin and nicastrin regulate each other and determine amyloid β -peptide production via complex formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:8666-8671
21. Ertekin-Taner N, Graff-Radford N, Younkin LH, Eckman C, Baker M, Adamson J, Ronald J, Blangero J, Hutton M, Younkin SG (2000) Linkage of plasma A β 42 to a quantitative locus on chromosome 10 in late-onset Alzheimer's disease pedigrees. *Science* 290:2303-2304
22. Esler WP, Kimberly WT, Ostaszewski BL, Diehl TS, Moore CL, Tsai JY, Rahmati T, Xia W, Selkoe DJ, Wolfe MS (2000) Transition-state analogue inhibitors of γ -secretase bind directly to presenilin-1. *Nat Cell Biol* 2:428-434
23. Francis R, McGrath G, Zhang J, Ruddy DA, Sym M, Apfeld J, Nicoll M, Maxwell M, Hai B, Ellis MC, Parks AL, Xu W, Li J, Gurney M, Myers RL, Himes CS, Hiesch R, Ruble C, Nye JS, Curtis D (2002) aph-1 and pen-2 are required for Notch pathway signaling, γ -secretase cleavage of β APP, and presenilin protein accumulation. *Dev Cell* 3:85-97
24. Frisoni GB, Calabresi L, Geroldi C, Bianchetti A, Al DA, Govoni S, Sirtori CR, Trabucchi M, Franceschini G (1994) Apolipoprotein E epsilon 4 allele in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dementia* 5:240-242
25. Galvan V, Chen S, Lu D, Logvinova A, Goldsmith P, Koo EH, Bredesen DE (2002) Caspase cleavage of members of the amyloid precursor family of proteins. *J Neurochem* 82:283-294
26. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, Mant R, Newton P, Rooke K, Roques P, Talbot C, Pericak-Vance M, Roses A, Williamson R, Rossor M, Owen M, Hardy J (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349:704-706
27. Goutte C, Tsunozaki M, Hale VA, Priess JR (2002) APH-1 is a multipass membrane protein essential for the Notch signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:775-779
28. Graeber MB, Mehraein P (1999) Reanalysis of the first case of Alzheimer's disease, *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249:10-13
29. Gupta S, Singh R, Datta P, Zhang Z, Orr C, Lu Z, DuBois G, Zervos AS, Meisler MH, Srinivasula SM, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES (2004) The carboxy terminal tail of presenilin regulates Omi/HtrA2 protease activity. *J Biol Chem*
30. Hansen LA, Masliah E, Galasko D, Terry RD (1993) Plaque-only Alzheimer disease is usually the lewy body variant, and vice versa. *J Neuropathol Exp Neurol* 52:648-654
31. Harrington CR, Roth M, Xuereb JH, McKenna PJ, Wischik CM (1995) Apolipoprotein E type ϵ 4 allele frequency is increased in patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 202:101-104
32. Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA (2003) Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurol* 60:1119-1122
33. Imafuku I, Masaki T, Waragai M, Takeuchi S, Kawabata M, Hirai S, Ohno S, Nee LE, Lippa CF, Kanazawa I, Imagawa M, Okazawa H (1999) Presenilin 1 suppresses the function of c-Jun homodimers via interaction with QM/Jif-1. *J Cell Biol* 147:121-134

34. Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y (1994) Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43). *Neuron* 13:45-53
35. Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT Jr (1993) The carboxy terminus of the β -amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 32:4693-4697
36. Johnsingh AA, Johnston JM, Merz G, Xu J, Kotula L, Jacobsen JS, Tezapsidis N (2000) Altered binding of mutated presenilin with cytoskeleton-interacting proteins. *FEBS Lett* 465:53-58
37. Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, Morihara T, Yoneda T, Gomi F, Mori Y, Nakano Y, Takeda J, Tsuda T, Itoyama Y, Murayama O, Takashima A, St George-Hyslop P, Takeda M, Tohyama M (1999) Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol* 1:479-485
38. Kehoe P, Wavrant-De Vrieze F, Crook R, Wu WS, Holmans P, Fenton I, Spurlock G, Norton N, Williams H, Williams N, Lovestone S, Perez-Tur J, Hutton M, Chartier-Harlin MC, Shears S, Roehl K, Booth J, Van Voorst W, Ramic D, Williams J, Goate A, Hardy J, Owen MJ (1999) A full genome scan for late onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 8:237-245
39. Kim TW, Pettingell WH, Jung YK, Kovacs DM, Tanzi RE (1997) Alternative cleavage of Alzheimer-associated presenilins during apoptosis by a caspase-3 family protease. *Science* 277:373-376
40. Kitaguchi N, Takahashi Y, Tokushima Y, Shiojiri S, Ito H (1988) Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity. *Nature* 331:530-532
41. Koo EH, Sisodia SS, Archer DR, Martin LJ, Weidemann A, Beyreuther K, Fischer P, Masters CL, Price DL (1990) Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:1561-1565
42. Kopan R, Ilagan MX (2004) γ -Secretase: proteasome of the membrane? *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:499-504
43. Lambert JC, Perez-Tur J, Dupire MJ, Galasko D, Mann D, Amouyel P, Hardy J, Delacourte A, Chartier-Harlin MC (1997) Distortion of allelic expression of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Hum Molec Genet* 6:2151-2154
44. Lee SF, Shah S, Li H, Yu C, Han W, Yu G (2002) Mammalian APH-1 interacts with presenilin and nicastrin and is required for intramembrane proteolysis of amyloid- β precursor protein and Notch. *J Biol Chem* 277:45013-45019
45. Levy-Lahad E, Poorkaj P, Wang K, Fu YH, Oshima J, Mulligan J, Schellenberg GD (1996) Genomic structure and expression of STM2, the chromosome 1 familial Alzheimer disease gene. *Genomics* 34:198-204
46. Li YM, Xu M, Lai MT, Huang Q, Castro JL, DiMuzio-Mower J, Harrison T, Lellis C, Nadin A, Neduveilil JG, Register RB, Sardana MK, Shearman MS, Smith AL, Shi XP, Yin KC, Shafer JA, Gardell SJ (2000) Photoactivated γ -secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature* 405:689-94
47. Lu DC, Rabizadeh S, Chandra S, Shayya RF, Ellerby LM, Ye X, Salvesen GS, Koo EH, Bredesen DE (2000) A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid beta-protein precursor. *Nat Med* 6:397-404
48. Marambaud P, Alves da Costa C, Ancolio K, Checler F (1998) Alzheimer's disease-linked mutation of presenilin 2 (N141I-PS2) drastically lowers APP α secretion: control by the proteasome. *Biochem Biophys Res Commun* 252:134-138
49. Maurer K, Volk S, Gerbaldo H (1997) Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet* 349:1546-1549
50. Mucke L, Masliah E, Johnson WB, Ruppe MD, Alford M, Rockenstein EM, Forss-Petter S, Pietropaolo M, Mallory M, Abraham CR (1994) Synaptotrophic effects of human amyloid β protein precursors in the cortex of transgenic mice. *Brain Res* 666:151-167

51. Myers A, Holmans P, Marshall H, Kwon J, Meyer D, Ramic D, Shears S, Booth J, DeVrieze FW, Crook R, Hamshere M, Abraham R, Tunstall N, Rice F, Carty S, Lillystone S, Kehoe P, Rudrasingham V, Jones L, Lovestone S, Perez-Tur J, Williams J, Owen MJ, Hardy J, Goate AM (2000) Susceptibility locus for Alzheimer's disease on chromosome 10. *Science* 290:2304-2305
52. Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW, D'Agostino R, Ordovas JM, Espino A, Au R, White RF, Knoefel JE, Cobb JL, McNulty KA, Beiser A, Wolf PA (1996) Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: The Framingham study. *Neurology* 46:673-677
53. Passer BJ, Pellegrini L, Vito P, Ganjei JK, D'Adamio L (1999) Interaction of Alzheimer's presenilin-1 and presenilin-2 with Bcl-X(L). A potential role in modulating the threshold of cell death. *J Biol Chem* 274:24007-24013
54. Pericak-Vance MA, Bass MP, Yamaoka LH, Gaskell PC, Scott WK, Terwedow HA, Menold MM, Conneally PM, Small GW, Vance JM, Saunders AM, Roses AD, Haines JL (1997) Complete genomic screen in late-onset familial Alzheimer disease: Evidence for a locus on chromosome 12. *JAMA* 278:1237-1241
55. Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell PC, Yamaoka LH, Hung WY, Alberts MJ, Walker AP, Bartlett RJ, Haynes CA, Welsh KA (1991) Linkage studies in familial Alzheimer disease: evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 48:1034-1050
56. Pietrzik CU, Hoffmann J, Stober K, Chen CY, Bauer C, Otero DA, Roch JM, Herzog V (1998) From differentiation to proliferation: the secretory amyloid precursor protein as a local mediator of growth in thyroid epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:1770-1775
57. Prihar G, Gonzalez de Chavez F, Baker M, Crook R, McGowan E, Grover A, Hardy J, Hutton M (1999) A novel candidate presenilin-1 interacting protein containing tetratricopeptide repeats *Neuroreport* 10:1409-1415
58. Ray WJ, Yao M, Mumm J, Schroeter EH, Saftig P, Wolfe M, Selkoe DJ, Kopan R, Goate AM (1999) Cell surface presenilin-1 participates in the γ -secretase-like proteolysis of Notch. *J Biol Chem* 274:36801-36807
59. Ray WJ, Yao M, Nowotny P, Mumm J, Zhang W, Wu JY, Kopan R, Goate AM (1999) Evidence for a physical interaction between presenilin and Notch. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:3263-3268
60. Rogaeva E, Premkumar S, Song Y, Sorbi S, Brindle N, Paterson A, Duara R, Levesque G, Yu G, Nishimura M, Ikeda M, O'Toole C, Kawarai T, Jorge R, Vilarino D, Bruni AC, Farrer LA, St George-Hyslop PH (1998) Evidence for an Alzheimer disease susceptibility locus on chromosome 12 and for further locus heterogeneity. *JAMA* 280:614-618
61. Saitoh T, Mook-Jung I (1996) Commentary: Is understanding the biological function of APP important in understanding Alzheimer disease? *Alzheimer Dis Rev* 1:30-36
62. Salinero O, Moreno-Flores MT, Wandosell F (2000) Increasing neurite outgrowth capacity of β -amyloid precursor protein proteoglycan in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 60:87-97
63. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, Nemens E, White JA, Bonnycastle L, Weber JL, Alonso ME, Potter H, Heston LL, Martin GM (1992) Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 258:668-671
64. Scheper W, Zwart R, Sluijs P, Annaert W, Gool WA, Baas F (2000) Alzheimer's presenilin 1 is a putative membrane receptor for rab GDP dissociation inhibitor. *Hum Mol Genet* 9:303-310
65. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson E, Levy-Lahad E, Viitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S (1996) Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Med* 2:864-870

66. Seiffert D, Bradley JD, Rominger CM, Rominger DH, Yang F, Meredith JE Jr, Wang Q, Roach AH, Thompson LA, Spitz SM, Higaki JN, Prakash SR, Combs AP, Copeland RA, Arneric SP, Hartig PR, Robertson DW, Cordell B, Stern AM, Olson RE, Zaczek R (2000) Presenilin-1 and -2 are molecular targets for γ -secretase inhibitors. *J Biol Chem* 275:34086-34091
67. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. (1995) Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375:754-760
68. Shinozaki K, Maruyama K, Kume H, Tomita T, Saido TC, Iwatsubo T, Obata K (1998) The presenilin 2 loop domain interacts with the μ -calpain C-terminal region. *Int J Mol Med* 1:797-799
69. Smine A, Xu X, Nishiyama K, Katada T, Gambetti P, Yadav SP, Wu X, Shi YC, Yasuhara S, Homburger V, Okamoto T (1998) Regulation of brain G-protein go by Alzheimer's disease gene presenilin-1. *J Biol Chem* 273:16281-16288
70. St George-Hyslop P, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC, Myers RH, Feldman RG, Pollen D, Drachman D, Growdon J, Bruni A, Foncin JF, Salmon D, Frommelt P, Amaducci L, Sorbi S, Stewart GD, Hobbs WJ, Conneally PM, Gusella JF (1987) The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 235:885-890
71. Stabler SM, Ostrowski LL, Janicki SM, Monteiro MJ (1999) A myristoylated calcium-binding protein that preferentially interacts with the Alzheimer's disease presenilin 2 protein. *J Cell Biol* 145:1277-1292
72. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993) Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:1977-1981
73. Suh YH, Checler F (2002) Amyloid precursor protein, presenilins, and alpha-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rev* 54:469-525
74. Takashima A, Murayama M, Murayama O, Kohno T, Honda T, Yasutake K, Nihonmatsu N, Mercken M, Yamaguchi H, Sugihara S, Wolozin B (1998) Presenilin 1 associates with glycogen synthase kinase-3 β and its substrate tau. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9637-9641
75. Takasugi N, Tomita T, Hayashi I, Tsuruoka M, Niimura M, Takahashi Y, Thinakaran G, Iwatsubo T (2003) The role of presenilin cofactors in the γ -secretase complex. *Nature* 422:438-441
76. Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, Bruns GAP, St George-Hyslop P, Van Keuren ML, Patterson D, Pagan S, Kurnit DM, Neve RL (1987) Amyloid β -protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 880-884
77. Tanzi RE, St George-Hyslop PH, Haines JL, Polinsky RJ, Nee L, Foncin JF, Neve RL, McClatchey AI, Conneally PM, Gusella JF (1987) The genetic defect in familial Alzheimer's disease is not tightly linked to the amyloid β -protein gene. *Nature* 329:156-157
78. Teasdale GM, Nicoll JA, Murray G, Fiddes M (1997) Association of apolipoprotein E polymorphism with outcome after head injury. *Lancet* 350:1069-1071
79. Tekirian TL, Merriam DE, Marshansky V, Miller J, Crowley AC, Chan H, Ausiello D, Brown D, Buxbaum JD, Xia W, Wasco W (2001) Subcellular localization of presenilin 2 endoproteolytic C-terminal fragments. *Brain Res Mol Brain Res* 96:14-20
80. Terry RD, Hansen LA, DeTeresa R, Davies P, Tobias H, Katzman R (1987) Senile dementia of the Alzheimer type without neocortical neurofibrillary tangles. *J Neuropathol Exp Neurol* 46:262-268
81. Van Broeckhoven C, Haan J, Bakker E, Hardy JA, Van Hul W, Wehnert A, Vegter-Van der Vlis M, Roos RA (1990) Amyloid β protein precursor gene and hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (Dutch). *Science* 248:1120-1122

82. Van Gassen G, De Jonghe C, Pype S, Van Crieginge W, Julliams A, Vanderhoeven I, Woodrow S, Beyaert R, Huylebroeck D, Van Broeckhoven C (1999) Alzheimer's disease associated presenilin 1 interacts with HC5 and ZETA, subunits of the catalytic 20S proteasome. *Neurobiol Dis* 6:376-391
83. Wilson CA, Doms RW, Zheng H, Lee VM (2002) Presenilins are not required for A β 42 production in the early secretory pathway. *Nat Neurosci* 5:849-855
84. Wu WS, Holmans P, Wavrant-DeVrieze F, Shears S, Kehoe P, Crook R, Booth J, Williams N, Perez-Tur J, Roehl K, Fenton I, Chartier-Harlin M-C, Lovestone S, Williams J, Hutton M, Hardy J, Owen MJ, Goate A (1998) Genetic studies on chromosome 12 in late-onset Alzheimer disease. *JAMA* 280:619-622
85. Xu X, Shi Y, Wu X, Gambetti P, Sui D, Cui MZ (1999) Identification of a novel PSD-95/Dlg/ZO-1 (PDZ)-like protein interacting with the C terminus of presenilin-1. *J Biol Chem* 274:32543-32546
86. Yoshikai S, Sasaki H, Doh-ura K, Furuya H, Sakaki Y (1990) Genomic organization of the human-amyloid β -protein precursor gene. *Gene* 87:257-263
87. Yu G, Nishimura M, Arawaka S, Levitan D, Zhang L, Tandon A, Song YQ, Rogaeva E, Chen F, Kawarai T, Supala A, Levesque L, Yu H, Yang DS, Holmes E, Milman P, Liang Y, Zhang DM, Xu DH, Sato C, Rogaev E, Smith M, Janus C, Zhang Y, Aebersold R, Farrer LS, Sorbi S, Bruni A, Fraser P, St George-Hyslop P (2000) Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and bAPP processing. *Nature* 407:48-54
88. Zhang W, Han SW, McKeel DW, Goate A, Wu JY (1998) Interaction of presenilins with the filamin family of actin-binding proteins. *J Neurosci* 18:914-922
89. Zheng H, Jiang M, Trumbauer ME, Sirinathsinghji DJ, Hopkins R, Smith DW, Heavens RP, Dawson GR, Boyce S, Conner MW (1995) Beta-amyloid precursor protein-deficient mice show reactive gliosis and decreased locomotor activity. *Cell* 81:525-531
90. Zhou J, Liyanage U, Medina M, Ho C, Simmons AD, Lovett M, Kosik KS (1997) Presenilin 1 interaction in the brain with a novel member of the armadillo family. *Neuroreport* 8:1489-1494