



**universidad  
de león**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**

**MODELOS EXPERIMENTALES DE LA  
ENFERMEDAD DEL ALZHEIMER.  
VENTAJAS Y LIMITACIONES  
EXPERIMENTAL MODELS OF  
ALZHEIMER´S DISEASE. ADVANTAGES  
AND LIMITATIONS**

**PATRICIA SALVATIERRA PAGOLA  
GRADO EN BIOLOGÍA**

**SEPTIEMBRE, 2021**

## ÍNDICE

	RESUMEN	
	ABREVIATURAS	
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	OBJETIVOS.....	5
3.	METODOLOGÍA.....	5
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
	4.1 Modelos experimentales de la enfermedad del Alzheimer.....	6
	4.2 Modelos animales.....	6
	4.3 Modelos celulares.....	10
	4.4 Modelos en otros organismos.....	12
	4.5 Ventajas y limitaciones de los modelos utilizados para el estudio de la EA.....	14
5.	CONCLUSIONES.....	18
6.	REFERENCIAS.....	19

## **RESUMEN**

La enfermedad del Alzheimer es un tipo de demencia que afecta a millones de personas en todo el mundo, caracterizada por un deterioro cognitivo, funcional y conductual, afectando a la calidad de vida del paciente. Existen dos tipos de EA: de inicio temprano (antes de los 65 años) y de inicio tardío (después de los 65 años). Se considera que es debida a una acumulación de la proteína  $\beta$ -amiloide en regiones del hipocampo, así como la presencia de tau hiperfosforilada que provoca la formación de ovillos neurofibrilares. El objetivo de este trabajo es estudiar los diversos modelos experimentales empleados para estudiar la EA, así como conocer sus ventajas y limitaciones. Para llevar a cabo este trabajo se ha recogido información de múltiples artículos a cerca de los modelos experimentales que trabajan con la EA. Existen modelos tanto transgénicos que se estudian en ratones, ratas y células; como no transgénicos en ratones, ratas, conejos, primates no humanos, moscas, nemátodos y peces. Se exponen las principales ventajas y limitaciones que presentan estos modelos teniendo en cuenta aspectos fisiológicos, cognitivos y logísticos.

**Palabras clave:** demencia, enfermedad del Alzheimer, modelo experimental,  $\beta$ -amiloide

## **ABSTRACT**

Alzheimer's disease is a type of dementia that affects millions of people around the world, characterized by cognitive, functional and behavioral deterioration, affecting the quality of life of the patient. There are two types of AD: early-onset (before age 65) and late-onset (after age 65). It is an accumulation of the  $\beta$ -amyloid protein in regions of the hippocampus, and the presence of hyperphosphorylated tau that causes the formation of neurofibrillary tangles. The objective of this work is to study the various experimental models used to study AD, as well as to know about their advantages and limitations. To carry out this work, information has been collected from multiple articles about the experimental models that work with AD. There are both transgenic models that are studied in mice, rats and cells; as non-transgenic in mice, rats, rabbits, non-human primates, flies, nematodes, and fishes. The main advantages and limitations of these models are exposed, taking into account physiological, cognitive and logistical aspects.

**Key words:** dementia, Alzheimer's disease, experimental model,  $\beta$ -amyloid

## **ABREVIATURAS**

ADN: ácido desoxirribonucleico

APOE: apolipoproteína E

APP: proteína precursora amiloide

ARN: ácido ribonucleico

CSIC: Consejo Superior de Investigaciones Científicas

EA: enfermedad del Alzheimer

EARA: European Animal Research Association

EOAD: enfermedad del Alzheimer autosómica dominante de inicio temprano

ESC: células madre embrionarias

fAD: enfermedad del Alzheimer familiar

IPSC: célula madre pluripotentes inducidas

LCR: líquido cefalorraquídeo

LOAD: enfermedad del Alzheimer de inicio tardío

MSC: células madre mesenquimatosas

NFT: ovillos neurofibrilares

NIA: National Institute of Aging

NSC: células madre neurales derivadas del cerebro

OMS: Organización Mundial de la Salud

PET: tomografía por emisión de positrones

PSEN1: presenilina 1

PSEN2: presenilina 2

TAC: tomografía axial computarizada

## 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad del Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia entre las personas mayores (Medline, 2021) representando el 50-75% de todos los casos de demencia (Lane, Hardy and Schott, 2018). Fue descrita por primera vez en 1907 por Alois Alzheimer en una paciente con síntomas psicóticos, trastornos del comportamiento, depresión y deterioro cognitivo. Se caracteriza por un inicio insidioso y curso progresivo, irreversible y, hasta ahora incurable. Neuropatológicamente presentaba placas de  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares (NFT por sus siglas en inglés), que son las lesiones que hoy definen la enfermedad (López-álvarez and Agüera-ortiz, 2015).

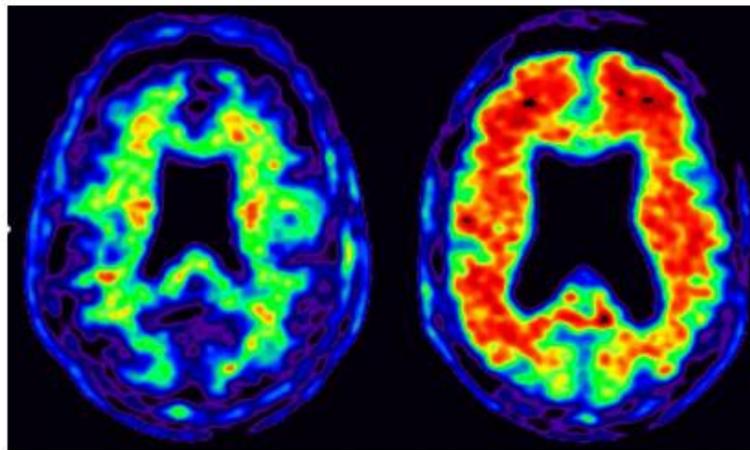


Figura 1. Imagen obtenida por PET (tomografía de emisión de positrones) con florbetapir en un individuo sano (izquierda) y uno con Alzheimer (derecha). Los colores cálidos indican acumulación de  $\beta$ -amiloide. Fuente: (Lane, Hardy and Schott, 2018).

Las placas de  $\beta$ -amiloide son acumulaciones extracelulares compuestas por proteínas  $\beta$ -amiloide anormalmente plegadas. Los NFT son acumulaciones de proteína tau mal plegada e hiperfosforilada (Braak and Del Tredici, 2009). A medida que el nivel de placas  $\beta$ -amiloide van aumentando, se produce una propagación de tau por todo el cerebro, generando así los NFT (NIA, 2020).

La APP es una proteína transmembrana que en condiciones normales es cortada por las enzimas  $\alpha$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa, generando residuos solubles. Sin embargo, cuando actúa  $\beta$ -secretasa junto a  $\gamma$ -secretasa,  $\beta$  retira de la APP un residuo no soluble, el  $\beta$ -amiloide. Estos monómeros insolubles tienden a juntarse unos con otros dando lugar a las placas. El otro gran problema de la EA son los ovillos de proteína tau. Esta se encuentra en el citoesqueleto de las células manteniendo la estructura de los microtúbulos, y de alguna manera que aún no se sabe con

certeza, las placas de  $\beta$ -amiloide inician vías de señalización dentro de las neuronas que terminan activando la enzima quinasa. Esta enzima transfiere grupos fosfato a la proteína tau que se encuentra manteniendo la estructura del citoesqueleto. Tau entonces cambia su forma, deja de mantener los microtúbulos del citoesqueleto y forma agregados u ovillos neurofibrilares.

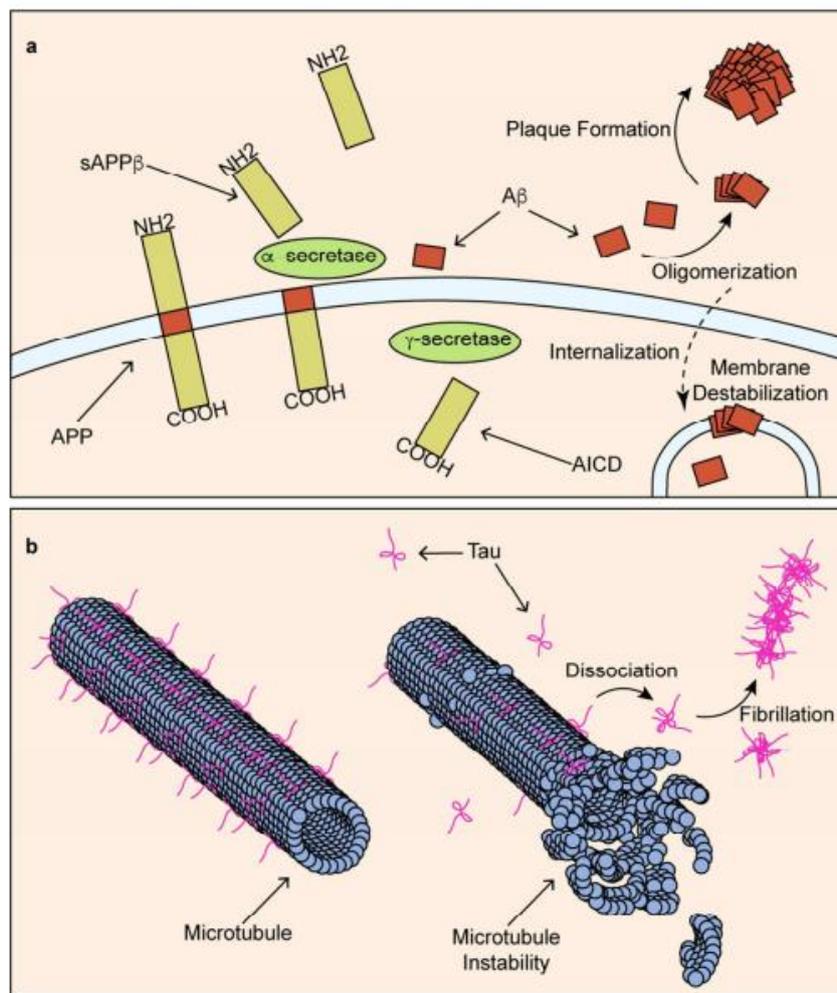


Figura 2. A: proceso de formación de la acumulación de placas de  $\beta$ -amiloide. B: proceso de formación de NFT.

Fuente: (Griffin, Caldwell and Caldwell, 2017).

En la EA también se ven involucradas otras células: células de la microglía y astrocitos. Las células de la microglía son unas de las primeras células inmunes que se activan durante la respuesta inflamatoria, se encargan de realizar fagocitosis de patógenos invasores y de eliminar sustancias de desecho y células degeneradas en el sitio de la lesión. Por otro lado, cuando los astrocitos son activados por patógenos, producen varias citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y

$\alpha$ -TNF) que promueven los procesos neurodegenerativos en la EA. También actúan rodeando a las placas de  $\beta$ -amiloide para posteriormente fagocitarlas (Fakhoury, 2017).

Un estudio meta-analítico realizado en 2015 concluye que la prevalencia de EA en Europa fue del 5,05%; en hombres un 3,31% y en mujeres 7,13%, encontrándose una tendencia creciente por grupos con la edad. La incidencia en Europa fue de 11,08 por 1.000 personas-año; siendo en hombres 7,02 por 1.000 personas-año y en mujeres 13,25 por 1.000 personas-año, con la misma tendencia creciente con el aumento de la edad (Niu, 2016).

La EA se caracteriza por un inicio temprano familiar (EOAD (early-onset autosomal dominant Alzheimer disease); <5% con un inicio < 65 años), o un inicio tardío esporádico (LOAD (late-onset Alzheimer disease); con un inicio >65 años) (Shantanam, 2018).

El envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo de EA, y una de sus causas es la inflamación. Ocurre cuando las células microgliales dejan de funcionar correctamente y no eliminan desechos celulares, como consecuencia las neuronas mueren y el cerebro se atrofia comenzando principalmente por el hipocampo, que es la parte del cerebro responsable del aprendizaje y la memoria (NIA, 2020). Otros factores de riesgo para la EA son hipertensión arterial, diabetes mellitus, sobrepeso, tabaco... (Aranda and Calabria, 2018).

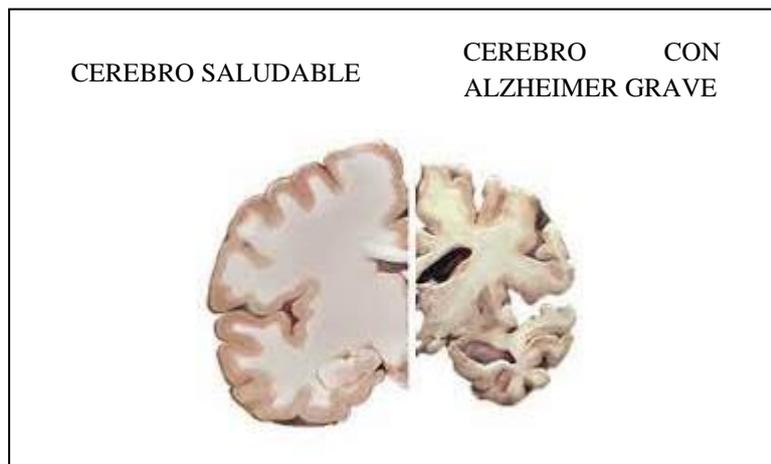


Figura 3: imagen comparativa de un cerebro sano y otro diagnosticado de Alzheimer grave.

Fuente: NIA, 2020.

La demencia, síndrome caracterizado por el deterioro de la función cognitiva más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal, (OMS, 2020) afecta a la

memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio; es el síntoma principal de la EA en un 60-70% de los casos y se estima que 50 millones de personas viven con demencia en todo el mundo en la actualidad. (OMS, 2020).

En la EA se diferencian dos tipos: el Alzheimer genético, producido en un 0,5% de los casos totales de Alzheimer con un inicio temprano en torno a los 40-50 años. Ocurre por mutaciones de alguno de los genes que codifican para la proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN1) y presenilina 2 (PSEN2) (Lane, Hardy and Schott, 2018). Juntos estos tres genes mutados causan una forma familiar rara de EA (fAD) (MayoClinic, 2021).

El otro tipo de EA es el esporádico, se da en un 99% de los casos y tiene un inicio tardío, a partir de los 65 años. Su principal factor de riesgo es la edad, aunque se han reconocido mutaciones en algunos genes como es el gen de la apolipoproteína E (APOE) (Masters *et al.*, 2015). Este gen posee varios alelos, sin embargo, APOE  $\epsilon$ 4 es la única forma que aumenta el riesgo de padecer EA.

- APOE  $\epsilon$ 2: forma rara. Puede llegar a proporcionar protección frente la enfermedad.
- APOE  $\epsilon$ 3: forma más común. Tiene un papel neutral.
- APOE  $\epsilon$ 4: aumenta el riesgo de padecer EA esporádica de inicio tardío.

Sin embargo, es importante matizar que la existencia del alelo APOE  $\epsilon$ 4 no induce necesariamente el desarrollo de EA en la persona portadora (NIA, 2017).

Dado que la estimación para 2050 es que la población mundial mayor de 60 años supere los 2 mil millones (‘A public health priority’, sin fecha), y el número total de personas con demencia alcance los 152 millones en ese mismo año (OMS, 2020), es fundamental la realización de estudios de investigación y la generación de modelos experimentales para avanzar en el conocimiento y desarrollo de nuevas terapias para aquellas enfermedades que afectan con mayor frecuencia a las personas que se encuentran en este rango de edad, dado su impacto sociosanitario y económico.

Todo lo anteriormente comentado justifica la realización de este trabajo, dada la necesidad de buscar nuevos tratamientos y profundizar en el conocimiento de dicha patología, para conocer las vías de señalización que se ven principalmente afectadas. Por ello, los objetivos planteados en el presente estudio fueron:

## **2. OBJETIVOS**

Como objetivo principal, planteamos la búsqueda de los diversos modelos experimentales empleados para el conocimiento de la EA y valorar su evolución en los últimos años. Y como objetivos secundarios, estudiar las ventajas y limitaciones que presentan los mismos.

En este trabajo bibliográfico se recopila información de varios modelos experimentales de la EA en la actualidad. Es una enfermedad que todavía no tiene cura, actualmente se están desarrollando numerosos trabajos en diversos modelos experimentales tanto con líneas celulares, ratones e incluso con otros organismos, para poder encontrar una solución a la EA, prevenirla o ralentizarla en la medida de lo posible.

## **3. METODOLOGÍA**

La información necesaria para llevar a cabo esta revisión bibliográfica ha sido obtenida a partir de la búsqueda de artículos y revisiones en diferentes plataformas: PUBMED, Google Scholar, NIH (National Institute of Aging), OMS (Organización Mundial de la Salud), AlzFORUM, EARA (European Animal Research Association). Hemos establecido algunos criterios para una búsqueda más efectiva, utilizando las palabras clave: modelos animales, modelos de ratones, modelos celulares, ventajas, limitaciones. Con ello, hemos seleccionado los artículos necesarios para el presente trabajo.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Según las fuentes consultadas actualmente, la mayoría de las líneas de investigación que se están llevando a cabo, trabajan con ratones transgénicos, sobre todo emplean ratones transgénicos del modelo que se basa en la APP y tau; estos son dos modelos distintos, pero al ser dos patologías que derivan en la misma enfermedad, se suelen estudiar conjuntamente. Independientemente del modelo que se use, el objetivo común de todos los investigadores es dar con una terapia que logre ralentizar o acabar con el Alzheimer. Para ello, es importante escoger un modelo que replique con la máxima similitud posible los daños cerebrales que se producen en un cerebro con EA, con el fin de encontrar una cura eficaz y segura.

#### **4.1 Modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer**

Desde que se describió la EA se han venido realizando experimentos, estudios e investigaciones que han ayudado a comprender mejor su causa y su desarrollo, considerándose esenciales para profundizar en su conocimiento y dar origen de este modo a nuevas terapias contra la EA.

#### **4.2 Modelos animales**

Actualmente, “el principio de las 3R” (reemplazar, reducir y refinar) es uno de los ejes básicos en la experimentación animal. A pesar de ello, el uso de animales en investigaciones para estudiar diversas enfermedades o probar nuevos fármacos, dichos modelos han supuesto un gran avance en casos de trasplantes de órganos, diabetes, enfermedades cardíacas, oncológicas... incluso en la reciente pandemia por COVID-19 en la que nos encontramos inmersos, se ha convertido en una práctica fundamental para conseguir el desarrollo de una vacuna eficaz y segura.

Mediante los modelos animales se puede obtener información que, debido a razones éticas, no se puede conseguir experimentando en humanos (Technology, 2015). Inicialmente los modelos experimentales de EA buscaban replicar síntomas observados en humanos (Salas-castillo *et al.*, 2013), con el tiempo se han ido desarrollando nuevos modelos y a lo largo del siguiente trabajo abordaremos algunos de los más utilizados.

Los modelos animales son una buena opción ya que la mayoría de los animales con los que se trabaja, tienen los mismos órganos que los humanos y las vías metabólicas se encuentran conservadas, ambos sufrimos las mismas enfermedades (cáncer, asma, tuberculosis...), se nos suministran los mismos fármacos (analgésico, antibióticos); y compartimos el 95% de los genes con el ratón y el 99% con los primates (EARA, 2021).

Para llevar a cabo los experimentos podemos tratar con animales no transgénicos y transgénicos. En el primer caso, los animales no han sido modificados genéticamente, y se emplean sobre todo para llevar a cabo estudios conductuales para la evaluación de déficits cognitivos. Normalmente se consiguen realizando algún daño específico en regiones particulares del cerebro o induciendo la ausencia de neurotransmisores, afectando así a las neuronas colinérgicas como ocurre en la EA. Además, los modelos animales permiten

reproducir diversos aspectos de la enfermedad y facilitan el control sobre las variables (Salas-castillo *et al.*, 2013)

En el caso de los modelos transgénicos, se trabaja con ratones, ratas y células, insertando o silenciando el gen escogido en el genoma de un organismo. Los animales transgénicos se pueden obtener de diferentes formas, ya sea introduciendo una copia del gen mutado de humanos en óvulos fecundados de otros organismos (normalmente ratones). Otra posibilidad es silenciar genes con el fin de intercambiar el gen original del animal, por una copia no funcional (Salas-castillo *et al.*, 2013); o inducir pérdidas de función eliminando algún gen concreto (Peñarda and Asensio, 2008). En el estudio de EA, principalmente se añaden los genes humanos de APP, PSEN1 y PSEN2. Los modelos transgénicos permiten aislar variables específicas de la enfermedad y abren nuevas posibilidades para la investigación (Salas-castillo *et al.*, 2013).

Si bien es cierto que los roedores no desarrollan naturalmente esta neuropatología, son una buena opción para introducir las mutaciones genéticas y hacer que expresen las proteínas responsables de la enfermedad, como son la proteína  $\beta$ -amiloide y la proteína tau. O bien, presentan placas pero no enredos; o enredos y no placas por lo que la mayoría tiene muy poca neurodegeneración (Neff, 2019).

La mayoría de modelos animales utilizados en la investigación de EA son ratones transgénicos (Shantanam, 2018). Las cepas de ratones de laboratorios convencionales son todas de la misma especie: *Mus musculus* (Neff, 2019). Actualmente existen varias cepas como son: CAST de Tailandia, PWK de República Checa y WSB en Maryland (Neff, 2019); pero se está introduciendo más diversidad genética en experimentos con ratones para así reflejar la heterogeneidad que se da en humanos.

Los principales modelos utilizados para el estudio e investigación de la EA son:

MODELO TG2576: esta línea fue creada en 1996 por Hsiao *et al.*, y porta la doble mutación sueca (K670N / M671L) (Chapman *et al.*, 1996). Este modelo está relacionado con la fAD, desarrollando un aumento de cinco veces la APP y la consiguiente formación de placas de  $\beta$ -amiloide; además de presentar tau hiperfosforilada cuando envejecían (Puzzo *et al.*, 2015) y déficits cognitivos. Se observó una disminución en el número de neuronas colinérgicas y adrenérgicas en ratones envejecidos (Bilkei-gorzo, 2013). Todos estos hallazgos lo hacen un buen candidato para seguir experimentando y aprender más a cerca de la EA.

MODELO APP23: este modelo fue desarrollado por investigadores de Novartis y la Universidad de Basilea. Estos ratones tienen una sobreexpresión de siete veces la APP humana mutante que lleva la doble mutación patogénica sueca (K670N / M671L). El patrón de expresión muestra niveles de expresión más altos en la neocorteza y el hipocampo, las regiones que normalmente exhiben la patología de la EA (Van Dam *et al.*, 2005). Estos ratones muestran un depósito amiloide prominente en los vasos cerebrales que llevan a angiopatías amiloides; además de déficits cognitivos relacionados con la edad que fueron asociados con la ansiedad, agresión y ritmos circadianos alterados, los cuales son todos síntomas comunes a la EA. Los fármacos que se usan contra la EA resultan ser efectivos en este modelo, además del entrenamiento físico y cognitivo que han demostrado mejoras en pruebas conductuales (Londra, Grasso and Herrera, 2015).

MODELO 3XTG AD: este modelo fue creado en 2003 (Oddo *et al.*, 2003) en el laboratorio de La Ferla (Orta-Salazar *et al.*, 2013). Se generó microinyectando simultáneamente dos genes (genes que codifican para la APP y proteína tau) a ratones que presentaban una mutación en el gen de preinsulina. Así, sobre expresa las tres proteínas humanas: APP, PSEN1 y tau, recapitulando gran parte de los aspectos del desarrollo progresivo de la EA, ya que muestran depósitos de  $\beta$ -amiloide y tau hiperfosforilada, dependiendo de la edad y de las regiones cerebrales específicas (Orta-Salazar *et al.*, 2013). A diferencia de la mayoría de ratones transgénicos con una o dos mutaciones, que se asemejan a casos de EA más raros, con depósitos de amiloide y tau hiperfosforilada pero sin ovillos neurofibrilares (Tiraboschi *et al.*, 2004), así como déficit cognitivo relacionado con  $\beta$ -amiloide intraneuronal, por lo que es un modelo útil para poder estudiar e investigar el desarrollo de la EA (Orta-Salazar *et al.*, 2013).

Ratones transgénicos que expresan tau: en humanos, la agregación de  $\beta$ -amiloide va seguida de la formación de agregados insolubles de tau, lo que son los NFT. En cambio, los ratones que tienen placas de  $\beta$ -amiloide no desarrollan ovillos y muestran pérdida neuronal (King, 2018). El hecho de que no desarrollen ovillos probablemente se deba a las diferencias entre tau de ratón y humano, ya que comparten sólo el 88% de homología de secuencia. Por el contrario, los NFT se forman fácilmente en ratones transgénicos que expresan mutaciones que contienen tau humana, desarrollando neurodegeneración, atrofia y déficits motores (Shantanam, 2018), pero estos déficits interfieren con las pruebas cognitivas. Según Lemere, los ratones que expresan niveles fisiológicos de APP y tau humana son ideales para probar fármacos potenciales. Sin embargo, aún no se ha relacionado ninguna mutación en tau con la EA. Los

modelos de ratón actuales usan mutaciones tau implicadas en otro tipo de demencia, la demencia frontotemporal (King, 2018).

Además de los ratones, las ratas también son muy utilizadas en la investigación de EA por su similitud a los humanos en características fisiológicas, morfológicas y genéticas, suponiendo una ventaja sobre los ratones (Shantanam, 2018). Todos los modelos de ratas tienen una gran deposición de  $\beta$ -amiloide, y las ratas TgF344-AD tienen NFT, debido a la similitud con los humanos ya comentada (Cohen *et al.*, 2013). Este modelo transgénico de ratas se generó sobre un fondo Fischer 344 (Cohen *et al.*, 2013) y contiene dos mutaciones implicadas en la EA: sobreexpresión de APP humana y PSEN1, recogiendo los cambios patológicos implicados en la EA: NFT, placas de  $\beta$ -amiloide, pérdida neuronal y gliosis (Saré *et al.*, 2020). Los datos de un estudio realizado en 2013 (Cohen *et al.*, 2013), demuestran que las ratas TgF344-AD manifiestan un repertorio completo de características patológicas de la EA, y concluye que manifiestan síntomas cerebrales dependientes de la edad: amiloidosis, tauopatía, gliosis, pérdida apoptótica de neuronas y alteración cognitiva. Por ello, este modelo experimental de rata supone una herramienta fundamental para futuros estudios en la investigación de la EA.

Los estudios llevados a cabo con conejos son escasos, sin embargo, la introducción de sales de aluminio en el cerebro de un conejo envejecido podría demostrar la formación de los NFT (Song, 2018). El tratamiento con malonato de aluminio imita la neuropatología similar a la EA en conejos ancianos, ya que al inyectarlo aparecieron depósitos de  $\beta$ -amiloide, NFT y apoptosis en zonas del hipocampo, prosencéfalo y mesencéfalo. A pesar de los pocos estudios realizados, este modelo podría actuar como un sistema fiable y eficiente, por lo que puede ser prometedor para futuras investigaciones (Savory, 2003).

La distancia evolutiva de los roedores con los humanos supone una limitación, por lo que algunos investigadores están interesados en utilizar modelos de primates no humanos (Neff, 2019). Según Carol Shively, “estos parecen un lugar muy probable para buscar modelos ya que su sistema nervioso central es mucho más parecido al nuestro”(Neff, 2019). Se han hecho estudios con monos del viejo mundo: titíes (*Chlorocebus pygerythrus*), mono Rhesus (*Macaca mulatta*), mono cynomolgus (*Macaca fascicularis*) y babuinos (*Papio*); y monos del nuevo mundo: mono ardilla (*Saimiri sciureus*) y lémures ratón (*Microcebus murinus*) (Neff, 2019) (Toledano *et al.*, 2014) (Shantanam, 2018).

En primer lugar, los titíes tienen evidencias de placas de  $\beta$ -amiloide, gliosis y distrofia neuronal que aumenta con la edad (Kalinin *et al.*, 2013). Sin embargo, no muestran ovillos

neurofibrilares, pero sí desarrollan tau hiperfosforilada, que puede llevar al desarrollo de enredos. Esta especie puede modificarse genéticamente e incluir genes humanos simplemente cambiando algunos pares de bases de ADN (ácido desoxirribonucleico), obteniendo así una variante de riesgo (Neff, 2019).

El mono Rhesus resulta ser el modelo más práctico para estudiar la EA ya que está muy bien caracterizado. A los 5 años de edad no se observan depósitos de  $\beta$ -amiloide, mientras que cuando envejecen a los 25-30 años los presentan en la corteza cerebral (Sani *et al.*, 2003) (Nakamura *et al.*, 1998) (Kimura *et al.*, 2003). Según un estudio realizado en 2017, el mono Rhesus envejecido muestra el patrón cualitativo y la secuencia de tau, y la patología amiloide que se observa en humanos. La fosforilación de tau surge de las mismos tipos de células, capas y regiones corticales que en la EA (Paspalas *et al.*, 2017).

Por otro lado están los monos del nuevo mundo, que desarrollan naturalmente una neuropatología similar a la EA en humanos (Shantanam, 2018). El mono ardilla presenta una gran acumulación de placas de  $\beta$ -amiloide a los 12 años de edad (Shantanam, 2018). En los lémures ratón también aparecen a los 8 años, además de una acumulación de tau hiperfosforilada que aumenta con la edad (Toledano *et al.*, 2014). Muchos primates no humanos de 30 años muestran amplias alteraciones neuropatológicas asociadas a las placas de EA humana; esta densidad de placas es parecida a la observada en humanos (Toledano *et al.*, 2014). En general, los primates no humanos suelen tener depósitos de  $\beta$ -amiloide, pero la tauopatía es limitada.

No sólo se observan semejanzas con la EA humana a nivel fisiológico, sino también a nivel cognitivo. Según numerosos estudios, la memoria tanto a corto como a largo plazo se ven afectadas. Varios estudios concluyen que existen variaciones importantes en sus resultados ya que lo perfecto sería tener en cuenta los factores endógenos de cada individuo (Toledano, 2012).

Los primates no humanos son un buen modelo dadas las semejanzas de nuestros genes, la existencia de un sistema nervioso central muy parecido al de los humanos.

### **4.3 Modelos celulares**

Existen varios tipos celulares empleados en estudios de la EA: células madre embrionarias (ESC), células madre mesenquimatosas (MSC), células madres neurales derivadas del cerebro

(NSC) y células madre pluripotentes inducidas (IPSC) (Duncan, Valenzuela and Ad, 2017). De todas ellas, las IPSC son las más usadas dado que ofrecen un suministro ilimitado de neuronas humanas que son eléctricamente activas y representan el tipo de célula que degenera temprano en la EA (Arber, Lovejoy and Wray, 2017).

Las ESC son derivadas de la masa celular interna de blastocistos pluripotentes (Martello and Smith, 2014) y se clasifican como pluripotentes porque poseen la capacidad de diferenciarse en diversos tipos celulares del endodermo, mesodermo y ectodermo. Hay estudios que demuestran que las ESC pueden mejorar el aprendizaje espacial y la memoria en ratas con EA (Liu *et al.*, 2013). A pesar de ello, su aplicación clínica es limitada debido a que su diferenciación puede ocurrir en cualquier dirección y causar teratomas (Cells *et al.*, 2005) (Richards *et al.*, 2002).

Las MSC están involucradas en el desarrollo de células del tejido mesenquimatoso y pueden ser extraídas de la sangre del cordón umbilical (ucb-MS); también están presentes en nichos de células madre adultas, incluidas la médula ósea y el tejido adiposo. Se consideran pluripotentes porque generan varios tipos de células que comparten un origen embrionario común: la capa germinal del mesodermo (Duncan, Valenzuela and Ad, 2017). Se han estudiado las ucb-MS en ratones y se demostró que pueden mejorar el aprendizaje espacial y prevenir el deterioro de la memoria; y se han propuesto otros mecanismos como la reducción de placas de  $\beta$ -amiloide e hiperfosforilación de tau (Ju *et al.*, 2012). La utilización de estas células también genera problemas éticos, aunque son la fuente más común de células madre usadas en la investigación de la EA, ya que son relativamente fáciles de obtener y manipular si se obtienen tras un parto común (Yang *et al.*, 2013) (Ju *et al.*, 2010).

Las NSC son responsables de la generación de todos los tipos de células neurales durante el desarrollo. Están presentes en el cerebro humano y en nichos de la zona subventricular y capa granular del hipocampo. Se consideran pluripotentes autorrenovables, produciendo neuronas, oligodendrocitos o astrocitos (Shimada *et al.*, 2012). Las NSC reducen los niveles de expresión de tau y el péptido  $\beta$ -amiloide (Lee *et al.*, 2015), promueven la neurogénesis y la formación de sinapsis (Lilja *et al.*, 2015).

En 2007 se describió por primera vez cómo generar IPSC a partir de células somáticas de humanos, y desde entonces han surgido métodos para dirigir la diferenciación en varios tipos de células del cuerpo, incluidas las células cerebrales (Takahashi *et al.*, 2007) (Kai, Chuah and Zink, 2016)(Types, Pournasr and Duncan, 2017) (Devalla and Passier, 2018) (Lullo and Kriegstein, 2017). Un requisito fundamental para la regeneración es encontrar células que

mantengan la capacidad de diferenciarse en las tres capas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo (Mungenast, Siegert and Tsai, 2015).

En primer lugar, para conseguir un buen modelo utilizando iPSC es esencial generar el tipo de célula afectada de manera rápida y eficiente con un alto grado de pureza (Mann, 1996). Las líneas iPSC derivadas de individuos sanos y de pacientes que presentaban EA se aislaron, diferenciándose en los tipos celulares de interés (neuronas) y se compararon. Se han generado muchas líneas de iPSC a partir de pacientes con EA de inicio temprano y de inicio tardío, así como de individuos sanos emparejados por edad y sexo; y se han establecido repositorios en todo el mundo para que estas líneas estén disponibles para los investigadores (Penney and Ralvenius, 2019).

La edición del genoma con técnicas como el sistema CRISPR / Cas9 se puede utilizar para introducir mutaciones asociadas a la enfermedad en las líneas de iPSC de individuos sanos, o para corregir mutaciones en líneas celulares de pacientes con EA (Penney and Ralvenius, 2019). Sin embargo, la mayoría del trabajo realizado hasta ahora se ha centrado en modelos de pacientes con fAD, que es el tipo menos prevalente, y no en el tipo esporádico, dado su naturaleza multifactorial (Riemens, Kenis and Beucken, 2020).

En resumen, los modelos celulares con neuronas derivadas de iPSC representan una herramienta útil para estudiar la función normal de las proteínas asociadas a la EA (Chow *et al.*, 2010), generar modelos fisiológicamente relevantes (Arber, Lovejoy and Wray, 2017) y abrir una nueva oportunidad para investigar y descubrir nuevos fármacos (Park *et al.*, 2008).

#### **4.4 Modelos en otros organismos**

Para investigar la EA también se han utilizado modelos basados en otros organismos como la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), el nemátodo (*Caenorhabditis elegans*) y el pez cebra (*Danio rerio*) (Florence, T and Ghows, 2017). A través de ellas se han realizado importantes descubrimientos sobre ARN que han arrojado información sobre las proteínas involucradas en la EA. Estas especies tienen las ventajas de presentar un ciclo de vida muy corto y genomas relativamente simples, facilitando así los estudios (Salas-castillo *et al.*, 2013). Estas ventajas y otras serán comentadas posteriormente.

*Drosophila* lleva usándose en ciencia más de 100 años gracias a Thomas Hunt Morgan. Se considera un modelo en cuatro debido a su historia de vida, que consta de varios estadios morfológicos: embrión, larva, pupa y adulto, cada uno de ellos con distintas funciones de modelado (Pandey and Nichols, 2011). *Drosophila* tiene un genoma que consta de 13.500 genes (Chintapalli, Wang and Dow, 2007), y los humanos tenemos 25.000 genes codificando proteínas (Genomics, 2001), 287 son responsables de enfermedades humanas, y 197 de ellos poseen un homólogo en la mosca de la fruta (Johnston, 2002). Además de esto, *Drosophila* tiene en común con los humanos algunos tipos celulares del sistema nervioso central, como son las neuronas, células de la glía y una barrera hematoencefálica (Florence, T and Ghows, 2017). En este caso, CRISPR /Cas9 también supone una ventaja ante la posibilidad de producir mutantes con objetivos definidos, o de humanizar ciertas partes de las proteínas endógenas de las moscas (Bouleau, 2015). Actualmente, conocer la relación entre el SAD y el envejecimiento supone un reto, y para ello *Drosophila* es un buen modelo debido a su corta vida útil (Bouleau, 2015).

Otra especie importante es *C. elegans*, un nematodo no parásito y de vida libre presentado como organismo modelo por Sydney Brenner en 1963 (Brenner, 1974). Es el primer organismo multicelular en tener su genoma completamente secuenciado, cuenta con 20.317 genes codificadores de proteínas (Nia *et al.*, 2017). El 42% de los genes humanos tiene ortólogos en *C. elegans* (Palikaras and Tavernarakis, 2013), 322 asociados a la EA (Nia *et al.*, 2017). Los genes ortólogos de APP y tau en *C. elegans* son *apl-1* (Alexander, Marfil and Li, 2014) y *ptl-1* (Griffin, Caldwell and Caldwell, 2017), respectivamente. *Ptl-1* es el responsable de mantener la estabilidad estructural de la célula, aunque también modula el envejecimiento celular de manera autónoma. Por ello, resulta útil para estudiar las patologías inducidas por tau (Hashi, Kotani and Adachi, 2016). El péptido  $\beta$ -amiloide (producto de la escisión del APP) no está presente en *apl-1*, ni *C. elegans* tiene actividad  $\beta$ -secretasa para producir el péptido, a pesar de ello, el nemátodo proporciona un buen sistema genético in vivo para poder estudiar los efectos del  $\beta$ -amiloide a través de modelos transgénicos (Shankar *et al.*, 2008).

Como mencionamos anteriormente, el pez cebra (*Danio rerio*) también es un buen modelo debido a, entre muchos otros factores, sus embriones transparentes, su rápido desarrollo ex útero y su gran capacidad reproductiva (Newman, Ebrahimie and Lardelli, 2014). *D. rerio* es un teleosteo que se separó del linaje humano hace aproximadamente 450 millones de años; sin embargo, presenta varios genes ortólogos con los humanos (Kumar and Hedges, 1998). PSEN1 y PSEN2 tienen sus ortólogos, *psen1* (Brand and Haass, 1999) y *psen2* (Groth *et al.*, 2002)

respectivamente. Se expresan de forma ubicua en los peces cebra y por ello tienen gran importancia (Brand and Haass, 1999), ya que se han revelado aspectos del gen que en otros modelos resulta difícil de observar (Newman, Ebrahimie and Lardelli, 2014). Uno de los modelos estudiados, sugiere que la hipoxia es un biomarcador importante para desarrollar EA, puesto que consigue diferenciar entre personas con deterioro cognitivo leve (que desembocará en EA) y las que no lo padecen (Mattila *et al.*, 2011). Sería un modelo ideal para probar nuevos fármacos antes de realizar las pruebas clínicas en roedores (Newman, Ebrahimie and Lardelli, 2014).

#### **4.5 Ventajas y limitaciones de los modelos utilizados para el estudio de la EA.**

Existen diversos centros tanto nacionales como internacionales que trabajan en el Alzheimer. A nivel nacional, el CIBERNED (Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Neurodegenerativas), dispone de un programa específico para la EA con 21 grupos de investigadores clínicos y básicos en España que llevan a cabo cinco líneas de investigación (CIBERNED, 2021). Por su parte, el CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), cuenta con numerosos proyectos de investigación en la EA (CSIC, sin fecha). Estos centros investigan mayoritariamente con modelos transgénicos. En contraste, los modelos no transgénicos también tienen una gran utilidad y validez científica, y además debemos sumarle el menor coste que suponen en comparación con los transgénicos, por lo que se convierten en una alternativa viable para muchos laboratorios o bien para iniciar estudios preliminares (Salas-castillo *et al.*, 2013).

A continuación, expongo algunas ventajas y limitaciones de los modelos comentados anteriormente.

Una de las principales ventajas de los ratones empleados en el estudio de la EA, es que, aparte de compartir el 95% de los genes con los humanos, tienen una anatomía cerebral muy similar a la nuestra, por lo que las vías de señalización que se ven afectadas están conservadas y son las mismas que en humanos. También la facilidad y rapidez con la que pueden realizarse pruebas que evalúan el comportamiento cognitivo son puntos a favor. Existen además múltiples pruebas de histopatología disponibles.

Usando técnicas como CRISPR / Cas9, es sencillo realizar un reemplazo de genes dirigido. El uso de ratones transgénicos ha sido una herramienta para lograr entender mecanismos de la

enfermedad y sobre todo de expresión de genes. De los modelos comentados, 3XTG es el más utilizado y se considera el modelo más completo disponible.

En cuanto a las limitaciones, como veremos en todos los modelos, la principal es el debate ético que existe en la comunidad científica debido a la experimentación con animales. En el caso de los ratones, no presentan realmente una patología como la EA, además, la dieta y los factores ambientales son distintos en los ratones y en los humanos. Su sistema inmunológico y la estructura de sus cerebros difiere bastante de la de los humanos. El proceso de manipulación de genes es complicado, relativamente caro, laborioso e ineficiente en ocasiones. Muchos modelos sólo abordan el tipo de EA familiar, y no la EA de origen esporádico que es la más incidencia tiene. Concretamente, el modelo 3XTG está limitado por la producción de  $\beta$ -amiloide mutado y tau, porque no es representativo en el Alzheimer de tipo esporádico. En modelos de tau, la necesidad de mutaciones para que los ratones expresen tau es la limitación, debido a que no están asociadas a la EA humana, y el desarrollo de tau mutado puede influir en su toxicidad o interactuar con las proteínas de  $\beta$ -amiloide de una manera que no es representativa de la EA humana.

Como en los modelos murinos, las principales ventajas son la similitud en nuestro genoma y la proximidad biológica. En este caso, compartimos el 99% de los genes con los primates no humanos. Otro beneficio de trabajar con ellos es que, tienen cerebros grandes y esto permite varios objetivos como: ser estudiados con imágenes obtenidas con PET (tomografía por emisión de positrones) o TAC (tomografía axial computarizada); o una fácil recolección de LCR (líquido cefalorraquídeo). Además, sufren una acumulación natural de  $\beta$ -amiloide que tiene una homología del 100% con los humanos. También, tienen un comportamiento más complejo que los roedores, así como el sistema nervioso central más parecido al nuestro. Con estas ventajas los investigadores pueden profundizar y observar mecanismos de manera mucho más afinada.

Con respecto a las limitaciones, los primates son animales grandes y conservarlos en grandes infraestructuras tiene un coste elevado. Además, se precisa de personal cualificado que tenga los conocimientos y las capacitaciones necesarias para trabajar con ellos. A nivel fisiopatológico, tienen una tauopatía limitada ya que no desarrollan NFT. Estos, pueden llegar a vivir hasta 40 años y puede ser un factor limitante, puesto que lo interesante es que desarrollen de manera rápida la enfermedad para poder evaluarla.

Sin embargo, el estudio de enfermedades cerebrales se ha obstaculizado por la obtención de material vivo. Por ello, se han desarrollado protocolos para diferenciar las iPSC in vitro, en

distintos tipos celulares que permiten a los investigadores examinar el inicio y la progresión de la enfermedad directamente en un modelo de cultivo humano (Arber, Lovejoy and Wray, 2017). Para llevar a cabo modelos celulares no son necesarias grandes infraestructuras, siendo también una opción más económica. También, trabajar con células resulta fácil ya que son muy manipulables. Y, como habíamos comentado, usando técnicas de edición genética se pueden estudiar y comprender mejor las distintas vías de señalización implicadas en la EA.

Las limitaciones de los modelos celulares son varias: para obtener variabilidad entre líneas celulares, hacen falta un número muy alto de réplicas independientes, tanto biológicas como experimentales. Otro inconveniente de trabajar con estos modelos es el envejecimiento biológico, resulta un entorno difícil de recrear *in vitro*; además de que es complicado lograrlo cuando se emplean neuronas diferenciadas. Aparte, hay una falta de protocolos estandarizados para generar y mantener estas líneas celulares (Arber, Lovejoy and Wray, 2017).

Las grandes ventajas de trabajar con otros organismos son la facilidad de manipulación genética, su bajo coste y que tienen una vida útil corta, permitiendo obtener determinados resultados en un corto periodo de tiempo. Además, múltiples líneas transgénicas expresan APP humana,  $\beta$ -amiloide y tau.

La principal limitación de estos modelos es la falta de homología genética con los humanos debido a la estructura genética mucho más simplificada de estos animales. Esto va unido a que su sistema nervioso y su comportamiento carecen de la complejidad que se observa en los humanos, dificultando las comparaciones. Aunque existan varios genes ortólogos, estos carecen de regiones importantes en la fisiopatología de la EA (Shantanam, 2018).

Centrándonos en cada organismo, con *Drosophila* no existe debate ético según las leyes de protección animal. Es un buen modelo porque conserva significativamente las principales vías de señalización y genes implicados en enfermedades humanas. También, disponemos de su genoma completamente secuenciado y se sabe que es poco redundante (cada aminoácido está codificado por más de un codón), simplificando mucho el análisis de disrupción de un solo gen. Las conductas más complejas como la memoria o el sueño, pueden estudiarse muy bien en las moscas, y posee una vida útil corta de 2-3 meses (Bouleau, 2015). Sus grandes ventajas se centran en lo fácil y económico que resulta mantener y manejar este organismos en grandes cantidades; y en que se pueden manipular genéticamente rápido y de manera económica (Prüßing, Voigt and Schulz, 2013).

Una limitación importante es su anatomía cerebral, la cual difiere notablemente de la de los humanos, así como su sistema inmunológico, que es menos complejo. También la imposibilidad de mantener cultivos vivos (Prüßing, Voigt and Schulz, 2013).

Haciendo referencia a algunas ventajas de *C. elegans* como modelo, una de ellas es su fácil manipulación debido a que es transparente y redondeado (Brenner, 1974). Una de las principales es que su genoma está completamente secuenciado, otras, su pequeño tamaño, ciclo de vida corto, población grande y que resulta económico trabajar con este organismo.

Su limitación más importante: anatomía cerebral distinta de humanos. Hay una representación pobre de algunas vías de señalización, y resulta difícil evaluar anomalías del comportamiento y la acumulación de placa de  $\beta$ -amiloide.

Por último, *Danio rerio* al ser transparente como el nematodo ya comentado, tiene una fácil observación. Tiene gran capacidad reproductiva, los embriones, que se desarrollan fuera del útero y son grandes, resultan muy manipulables. Al ser un animal vertebrado, hace que el modelo sea más fácil para comprender la EA, como no ocurre en los otros casos (Florence, T and Ghows, 2017).

La mayor limitación a la hora de trabajar o elegir este modelo, es que aún se está llevando a cabo su investigación en genética; por lo que resulta caro. Como en otros casos, su ciclo de vida larga también es limitante (Florence, T and Ghows, 2017).

Actualmente, se están llevando a cabo investigaciones basadas en los modelos experimentales comentados. A pesar de las ventajas y limitaciones que tengan los modelos, cada grupo de investigación escoge un modelo concreto, como, por ejemplo, las personas encargadas de un estudio publicado en *Science Translational Medicine*. Escogieron en primer lugar los ratones y siguieron con los macacos como modelo experimental. En este estudio, el tratamiento está basado en un oligonucleótido antisentido y se observó que los animales que recibieron el fármaco, aparte de una disminución en la producción de tau, la zona del hipocampo no se había atrofiado (Devos *et al.*, 2017).

Recientemente la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos) ha aprobado un medicamento. Aducanumab se enfoca en un supuesto origen de la enfermedad, a diferencia de otros fármacos que tratan los síntomas, la acumulación de la proteína  $\beta$ -amiloide.

Este fármaco es un anticuerpo monoclonal humano que se dirige selectivamente hacia estas placas acumuladas. Aducanumab ha sido probado en el modelo de ratón transgénico Tg2576, donde se pudo observar que el fármaco se dirigía hacia el cerebro vía intravenosa, se une al  $\beta$ amiloide y lo reduce de manera dependiente de la dosis administrada. En el estudio clínico con pacientes con EA, se observó una disminución en la acumulación de placa y en el deterioro cognitivo. Otros fármacos como dudanemab, también están siendo probados actualmente. Este es otro anticuerpo que se desarrolló para eliminar las placas. Fue suministrado en ratones transgénicos del modelo de APP de edad avanzada y resultó en una reducción de la placa dependiente de la dosis (Lowe et al., 2021).

## **5. CONCLUSIÓN**

El Alzheimer es una neuropatología que tiene un gran impacto en los ámbitos social, económico y sanitario. Hoy en día se están llevando a cabo multitud de líneas de investigación para dar con una terapia que encuentre el tratamiento de la EA. Como hemos visto, existen muchos modelos experimentales, tanto transgénicos como no transgénicos, probados en animales y en células. A la hora de escoger un modelo, los investigadores deben tener un buen conocimiento sobre él, y considerar las limitaciones que ofrece cada uno. En la mayoría de los casos, los modelos se rehúsan debido a los recursos económicos y a las infraestructuras de las que dispone cada laboratorio.

Por otro lado, los modelos animales en la ciencia han sido y son muy útiles ya que gracias a ellos se han realizado y se están realizando grandes avances científicos no sólo en esta enfermedad, sino también en otras patologías como el cáncer. Además, nos permite a los profesionales, como los biólogos continuar investigando y ejerciendo nuestra labor tan a la orden del día.

## 6. REFERENCIAS

"A public health priority" (sin fecha).

Alexander, A. G., Marfil, V. y Li, C. (2014) "Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases", *Frontiers in Genetics*, volumen (5), pp. 1–22.

Aranda, M. y Calabria, A. (2018) "Impacto económico-social de la enfermedad de Alzheimer", *Neurología Argentina*, volumen (1), pp. 19–26.

Arber, C., Lovejoy, C. y Wray, S. (2017) "Stem cell models of Alzheimer's disease : progress and challenges", *Alzheimer's Research and Therapy*. DOI: 10.1186/s13195-017-0268-4.

Bilkei-gorzo, A. (2013) "Pharmacology & Therapeutics Genetic mouse models of brain ageing and Alzheimer's disease", *Pharmacology and Therapeutics*. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.009.

Bouleau, S. (2015) "Drosophila Models of Alzheimer's Disease : Advantages, Limits, and Perspectives", *Journal of Alzheimer's Disease*. DOI: 10.3233/JAD-142802.

Braak, H. y Del Tredici, K. (2009) "Neurofibrillary Tangles", pp. 265–269.

Brand, M. y Haass, C. (1999) "Zebrafish (*Danio rerio*) Presenilin Promotes Aberrant Amyloid -Peptide Production and Requires a Critical Aspartate Residue for Its Function in", *Biochemistry*, volumen (40), pp. 13602–13609.

Brenner, S. (1974) "The Genetics of *Caenorhabditis elegans*", *Genetics*, volumen (77), pp. 71–94.

Cells, C. I. *et al.* (2005) "Teratoma Formation Leads to Failure of Treatment for Type I Diabetes Using Embryonic Stem", *The American Journal of Pathology*, volumen (166), pp. 1781–1791.

Chapman, P. *et al.* (1996) "Correlative Memory Deficits, AP Elevation, and Amyloid Plaques in Transgenic Mice", *Science*, volumen (274), pp. 99-102.

Chow, V. W. *et al.* (2010) "An Overview of APP Processing Enzymes and Products", *Neuromolecular Medicine*. DOI: 10.1007/s12017-009-8104-z.

Cohen, R. M. *et al.* (2013) "A transgenic alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric A $\beta$ , and frank neuronal loss", *Journal of Neuroscience*, volumen (33), pp. 6245–6256.

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (sin fecha) *Proyectos de Investigación*. Disponible en: <https://www.csic.es/es/investigaci%C3%B3n/proyectos-de-investigacion> (Accedido: 6 de septiembre de 2021).

Devalla, H. D. y Passier, R. (2018) "Cardiac differentiation of pluripotent stem cells and implications for modeling the heart in health and diseases", *Science Translational Medicine*. DOI: 10.1126/scitranslmed.aah5457

Devos, S. L. *et al.* (2017) "Tau reduction prevents neuronal loss and reverses pathological tau deposition and seeding in mice with tauopathy", *Science Translational Medicine*,. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag0481.

Duncan, T., Valenzuela, M. y Ad, S. (2017) "Alzheimer's disease , dementia , and stem cell therapy", *Stem Cell Research and Therapy*. DOI 10.1186/s13287-017-0567-5.

European Animal Research Association (2021) *Cuarenta razones para defender la inversión con animales*. Disponible en: <https://www.eara.eu/cuarenta-razones-para-defender-la-i?lang=es> (Accedido: 4 de septiembre de 2021).

Fakhoury, M. (2017) "Microglia and astrocytes in Alzheimer's disease: implications for therapy", *Current Neuropharmacology*. DOI: 10.2174/1570159X15666170720095240.

Florence, H., T, P. y Ghows, A. (2017) "Drosophila melanogaster : Deciphering Alzheimer's Disease", *The Malaysian journal of medicine sciences*, volumen (23), pp. 6–20.

Genomics, C. (2004) "Finishing the euchromatic sequence of the human genome", *Nature*, volumen (431), pp.

941-45.

Griffin, E. F., Caldwell, K. A. y Caldwell, G. A. (2017) "Genetic and pharmacological discovery for Alzheimer's Disease using *C. elegans*", *ACS Chemical Neuroscience*, volumen (8), pp. 2596-2606.

Groth, C. *et al.* (2002) "Identification of a second presenilin gene in zebrafish with similarity to the human Alzheimer's disease gene presenilin2", *Development Genes and Evolution.*, volumen (212), pp. 486-490.

Hashi, Y., Kotani, S. y Adachi, T. (2016) "A nematode microtubule-associated protein, PTL-1, closely resembles its mammalian counterparts in overall molecular architecture", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, volumen (8451), pp. 1107-1113.

Johnston, D. S. (2002) "The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*", *Nature Reviews Genetics*, volumen (3), pp. 176-188.

Ju, H. *et al.* (2010) "Neuroscience Letters The therapeutic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease", *Neuroscience Letters*, volumen (481), pp. 30-35.

Ju, H. *et al.* (2012) "Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve neuropathology and cognitive impairment in an Alzheimer's disease mouse model through modulation of neuroinflammation", *Neurobiology of aging*, volumen (33), pp. 588-602.

Kai, J., Chuah, C. y Zink, D. (2016) "Stem cell-derived kidney cells and organoids: recent breakthroughs and emerging applications", *Biotechnology Advances*. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2016.12.001.

Kalinin, S. *et al.* (2013) "Development of amyloid burden in african green monkeys", *Neurobiology of Aging*, volumen (34), pp. 2361-2369.

Kimura, N. *et al.* (2003) "Age-related changes of Alzheimer's disease-associated proteins in cynomolgus monkey brains", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, volumen (310), pp. 303-311.

King, A. (2018) "The search for better animal models of Alzheimer's disease", *Nature*, volumen (559), pp. 6-8.

Kumar, S. y Hedges, S. B. (1998) "A molecular timescale for vertebrate evolution", *Nature*, volumen (392), pp. 917-920.

Lane, C. A., Hardy, J. y Schott, J. M. (2018) "Alzheimer's disease", *European Journal of Neurology*, volumen (25), pp. 59-70.

Lee, I. *et al.* (2015) 'Human neural stem cells alleviate Alzheimer-like pathology in a mouse model', *Molecular Neurodegeneration*. DOI: 10.1186/s13024-015-0035-6.

Lilja, A. M. *et al.* (2015) "Neural Stem Cell Transplant-Induced Effect on Neurogenesis and Cognition in Alzheimer Tg2576 Mice Is Inhibited by Concomitant Treatment with Amyloid-Lowering or Cholinergic  $\alpha 7$  Nicotinic Receptor Drugs", *Neural Plasticity*. DOI: 10.1155/2015/370432.

Liu, Y. *et al.* (2013) "Medial ganglionic eminence - like cells derived from human embryonic stem cells correct learning and memory deficits", *Nature Biotechnology*, volumen (31), pp. 1-10.

Londra, F., Grasso, L. y Herrera, M. (2015) 'Revisión de modelos en roedores para la investigación en enfermedades de alzheimer y parkinson: su importancia en la psicología comparada', *VII Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología XXII Jornadas de Investigación XI Encuentro de Investigadores en Psicología del MERCOSUR*. Disponible en: <https://www.aacademica.org>.

López-álvarez, J. y Agüera-ortiz, L. F. (2015) "Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer : una visión desde la psicogeriatría", *Psicogeriatría* volumen (5), pp. 3-14.

Lowe, S. L. *et al.* (2021) "Donanemab ( LY3002813 ) dose-escalation study in Alzheimer's disease", *Alzheimer's and dementia (New York)*, volumen (7), pp. 1-10.

Lullo, E. Di y Kriegstein, A. R. (2017) "The use of brain organoids to investigate neural development and disease", *Nature Reviews Neuroscience*, volumen (18), pp. 573-584.

- Mann, D. M. A. (1996) "Pyramidal Nerve Cell Loss in Alzheimer ' s Disease", *Neurodegeneration*, volumen (5), pp. 423–427.
- Martello, G. y Smith, A. (2014) "The Nature of Embryonic Stem Cells", *Annual Review of cell and developmental biology*. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100913-013116.
- Masters, C. L. *et al.* (2015) "Alzheimer's disease", *Nature*, volumen (1), pp. 1–18.
- Mattila, I. *et al.* (2011) "Metabolome in progression to Alzheimer ' s disease", *Translational Psychiatry*, volumen (1), pp. 1–9.
- Mungenast, A. E., Siegert, S. y Tsai, L. (2015) "Modeling Alzheimer's disease with human induced pluripotent stem (iPS) cells", *Molecular and Cellular Neurosciences*. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.11.010.
- Nakamura, S. *et al.* (1998) "Histopathological studies of senile plaques and cerebral amyloidosis in cynomolgus monkeys", *Journal of Medical Primatology*, volumen (27), pp. 244–252.
- National Institute of Aging (2021) *¿Qué causa la enfermedad de Alzheimer?* Disponible en: <https://www.nia.nih.gov/espanol/causa-enfermedad-alzheimer> (Accedido: 23 de julio de 2021).
- Neff, E. P. (2019) "Animal models of Alzheimer's disease embrace diversity", *Lab Animal*, volumen (48), pp. 255–259.
- Newman, M., Ebrahimie, E. y Lardelli, M. (2014) 'Using the zebrafish model for Alzheimer ' s disease research', *Frontiers in Genetics*. DOI: 10.3389/fgene.2014.00189.
- Nia, B. V. *et al.* (2017) "Meta Analysis of Human AlzGene Database : Benefits and Limitations of Using *C . elegans* for the Study of Alzheimer ' s Disease and Co-morbid Conditions", *Frontiers in Genetics*. DOI: 10.3389/fgene.2017.00055.
- Niu, H. (2016) "Prevalence and incidence of Alzheimer's disease in Europe: A meta-analysis", *Neurología*, volumen (32), pp. 523-532.
- Organización Mundial de la Salud (2020), *Demencia*. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (Accedido: 26 de julio de 2021).
- Orta-Salazar, E. *et al.* (2013) "Morphological analysis of the hippocampal region associated with an innate behaviour task in the transgenic mouse model (3xTg-AD) for Alzheimer disease", *Neurologia*, volumen (28), pp. 497–502.
- Palikaras, K. y Tavernarakis, N. (2013) "*Caenorhabditis elegans* (Nematode)", *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. DOI: 10.1016/B978-0-12-374984-0.00186-8.
- Pandey, U. B. y Nichols, C. D. (2011) "Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery", *Pharmacological Reviews*, volumen (63), pp. 411–436.
- Park, I. *et al.* (2008) "Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells", *Cell*, volumen (134), pp. 877–886.
- Paspalas, C. D. *et al.* (2017) "The aged rhesus macaque manifests Braak stage III / IV Alzheimer ' s-like pathology", *Alzheimer's & Dementia*. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.11.005.
- Peñarda, M. de los Á. y Asensio, F. (2008) "Animales modificados genéticamente : (II): Aplicaciones", *Genética II*, volumen (15), pp. 64–73.
- Penney, J. y Ralvenius, W. T. (2019) "Modeling Alzheimer ' s disease with iPSC-derived brain cells", *Molecular Psychiatry*, volumen (25), pp. 148-167-.
- Prüßing, K., Voigt, A. y Schulz, J. B. (2013) "*Drosophila melanogaster* as a model organism for Alzheimer ' s disease", *Molecular Neurodegeneration*. DOI: 10.1186/1750-1326-8-35.
- Puzzo, D. *et al.* (2015) "Rodent models for Alzheimer ' s disease drug discovery", *Expert Opinion on Drug Discovery*,. DOI: 10.1517/17460441.2015.1041913.

- Richards, M. *et al.* (2002) "Human feeders support prolonged undifferentiated growth of human inner cell masses and embryonic stem cells", *Nature Biotechnology*, volumen (20), pp. 933–936.
- Riemens, R. J. M., Kenis, G. y Beucken, T. Van Den (2020) "Human-induced pluripotent stem cells as a model for studying sporadic Alzheimer's disease", *Neurobiology of Learning and Memory*. DOI: 10.1016/j.nlm.2020.107318.
- Salas-castillo, S. *et al.* (2013) "Enfermedad de Alzheimer: Modelos animales como una alternativa para entender la patología y buscar estrategias terapéuticas más exitosas", *Neuroeje.*, volumen (26), pp. 44-54.
- Sani, S. *et al.* (2003) "Distribution, progression and chemical composition of cortical amyloid- deposits in aged rhesus monkeys: similarities to the human", *Acta Neuropathologica*, volumen (105), pp. 145–156.
- Saré, R. M. *et al.* (2020) "Behavioral Phenotype in the TgF344-AD Rat Model of Alzheimer's Disease", *Frontiers in Neuroscience*. DOI: 10.3389/fnins.2020.00601.
- Savory, J. (2003) "Intracellular mechanisms underlying aluminum-induced apoptosis in rabbit brain", *Journal of Inorganic Biochemistry*, volumen (97), pp. 151–154.
- Shankar, G. M. *et al.* (2008) "Amyloid- $\beta$  protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory", *Nature Medicine*, volumen (14), pp. 837–842.
- Shantanam, S. (2018) "Alzheimer's Disease: Experimental Models and Reality", *Physiology & behavior*, volumen (176), pp. 139–148.
- Shimada, I. S. *et al.* (2012) "Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem / progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke", *The journal of Neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, volumen (32), pp. 7926–7940.
- Song, J. (2018) "Animal Model of Aluminum-Induced Alzheimer's Disease", *Advances in experimental medicine and biology*. DOI: 10.1007/978-981-13-1370-7.
- Takahashi, K. *et al.* (2007) "Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors", *Cell*, volumen (131), pp. 861–872.
- Technology, E. (2015) "Guideline 7: Guidelines for Writing EEG Reports", *American Journal of Electroneurodiagnostic Technology*, volumen (8619), pp. 231–235.
- Tiraboschi, P. *et al.* (2004) "Alzheimer disease without neocortical neurofibrillary tangles "A second look"', *Neurology*, volumen (62), pp. 1141–1147.
- Toledano, A. (2012) "¿Existe la enfermedad de Alzheimer en todos los primates? Afección de Alzheimer en primates no humanos y sus implicaciones fisiopatológicas (I)", *Neurología*, volumen (27), pp. 354–369.
- Toledano, A. *et al.* (2014) "¿Existe la enfermedad de Alzheimer en todos los primates? Patología Alzheimer en primates no humanos y sus implicaciones fisiopatológicas (II)", *Neurología*, volumen (29), pp. 42–55.
- Types, C., Pournasr, B. y Duncan, S. A. (2017) "Modeling Inborn Errors of Hepatic Metabolism Using Induced Pluripotent Stem Cells", *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, volumen (37), pp. 1994-1999.
- Van Dam, D. *et al.* (2005) "APP23 mice as a model of Alzheimer's disease: An example of a transgenic approach to modeling a CNS disorder", *CNS Spectrums*, volumen (10), pp. 207–222.
- Venkaterwara, R., Chintapalli, J. W. y Dow, J. A. T. (2007) "Using FlyAtlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease", *Nature Genetics*, volumen (39), pp. 715-720.
- Yang, Hongna *et al.* (2013) "Systemic Transplantation of Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells-Educated T Regulatory Cells Improved the Impaired Cognition in A $\beta$ PPswe / PS1dE9 Transgenic Mice", *PLoS One*. DOI: 10.1371/journal.pone.0069129. Print 2013.