



L'Alzheimer, la pèrdia del jo

Sofia Ruth Nazir Nazir

Tutor: Antonio Arregui

INS Verdaguer

2012-2013

"La memòria és el perfum de l'ànima."

Aurore Dupin

Índex

| | |
|--|-----------|
| Introducció | 1 |
| 1.Com funciona el cervell humà en condicions normals? | 2 |
| 1.1.Estructura cel·lular: Funcionament i parts de la neurona..... | 7 |
| 1.2. Sinapsis | 9 |
| 1.2.1.Tipus de Sinapsi | 10 |
| 2.Què és l'Alzheimer? | 12 |
| 2.1.Hipòtesi colinèrgica: Dèficit de l'acetilcolina | 13 |
| 2.1.2.Hipòtesi de l'amiloide | 14 |
| 2.2.Hipòtesi tau | 24 |
| 3.Detecció | 29 |
| 3.1.Mecanismes d'acció | 31 |
| 3.2.Els fàrmacs | 35 |
| 4.Darrere de la malaltia | 38 |
| 5.Per on va la recerca? | 40 |
| 6.Què faria jo? | 44 |
| 6.1.Anàlisi de les teràpies..... | 53 |
| 7.Conclusions | 81 |
| 8.Agraïments | 82 |
| 9.Webgrafia | 83 |
| ANNEX | 86 |

Introducció

Em dic Sofia Ruth Nazir Nazir, visc a Barcelona i, aquest curs 2012-2013 estic cursant 2^{on} de Batxillerat a l' INS Verdaguer.

El meu Treball de Recerca està relacionat amb les causes i conseqüències de l'Alzheimer. Aquesta malaltia neurodegenerativa amenaça a la nostra societat, ja que va camí de convertir-se en una epidèmia. Malgrat que en el 95% dels casos aquesta demència comença a manifestar-se a partir dels 65 anys, l'increment de l'esperança de vida està provocant que el percentatge de la població afectada per aquesta malaltia augmenti cada cop més.

L'estiu passat vaig tenir l'oportunitat de participar en el Programa Argó que organitza la Universitat Autònoma de Barcelona. En aquesta estada vaig aprendre diverses tècniques que s'utilitzen en el laboratori per treballar amb proteïnes.

Feia un temps que havia llegit articles que parlaven sobre l'Alzheimer i la gran repercussió que aquesta demència té. Va ser llavors quan vaig decidir que el meu treball es centraria en l'Alzheimer i la influència que tenen les proteïnes en el desenvolupament d'aquesta malaltia.

Aquest treball té com a objectius fer un anàlisi dels mecanismes farmacològics que fan els fàrmacs i de les seves funcions en el pacient.

També vull analitzar les teràpies que s'estan utilitzant avui dia i, mitjançant raonaments fonamentats, elaborar una hipòtesis sobre quines podrien ser més útils. Finalment, vull fer un disseny d'una investigació per estudiar l'acumulació anòmala de proteïnes al cervell i així poder traçar un hipotètic camí a la cura de l'Alzheimer.

En aquest treball de recerca la metodologia de treball ha consistit en combinar la recerca amb l'experiència de l'estada. També he assistit a conferències i he estat en contacte amb experts en la malaltia. En un principi tenia la intenció de poder presentar-me voluntària en centres en els que pogués tractar amb pacients d'Alzheimer, però va resultar impossible degut a la complexitat dels tràmits que eren necessaris. Malgrat aquest incident, el desenvolupament del treball ha estat constant i amb poques dificultats.

1.Com funciona el cervell humà en condicions normals?

El cervell és un òrgan constituït de l'encèfal situat dins de la cavitat cranial. És el centre supervisor del sistema nerviós central. Aquest òrgan controla i coordina el comportament i les funcions mentals com per exemple atenció, aprenentatge, cognició, emocions, memòria i percepció. També engloba els aparells sensitius primaris i controla la transició entre els estats de son i vigília.

El cervell l'humà té unes 100 bilions de neurones¹ unides mitjançant unes 1000 milions de connexions sinàptiques. Aquestes es materialitzen en forma d'axons², prolongacions protoplasmàtiques que transporten trens de senyals en forma de potencials d'acció.

El cervell està format per:

·**Matèria grisa:** La matèria grisa o substància grisa correspon a aquelles zones del sistema nerviós central de color grisenc formades principalment per somes³ neuronals i dendrites que no tenen mielina⁴ juntament amb cèl·lules glials⁵.

En la medul·la espinal es troba en el centre i cap als laterals (forma de papallona en tall transversal), mentre que en el cervell ocupa la zona externa, amb excepció dels ganglis interns. Majoritàriament es troba en l'escorça cerebral, tot i que també se'n troba formant uns agrupaments anomenats nuclis, que tenen funcions específiques.

La matèria grisa omple tot l'interior del cervell exceptuant els nuclis i, també forma fascicles constituïts per conjunts d'axons que es desplacen conjuntament per unir determinades zones del cervell.

La substància grisa, al no tenir mielina, no és capaç de transmetre ràpidament els impulsos nerviosos. Aquesta característica s'associa amb la funció del processament d'informació, és a dir, a la funció del raonament. La quantitat d'aquesta substància moltes vegades és vista com directament proporcional a la intel·ligència d'un ésser viu.

1. Cèl·lula nerviosa conductora del sistema nerviós que consta de cos cel·lular, dendrites i un axó. Hi ha diferents tipus de neurones: adrenèrgiques, colinèrgiques, motores, presinàptiques, postsinàptiques i sensorials.

2. Prolongació de les neurones especialitzades en conduir l'impuls nerviós des del cos cel·lular o soma cap a una altra cèl·lula. A la neurona adulta es tracta d'una prolongació única.

3. Cos de la neurona.

4. Lipoproteïna que constitueix alguns sistemes de les bicapes fosfolipídiques. Es troba en el sistema nerviós formant una capa al voltant dels axons de les neurones en éssers vertebrats i, permet la transmissió dels impulsos nerviosos

5. Cèl·lules del sistema nerviós que exerceixen la funció de suport de les neurones i intervenen en el processament cerebral de la informació en l'organisme.

•**Matèria blanca:** Formada pels bilions d'axons que poden fer metres de llargada. El seu color característic és conseqüència de les beines d'un material aïllant anomenat mielina.

La substància blanca de la medul·la espinal està composta per una gran quantitat de fibres nervioses, neuròglies i vasos sanguinis i, es troba al voltant de la matèria gris. Les fibres nervioses de la substància blanca s'encarreguen d'unir els segments medul·lars entre si i, la medul·la espinal amb l'encèfal.

Les fibres nervioses presenten diferents morfologies segons l'estímul que transmeten: fibres exteroceptives i fibres propioceptives.

A la medul·la espinal hi ha tres nivells fonamentals d'organització:

•**Segmentari:** base de les activitats reflexes segmentàries representades en l'arc reflex.

•**Inter-segmentari:** enllaça els mecanismes segmentaris

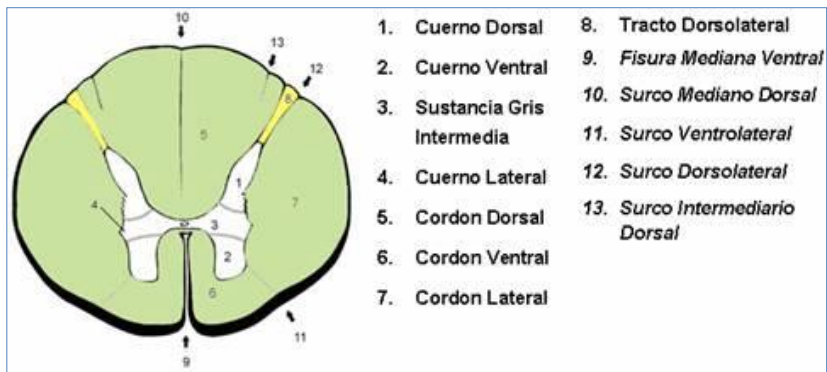
•**Supra-segmentari:** per el qual les activitats medul·lars són coordinades pels centres encefàlics superiors.

La substància blanca medul·lar està formada per 3 cordons que s'anomenen segons la seva localització:

•**Cordó Anterior:** Situat entre la fissura mitjana ventral i solcs ventrolaterals. Controla moviments associats als voluntaris.

•**Cordó Lateral:** Situat entre solcs ventrolaterals i dorsolaterals. Conté fascicles relacionats amb els moviments voluntaris així com fascicles relacionats amb la sensibilitat.

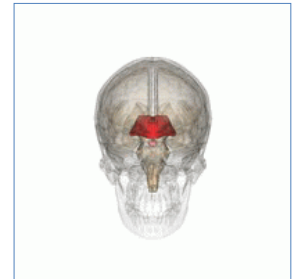
•**Cordó Posterior:** Situat entre solc mitjà dorsal i solcs dorsolaterals en la regió cervical i toràcica alta. Queda subdividit en el Fascicle gràcil i el Fascicle Cuneiforme. Els cordons posteriors estan totalment separats per l'envà mitjà posterior, que va des del solc mitjà posterior fins a la comissura grisa posterior.



Img1. Esquema que mostra les diferents parts del cervell.

En el cervell dels s'hi pot distingir:

•**Diencèfal:** Part central del cervell, voltada pel telencèfal, que conté nombrosos centres de la vida vegetativa i del psiquisme. Regula la secreció hormonal de la hipòfisi mitjançant l' hipotàlem.



Img2. Localització del diencèfal.

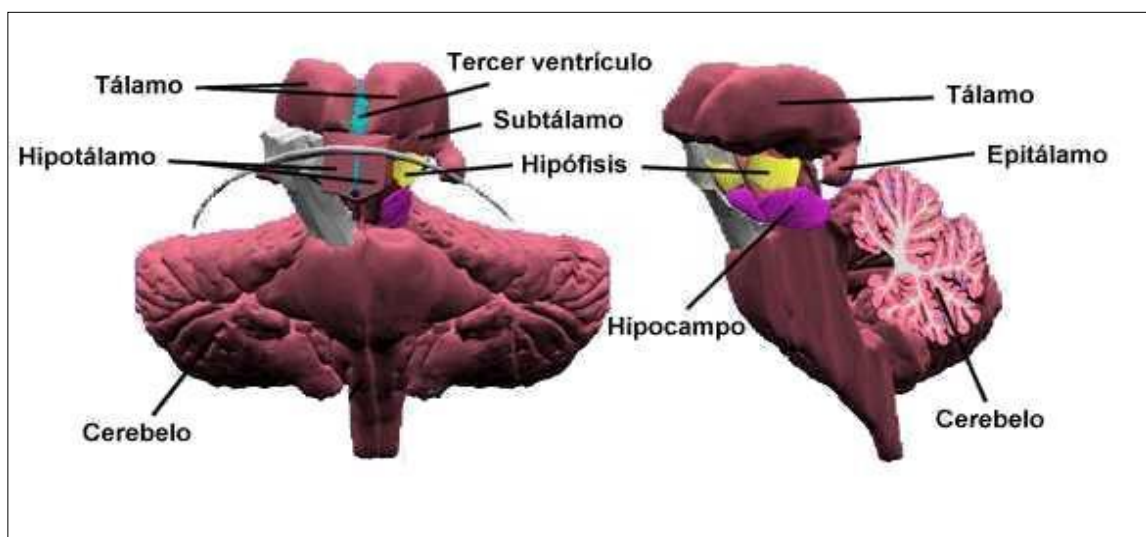
Parts del Diencèfal

-**Epitàlem:** La seva funció és la connexió entre el sistema límbic a altres parts del cervell.

-**Tàlem:** És un nucli gris de la base del cervell. Està constituït fonamentalment per substància grisa, però en les seves cares externes queda recobert per formacions de substància blanca. El tàlem es connecta per axons amb el tronc cerebral, la medul·la espinal, el cerebel, l' hipotàlem i el cos estriat.

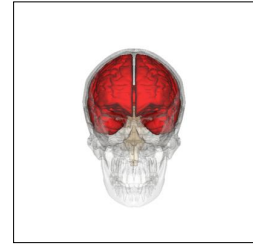
-**Hipotàlem:** Controla el sistema endocrí.

-**Hipòfisi:** Òrgan secretor d'hormones.



Img 3. Parts del diencèfal.

•**Telencèfal:** El Telencèfal és la part més voluminosa del cervell humà. Està constituït pels **hemisferis cerebrals**, escorça cerebral, la matèria blanca i estructures subcorticals i, estructures associades. Representa el nivell més alt de integració somàtica i vegetativa.



Img 4. Localització del telencèfal.

Parts del Telencèfal

•**Arquival·li:** L'arquival·li és l'estructura telencefàlica amb el desenvolupament més ràpid. Està situat a la cara medial de l'hemisferi i està representat per l'hipocamp i estructures associades (complex d'Ammon). Serveix de substrat per al desenvolupament de funcions relacionades amb la memòria i les emocions.

Està format per: el gangli basal, el nucli caudat, la substància negra i el cos estriat

El paleopal·li i l'arquival·li constitueixen el rinencèfal. El neopal·li permet aprendre noves respostes motores i analitzar lògicament diferents situacions ambientals. Filogenèticament, és la porció més moderna del pal·li, situat entre el paleopal·li i l'arquival·li.

•**Paleopal·li:** El paleopal·li, lligat a l'olfacte, està localitzat a la cara ventral de l'hemisferi cerebral, la seva estructura inclou el lòbul piriforme.

Està format per: L'escorça piriforme, el bulb olfactori i l'amígdala.

•**Neopal·li:** Controla les emocions i les capacitats cognitives alhora que participa en funcions com la percepció sensorial, la generació d'ordres motrius, raonament espacial, el pensament conscient i, en els humans, el llenguatge. Malgrat ser el lloc on resideixen la formació i l'elaboració de les funcions cerebrals més complexes, gairebé no hi ha diferències moleculars amb altres àrees cerebrals.

El neopal·li presenta una gran variabilitat en la seva conformació. Sobre la seva superfície s'observen relleus disposats en forma d'eminències més o menys flexuoses que inclouen diferents porcions del neopal·li denominades circumvolucions cerebrals. La formació d'aquestes està estretament lligada a les necessitats de creixement de l'escorça neopal·lial, que augmenta amb la mida corporal i / o la capacitat intel·lectual.

Està format per:

-L'escorça cerebral: Mantell de teixit nerviós ,conformat per quatre lòbuls cerebrals majors, que recobreix la superfície dels hemisferis cerebrals. Té un paper clau en la memòria, l'atenció, la percepció de la consciència, el pensament i el idioma. Està constituïda per un màxim de sis capes horitzontals de neurones.

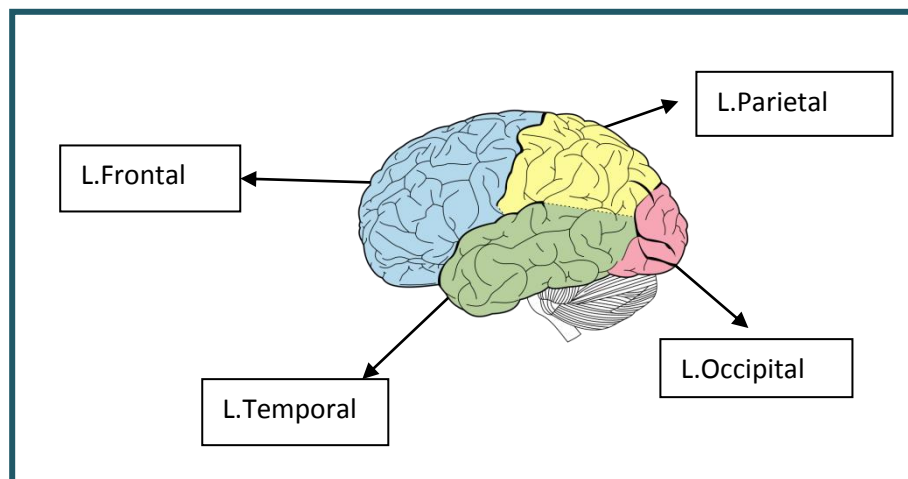
-Lòbul: Part de l'escorça cerebral que subdivideix el cervell segons la seva funció. Hi ha quatre lòbuls cerebrals majors:

·Lòbul frontal: Aquest lòbul està associat amb la capacitat de moure's, de raonar i de solucionar problemes.

·Lòbul parietal: Encarregat de les percepcions sensorials externes: sensibilitat, tacte, percepció.

·Lòbul occipital: Encarregat de la producció d'imatges.

·Lòbul temporal: Té un paper important en tasques visuals complexes com per exemple el reconeixement de cares. Està encarregat de l'audició, l'equilibri i la coordinació. És el centre primari de l'olfacte del cervell. També regula emocions i motivacions com l'ansietat, el plaer i la ira.



Img 5. Esquema del lòbuls cerebrals.

L' **hemisferi cerebral** designa cadascuna de les dos estructures que constitueixen la part més gran de l'encèfal. Són inverses l'una de l'altre malgrat ser asimètrics. La cissura interhemisfèrica divideix el cervell en hemisferi dret i hemisferi esquerre. Aquesta cissura conté el plec de la duramare i les artèries cerebrals anteriors. Dins de la cissura també hi ha el cos callós, conglomerat de fibres nervioses blanques, que connecta ambdós hemisferis transferint informació.

Hi ha poques diferències funcionals entre els hemisferis, només en algunes àrees s'han pogut trobar diferències relatives al seu funcionament, existint excepcions en persones en les quals no s'han observat diferències.

En la majoria dels adults, els centres de la parla estan situats en l'hemisferi esquerre. Malgrat això, aproximadament un 15% dels esquerrans i un 2% dels dretans tenen centres de parla desenvolupats en els dos hemisferis.

En els infants cada hemisferi posseeix en potencia la facultat de la parla i el llenguatge. Una lesió durant aquesta etapa en un dels hemisferis, provoca l'establiment de la facultat en l'altre.

·L' **hemisferi esquerre** reconeix les paraules ja sigui en la parla, l'escriptura, la numeració, les matemàtiques i la lògica. També té les facultats necessàries per transformar un conjunt d'informació en pensaments.

·L' **hemisferi dret** governa tantes funcions especialitzades com l'esquerre, però la seva forma d'elaborar i processar la informació és diferent a la de l'esquerre. No utilitza mecanismes convencionals, sinó que, és un hemisferi integrador, centre de les facultats viso-espacials no verbals. Està especialitzat en les sensacions, sentiments i habilitats especials, com per exemple, visuals, sonores, musicals o artístiques. Processa les situacions d'una forma total i integra diversos camps d'informació transmetent-los com un sol.

1.1.Estructura cel·lular: Funcionament i parts de la neurona

El cervell es compon de neurones i de cèl·lules de la neuròglia⁶. Les cèl·lules de la neuròglia són deu vegades més nombroses que les neurones. Realitzen funcions de suport estructural, metabòlic, d'aïllament i de modulació del creixement o desenvolupament.

Les neurones es connecten entre si per formar circuits neuronals semblants als circuits elèctrics sintètics. El cervell es divideix en seccions separades mitjançant la localització, la composició i la funció.

- Diencefal
- Cerebel
- Tronc de l'encèfal.

La característica que defineix el potencial de les neurones és que són capaces d'enviar senyals a llargues distàncies. Aquesta transmissió es realitza a través dels

seus axons, un tipus de neurita llarg i prim. El senyal el rep una altra neurona a través de qualsevol de les seves dendrites. La base física de la transmissió de l'impuls nerviós és electroquímica. A través de la membrana plasmàtica⁷ de les neurones es produeix un flux selectiu d'ions⁸ que provoca la propagació unidireccional d'una diferència de potencial que transporta la informació. Aquest potencial d'acció es pot transmetre d'una neurona a una altra mitjançant una sinapsi elèctrica.

Una neurona té tres parts principals: el soma, les dendrites⁹ i l'axó.

6. Cèl·lula glial

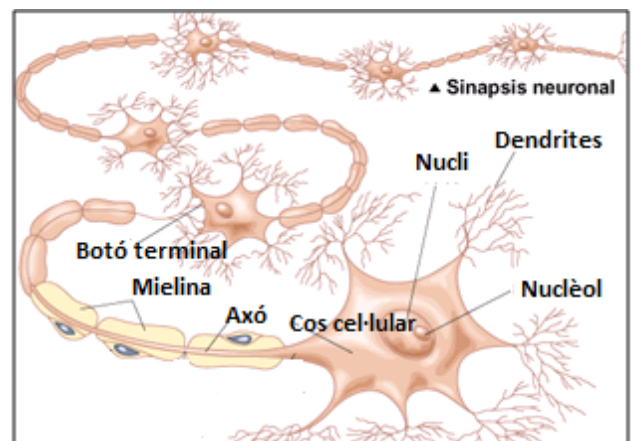
7. *Bicapa lipídica que delimita totes les cèl·lules. És una estructura laminada formada per fosfolípids, glicolípid i proteïnes. Envolta, limita, dóna forma i contribueix a mantenir l'equilibri entre l'interior (mitjà intracel·lular) i l'exterior (medi extracel·lular) de les cèl·lules. Regula l'entrada i sortida de moltes substàncies entre el citoplasma i el medi extracel·lular.*

8. *Subpartícula carregada elèctricament constituïda per un àtom o molècula que no és elèctricament neutra.*

9. *Prolongacions protoplàsmiques ramificades bastant curtes de la neurona. Estan dedicades a la recepció d'estímuls i a l'alimentació cel·lular. Aquests terminals neuronals actuen com a receptors d'impulsos nerviosos provinents des d'un axó pertanyent a una altra neurona.*

Les dendrites i l'axó són els elements encarregats d'establir les relacions sinàptiques. Reben la majoria de la informació que prové de les cèl·lules presinàptiques i l'axó és la prolongació protoplasmàtica per la qual les cèl·lules presinàptiques es connecten a les dendrites de les cèl·lules receptores.

Les connexions sinàptiques poden establir-se a curt o llarg abast. Les motoneurons de l'espina dorsal, per exemple, es comuniquen directament amb òrgans com els músculs per donar lloc al moviment -sinapsis neuromuscular-. En canvi, les connexions entre neurones del cervell es donen a micròmetres a la rodona.



Img 6. Esquema de les parts de la neurona.

Aquestes sinapsis són asimètriques tant en estructura com en funcionament. Només la neurona presinàptica segregava els neurotransmissors¹⁰ que s'uneixen als receptors de membrana de la cèl·lula postsinàptica.

El terminal nerviós presinàptic normalment emergeix de l'extrem d'un axó, mentre que la zona postsinàptica normalment correspon a una dendrita, al cos cel·lular o a altres zones cel·lulars.

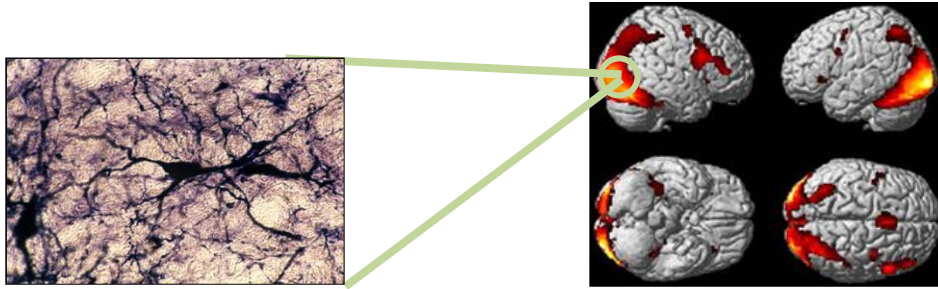
La zona de la sinapsi on s'allibera el neurotransmissor es denomina zona activa. A les zones actives, les membranes de les dues cèl·lules adjacents estan unides estretament mitjançant proteïnes d'adhesió cel·lular. Just després de la membrana de la cèl·lula postsinàptica apareix un complex de proteïnes entrelaçades anomenat densitat postsinàptica. Les proteïnes de la densitat postsinàptica compleixen nombroses funcions, que van des de l'ancoratge i moviment de receptors de neurotransmissors de la membrana plasmàtica, fins l'ancoratge de diverses proteïnes reguladores de l'activitat d'aquests receptors.

10. Biomolècula que transmet informació d'una neurona a una altra consecutiva, unides mitjançant una sinapsis. El neurotransmissor s'allibera per les vesícules en l'extrem de la neurona presinàptica durant la propagació de l'impuls nerviós, travessa l'espai sinàptic i actua canviant el potencial d'acció en la neurona següent, anomenada postsinàptica, fixant-se en punts precisos de la seva membrana plasmàtica.

1.2. Sinapsis

La sinapsi és una unió intercel·lular especialitzada entre neurones o entre una neurona i una cèl·lula efectora. En aquests contactes es porta a terme la transmissió de l'impuls nerviós. Aquest s'inicia amb una descàrrega química que origina un corrent elèctric en la membrana de la cèl·lula presinàptica. Quan aquest impuls nerviós arriba a l'axó, la neurona emissora segregava compostos químics o neurotransmissors que es dipositen en l'espai sinàptic.

Els neurotransmissors anomenats noradrenalina i acetilcolina entre d'altres, són els encarregats d'excitar o inhibir l'acció de l'altra cèl·lula anomenada cèl·lula post sinàptica.



Img 7. Ampliació cerebral.

1.2.1. TIPUS DE SINAPSI

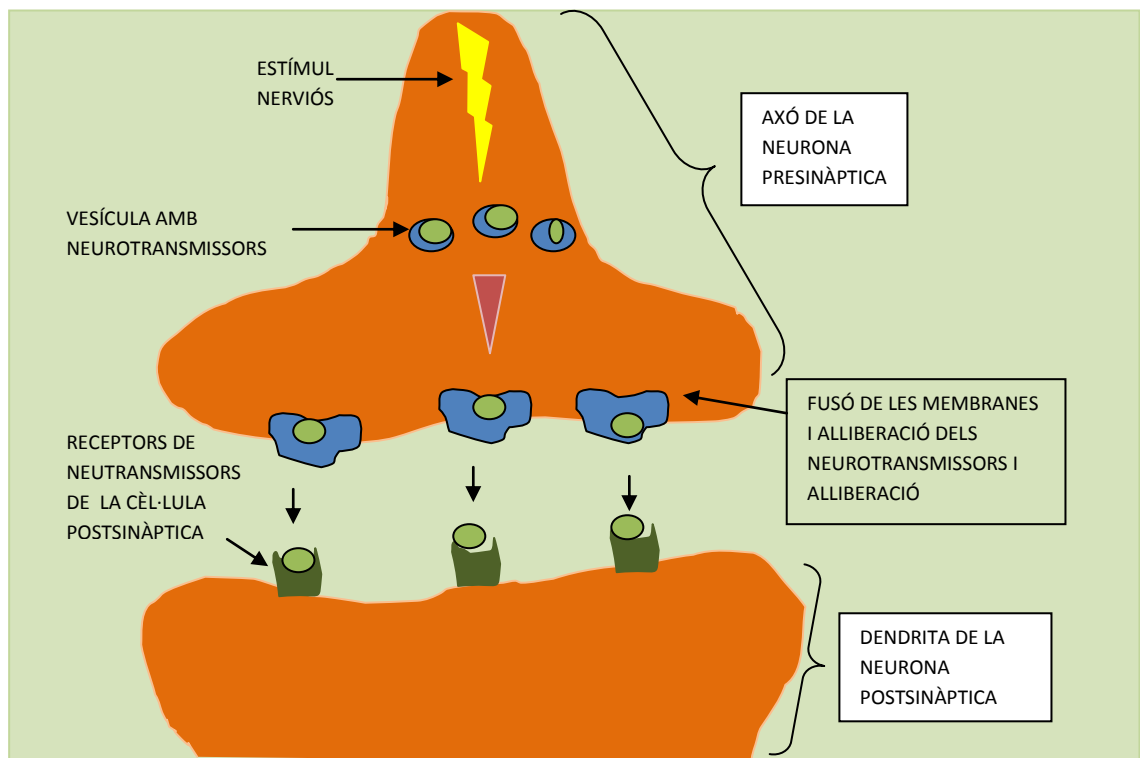
Sinapsi química

S'estableix entre cèl·lules que estan separades per un espai de 20-30 nanòmetres (esquerda sinàptica).

Els neurotransmissors s'alliberen degut a l'arribada d'un impuls nerviós, potencial d'acció, al terminal nerviós de la cèl·lula presinàptica. Es produeix mitjançant un procés de secreció cel·lular.

En el terminal nerviós presinàptic les vesícules que contenen els neurotransmissors resten preparades al costat de la membrana sinàptica per quan arribi un potencial d'acció. En aquest moment es produeix una entrada de Ca^{++} a través dels canals de calci¹¹. Els Ca^{++} inicien una sèrie de reaccions encadenades que provoquen que les membranes vesiculars es fusionin amb la membrana presinàptica i alliberin els neurotransmissors a l'esquerda sinàptica. Els receptors del costat oposat de la membrana postsinàptica s'uneixen als neurotransmissors i permeten l'obertura dels canals iònics propers, fent que els ions flueixin cap a l'interior.

11. Canals iònics (estructures macromoleculares transmembrana proveïdes d'un porus i situades en la membrana plasmàtica de les cèl·lules) que permeten l'entrada de ions Ca^{2+} al citosol i per tant, fan que augmenti la concentració intracel·lular d'aquest ió, produint una despolarització, el que constitueix un senyal per a l'activació de moltes funcions cel·lulars.



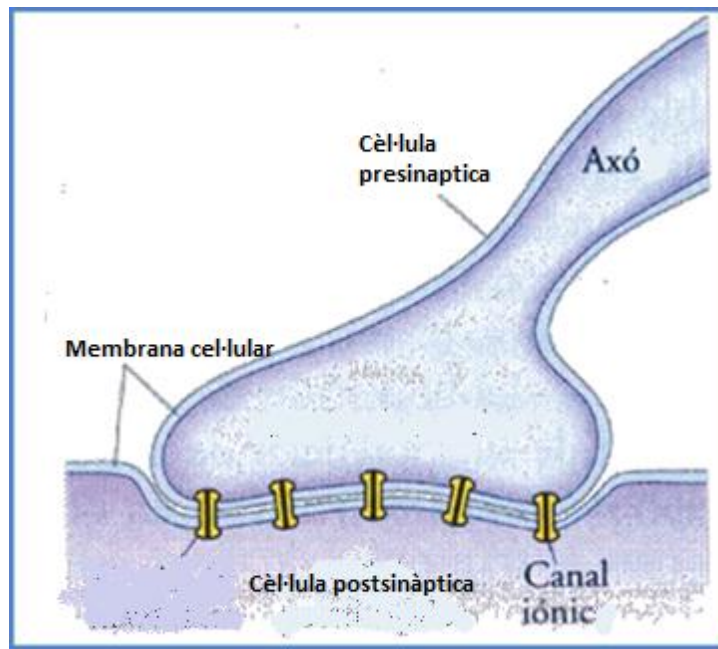
Img 8. Sinapsi química.

Sinapsi elèctrica

En aquest tipus de sinapsis la transmissió entre la primera neurona i la segona no es produeix per la secreció d'un neurotransmissor com en la sinapsi química, sinó pel pas de ions d'una cèl·lula a una altra. Això és possible mitjançant petits canals formats per l'acoblament de complexos proteics en cèl·lules estretament adherides anomenades unions gap.

Les sinapsis elèctriques són més ràpides que les sinapsis químiques, però menys plàstiques. També són menys propenses a alteracions o modulació ja que faciliten el intercanvi entre els citoplasmes de ions i altres substàncies químiques.

- Les sinapsis elèctriques tenen una transmissió bidireccional dels potencials d'acció, en canvi la sinapsi química només té la comunicació unidireccional.
- En les sinapsis elèctriques hi ha una sincronització en l'activitat neuronal, fet que fa possible una coordinada acció entre les neurones.
- La comunicació és més ràpida que en la sinapsi química, ja que els potencials d'acció passen a través del canal proteic directament i sense necessitat d'alliberament dels neurotransmissors.



Img 9. Sinapsi elèctrica.

2. Què és l'Alzheimer?

L'Alzheimer és una malaltia neurodegenerativa que té com a primeres manifestacions la pèrdua de memòria sobre actes recents, canvis de conducta, irritabilitat, desorientació i disminució de la capacitat de concentració. A mesura que les neurones moren diferents zones del cervell s'atrofien, provocant que de mica en mica es vagin perdent facultats fins arribar a la mort. Després del diagnòstic, la malaltia sol tenir una durada mitjana aproximada de 10 anys, encara que això pot variar en proporció directa amb la severitat de la malaltia al moment del diagnòstic.

Els símptomes de la malaltia van ser identificats per Emil Kraepelin, mentre que la neuropatologia característica va ser observada per primera vegada per Alois Alzheimer en 1906 juliol. De manera que el descobriment de la malaltia va ser obra d'ambdós psiquiatres, que treballaven en el mateix laboratori. No obstant això, donada la gran importància que Kraepelin donava a trobar la base neuropatològica dels desordres psiquiàtrics, va decidir nomenar la malaltia Alzheimer en honor al seu company.

La malaltia d'Alzheimer és la forma més comuna de demència avui en dia i, va en camí de convertir-se en una epidèmia ja que al voltant del 20% de la població major de 65 anys la pateix.

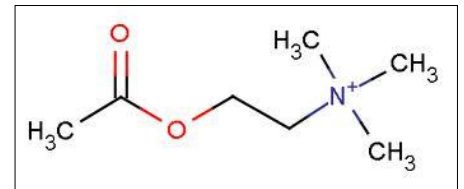
La causa de l'Alzheimer roman desconeguda. Les investigacions solen associar la malaltia a l'aparició de plaques senils i cabdells neurofibril·lars.

Els tractaments actuals ofereixen moderats beneficis simptomàtics però no hi ha tractament que retardi o detingui el progrés de la demència. Per a la prevenció s'han suggerit un nombre variat d'hàbits conductuals, però no hi ha evidències publicades que destaquin els beneficis d'aquestes recomanacions, incloent estimulació mental i dieta equilibrada.

Hipòtesis fonamentals sobre quin podria ser l'origen d'aquesta malaltia:

2.1. Hipòtesi colinèrgica: Dèficit de l'acetilcolina

L'acetilcolina és un neurotransmissor, una biomolècula que té com a funció transmetre informació d'una neurona a l'altra mitjançant la sinapsi. La síntesi d'aquest neurotransmissor generalment té lloc als terminals nerviosos. És un éster¹² que es sintetitza en motoneurons¹³ i neurones colinèrgiques¹⁴.



Estructura de l'acetilcolina

Està format per dos components, acetat i colina. Aquests s'uneixen mitjançant l'acció de l'acetilcolina transferasa. Aquesta reacció té lloc en la seva major part en els terminals nerviosos més que en altres regions neuronals.

L'acetilcolina s'allibera de les vesícules sinàptiques per propagar impulsos per la bretxa sinàptica pertanyent a axons de motoneurons i neurones colinèrgiques.

Es troba en les neurones motores de l'espina dorsal, les neurones preganglionars¹⁵ del SNA i les neurones postganglionars¹⁶ del SNP. Els receptors colinèrgics es divideixen en:

- Nicotínics: Aquests receptors s'uneixen als canals iònics, són més ràpids i generalment excitadors. S'estimulen per la nicotina i l'acetilcolina.

- Muscarínics: Aquests receptors són més lents i són excitadors o inhibitoris.

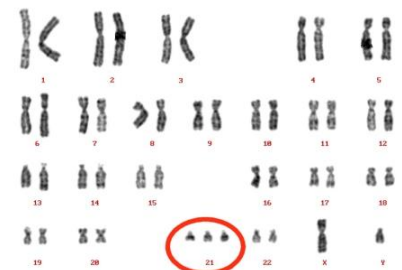
La hipòtesi colinèrgica¹⁷ esmenta que la causa de la malaltia de l'Alzheimer es troba en un dèficit en la síntesi del neurotransmissor acetilcolina. Aquesta és la hipòtesi

La Acetilcolina és la substància encarregada de la transmissió d'impulsos nerviosos de les neurones preganglionars a les postganglionars, en els ganglis del sistema nerviós autònom. A nivell del sistema nerviós parasimpàtic també intervé la transmissió entre la neurona postganglionar i l'òrgan efector. A més, és el mediador de la transmissió nerviosa de la placa motora terminal.

més antiga i per aquest motiu la majoria dels fàrmacs que pretenen tractar la demència es basen en aquesta teoria. Malgrat això, aquesta teoria no ha pogut mantenir un ampli suport ja que els fàrmacs que procuraven tractar els nivells d'acetilcolina no van ser gaire efectius. També s'han proposat altres efectes colinèrgics com la iniciació de l'agregació a gran escala d'amiloide, que produiria una inflamació neuronal generalitzada.

2.1.2.HIPÒTESI DE L'AMILOIDE

Aquesta hipòtesi defensa la postura que el dèficit d'amiloide beta ($A\beta$) són la causa fonamental de la malaltia. Es basa en el fet que el gen¹⁸ de la proteïna precursora de l'amiloide beta (APP) es troba al cromosoma 21, que coincideix amb el de la trisomia que provoca el síndrome de Down. Gairebé la totalitat de les persones amb aquest síndrome desenvolupen Alzheimer al voltant dels 40 anys.



Img 10. Cariotip de pacient amb Síndrome de Down.

12. Substància orgànica caracteritzada per tenir un grup funcional o sigui la unió d'un grup acil amb un grup alquil.
13. En els vertebrats fa referència a la neurona del sistema nerviós central que projecta el seu axó cap un múscul o glàndula.
14. Neurones que alliberen acetilcolina.
15. Neurona el axó estableix contacte amb una altra cèl·lula nerviosa situada en un gangli perifèric.
16. Són neurones el cos es localitza en el gangli nerviós que se situa en el mateix òrgan diana i, el axó que origina és molt curt perquè actua en aquest òrgan. I aquí és on alliberen l'acetilcolina (Ach).
17. Pertanyent o relatiu a la transmissió nerviosa que utilitza com a neurotransmissor turó.
18. Seqüència ordenada de nucleòtids en la molècula d' ADN (o ARN, en el cas d'alguns virus) que conté la informació necessària per a la síntesi d'una macromolècula amb funció cel·lular específica, habitualment proteïnes però també ARNm, ARNr i ARNt.

·L'Apolipoproteïna E4 i l'Alzheimer

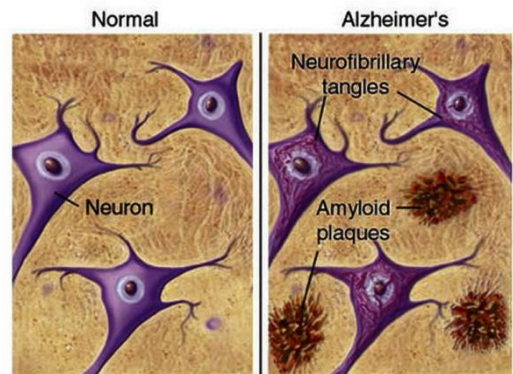
La gran majoria de casos d'Alzheimer són d'aparició tardana i el seu desenvolupament sembla influenciat tant per factors genètics com per factors ambientals.

Un important factor genètic és la presència de l'al·lel e4 de l'apolipoproteïna E (APOE) que codifica una proteïna crucial en el metabolisme del colesterol (entre el 60 i 80% dels malalts d'Alzheimer tenen com a mínim un al·lel APOE). Existeixen evidències que recolzen que APOE4 modula el metabolisme i l'agregació del pèptid amiloide beta, regula el metabolisme lipídic a nivell cerebral i la funció sinàptica a través dels receptors de APOE.

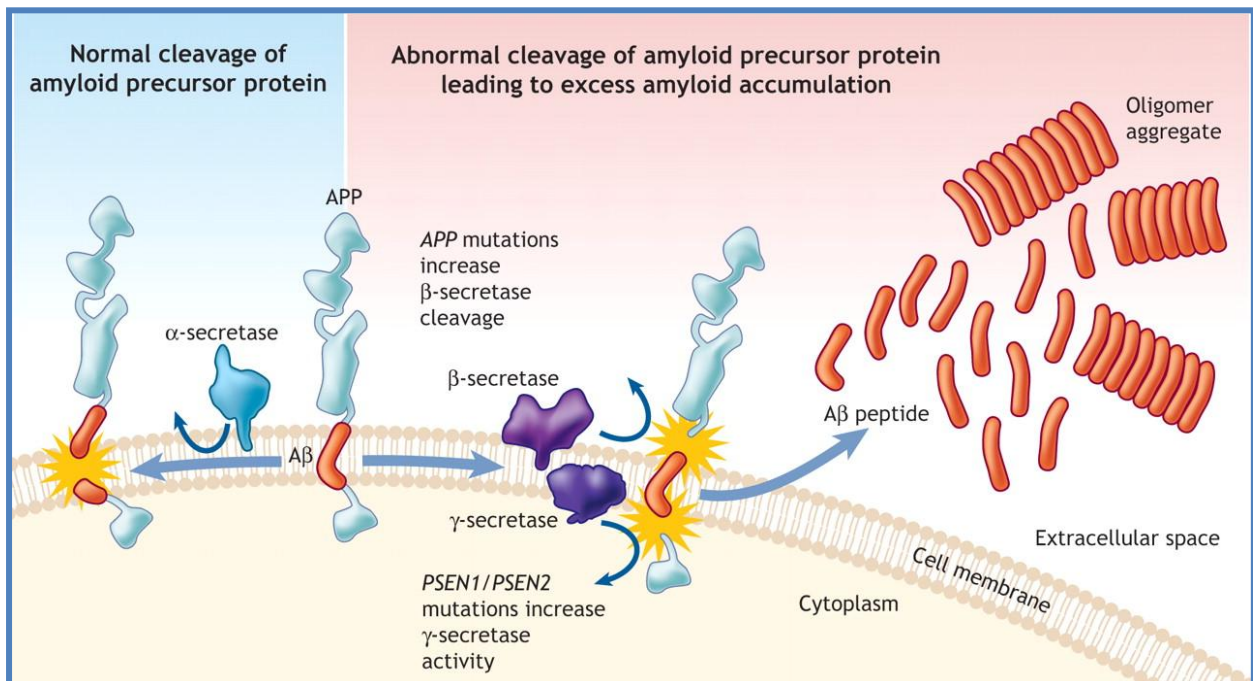
La seva contribució a la patogènesi¹⁹ de la malaltia d'Alzheimer està relacionada amb la seva participació en aquestes funcions.

Mutacions associades a l'Alzheimer familiar d'aparició primerenca amb una herència dominant (**FAD**) es localitzen en el gen APP i en els gens de la presenilina 1 (**PSEN1**) i presenilina 2 (**PSEN2**). Les presenilines són components essencials del complex proteic responsable de l'activitat gamma secretasa²⁰. Una característica comuna de les mutacions associades a FAD és que incrementen la generació de la forma més llarga del pèptid amiloide beta, la forma Abeta42 i, aquesta té una major tendència a l'agregació i és més tòxica que la forma més curta Abeta40.

Les plaques d'amiloide extracel·lulars i els embolics neurofibril·lars intracel·lulars són les lesions més comunes detectades en els malalts d'Alzheimer.



Img 11. Comparació entre cervell malalt i cervell sa.



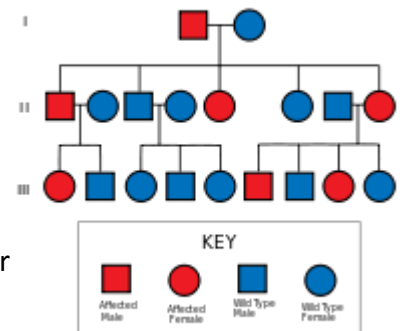
19. Descriu l'origen i evolució d'una malaltia amb tots els factors que estan involucrats en ella.

20. Complex proteic de múltiples subunitats membrana integral. Catalitza la proteòlisi (trencament de proteïnes en subunitats) intramembranosa de diversos tipus, incloent la proteïna precursora d'amiloide-beta.

Alzheimer familiar d'aparició primerenca

L'Alzheimer d'aparició primerenca es caracteritza per arribar a la fase clínica abans del 65 anys. Aquest tipus d'Alzheimer (AD) és molt rar i només representa un 5-10% de tots els casos d'Alzheimer diagnosticats. Dins d'aquest grup gairebé la meitat són casos FAD, és a dir, en aquests casos la malaltia es heretada seguint un patró autosòmic dominant²¹. Malgrat manifestar-se més aviat que l'Alzheimer típic, la resta del patró que segueix és el mateix.

Hi ha un molt petit percentatge de casos d'Alzheimer no heretats que es manifesten al voltant dels 30 o 40 anys.



Img 13. Arbre genètic de família amb FAD.

L'aparició de l'Alzheimer amb característiques FAD és deu a una mutació en com a mínim un d'aquests tres gens: presenilina 1 (PSEN1), presenilina 2 (PSEN2) i APP.

- PSEN1 - Presenilina 1

Les mutacions en aquest gen poden causar l'aparició de l'Alzheimer abans dels 50 anys. La proteïna PSEN1 s'ha identificat com a part del complex enzimàtic que uneix la betamiloide des del l'APP.

Una mutació comú és **Glu318Gly**, que predisposa a l'individu a patir Alzheimer. Un 8.7% dels pacients que pateixen FAD tenen aquesta mutació.

-PSEN2 - Presenilina 2

La proteïna PSEN2 té una estructura i un funcionament molt similar al de la proteïna PSEN1. De la mateixa manera que la PSEN1, la PSEN2 ha sigut identificada com a part del complex enzimàtic que adhereix la betamiloide.

Estudis fets per Kovacs (1996) van demostrar que aquestes dues proteïnes es sintetitzaven en quantitats gairebé idèntiques i, a més, es sintetitzaven en els mateixos orgànuls de les cèl·lules neuronals.

El 1995 Rudolph Tanzi i Jerry Schellenberg varen identificar la mutació **Asn141Ile** en famílies alemanyes amb FAD.

El 1997 Tomita va suggerir que aquesta mutació alterava el metabolisme de la proteïna APP, causant un increment en el nombre de betamiloides que es dipositaven en forma de plaques.

21. *Descriu un dels patrons d'herència clàssics o mendelians i es caracteritza per presentar el fenomen de dominància genètica per a un determinat al·lel d'un gen el locus es troba ubicat en algun dels autosomes o cromosomes no determinants del sexe.*

S'ha proposat la hipòtesi de pèrdua de funció per explicar l'associació de FAD amb mutacions en PSEN ja que la gamma secretassa talla un conjunt de substrats i és important en la funció sinàptica i en la supervivència neuronal.

L'APOE és l'apolipoproteïna transportadora de colesterol més important a nivell cerebral. L'e3 és l'al·lel més freqüent (77%) i e2 el menys freqüent (8%), mentre que e4 té una freqüència del 15% en la població general enfront un 40% en els malalts d'Alzheimer. Individus amb un al·lel e4 tenen una probabilitat 3- 4 vegades major de desenvolupar l'Alzheimer.

L'al·lel e4 és també un factor de risc per l'aterosclerosi, la progressió de la SIDA, l'angiopatia amiloide cerebral, la demència amb cossos de Lewy, la malaltia de Parkinson i l'esclerosi múltiple. Aquestes observacions suggereixen que e4 ha d'estar associat amb una accelerada neurodegeneració comú a diverses malalties neurodegeneratives.

•Propietats bioquímiques de l'APOE

L'APOE és una proteïna que transporta colesterol i altres lípids en el plasma i en el sistema nerviós central unint-se a receptors²² específics APOE. L'APOE aconsegueix la seva major concentració en fetge i cervell. En cervell APOE és sintetitzada per astròcits²³ i micròglia²⁴. Les partícules de APOE unides a lipoproteïnes presents en el líquid cefaloraquídi²⁵ tenen la mida i la densitat de la HDL²⁶ (High Density lipoprotein). Perquè l' APOE sigui estable ha de associar amb lípids.

APOE està formada per 299 aminoàcids²⁷ organitzats en 2 dominis independents: el N-terminal i el C-terminal connectats per una regió flexible. La regió que interacciona amb els receptors de APOE està en el domini N-terminal, mentre que la regió d'unió a lípids és al domini C-terminal.

Les 3 isoformes apoE2, apoE3 i APOE4 difereixen únicament en les posicions 112 i 158, però aquestes diferències afecten l'estructura de la proteïna i al seu unió a lípids i receptors.

•**ApoE2:** Transporta lípids menys eficientment i la seva presència s'associa amb la hiperlipoproteinèmia²⁸.

•**APOE4:** S'uneix preferentment a lipoproteïnes de grans dimensions i està associada amb un moderat augment en el risc de patir malaltia cardiovascular. La presència d'arginina²⁹ en la posició 2 afecta la conformació de l'arginina 61 (en el domini N-terminal) que en aquesta isoforma³⁰ interacciona amb el glutàmic³¹ 255 del domini C-terminal. Aquest tipus d'interacció entre els dominis N i C terminal sembla afectar l'estabilitat de la molècula que queda en un estat inestable que podria influir en la patogènia de l'Alzheimer.

22. Proteïnes que permeten la interacció de determinades substàncies amb els mecanismes del metabolisme cel·lular.

23. Cèl·lules glials que assumeixen un elevat nombre de funcions clau per a la realització de l'activitat nerviosa. Deriven de les cèl·lules encarregades de dirigir la migració de precursors durant el desenvolupament.

24. Cèl·lules petites amb nucli allargat i amb prolongacions curtes i irregulars que tenen capacitat fagocitària, formen part del conjunt de cèl·lules neuroglials del teixit nerviós.

25. Líquid de color transparent que banya l'encèfal i la medul·la espinal. El líquid cefaloraquídi pot enterbolir per la presència de leucòcits o la presència de pigments biliars. Nombroses malalties alteren la seva composició i el seu estudi és important i amb freqüència determinant en les infeccions menínigies, carcinomatosi i hemorràgies. També és útil en l'estudi de les malalties desmielinitzants del sistema nerviós central o perifèric.

26. Lipoproteïnes que transporten el colesterol des dels teixits del cos fins al fetge.

27. Molècula orgànica amb un grup amino (-NH₂) i un grup carboxil (-COOH) units a un carboni central. Els aminoàcids més freqüents i de major interès són aquells que formen part de les proteïnes.

28. Superabundància d'una determinada classe de lipoproteïnes plasmàtiques. Les hiperlipoproteinèmies es classifiquen (tipus IV) segons el patró anormal observat en l'electroforesi en gel de les lipoproteïnes plasmàtiques.

29. Un dels 20 aminoàcids que es troben formant part de les proteïnes.

30. Una de les diferents formes de la mateixa proteïna. Les diferents formes d'una proteïna podrien ser generades per gens relacionats, pel mateix gen a través del procés de splicing alternatiu, o una maduració diferencial.

•Receptors de APOE, trànsit de l'APP i producció d'amiloide beta

L'acumulació de beta amiloide, la seva oligomerització³² i la seva deposició en el cervell són centrals en la patogènesi de la malaltia d'Alzheimer. Els nivells d'amiloide beta depenen del balanç entre la producció i l'aclariment d'aquesta. Així doncs, l'acumulació d'amiloide beta en el cervell pot ser degut a un augment en la producció de la proteïna, a un aclariment ineficient o per ambdues coses. Tant l'APOE com els seus receptors són elements crucials en ambdós processos. Diversos receptors de APOE interactuen amb l'APP i modulen el seu trànsit i processament a amiloide beta.

Les interaccions entre APP i LRP1³³, tant a nivell extracel·lular com intracel·lular, s'han estudiat mitjançant ratolins i la tècnica FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer). La conseqüència d'aquesta interacció entre APP i LRP1 és un accelerat trànsit de l'APP cap al compartiment endocític³⁴ i un processament cap amiloide beta. La beta-secretasa (BACE1) és molt abundant i activa en el compartiment endosòmic³⁵ que és àcid. Si l'APP abunda en aquest compartiment, el processament a amiloide beta augmenta.

El paper de LRP1 de facilitar el processament a amiloide beta està també recolzat per experiments en el model de ratolí. En aquests experiments s'observa que la sobreexpressió d'un minireceptor de LRP1 en neurones causa un increment d'amiloide beta dependent de l'edat. En una línia cel·lular neuronal que sobre-expressa APP s'ha mostrat que APOE4 incrementa la producció d'amiloide beta de manera més extensa que la apoE3. Aquesta diferència desapareix si s'incuben les cèl·lules amb l'antagonista³⁶ RAP o es redueix l'expressió de LRP1 amb RNA d'interferència.

Altres receptors de APOE que interactuen amb l'APP i regulen el seva trànsit i processament a amiloide beta: LRP1B, APOER2 i SORLA

LRP1B: contribueix en retenir l'APP en la superfície cel·lular i redueix el seu processament a amiloide beta.

APOER2: incrementa o redueix la producció d'amiloide beta depenent de les condicions.

SORLA: és un altre receptor de APOE que modula el trànsit de APP i el seu processament a amiloide beta. L'expressió de SORLA en malalts d'Alzheimer està molt reduïda en cervell i la inducció de la seva sobre-expressió dirigeix l'APP cap al Golgi reduint el seu processament cap amiloide beta. D'acord amb això la delecció³⁷ del gen Sorl1 en ratolí incrementa la concentració d'amiloide beta en cervell. A més, estudis recents han detectat relacions entre variants del gen Sorl1 i malaltia d'Alzheimer.

32. Agregació de molècules per a la formació d'una estructura més complexa formada per subunitats independents.

33. Proteïna receptora de lipoproteïnes de baixa densitat. Es troba a les membranes cel·lulars i està codificada pel gen LRP1.

34. L'Endocitosi és el procés pel qual la cèl·lula pren matèria de l'exterior cel·lular. La matèria introduïda queda envoltada per membrana, formant vesícules. Aquesta vesícula endocítica serà processada intercel·lularment en una sèrie de compartiments endocítics intracel·lulars de la via endosomal, on el càrrec seu contingut serà processat.

35. La porció terminal dels axons mostra nombroses vesícules sinàptiques, mitocondris, neurofilaments i cisternes de membrana anomenades: compartiments endosòmics.

36. Tipus de fàrmac que en unir-se a un receptor cel·lular no provoca una resposta biològica, però bloqueja o deté respostes intervingudes per agonistes*. *Substància capaç d'unir-se a un receptor cel·lular i provocar una resposta en la cèl·lula per tal d'estimular una funció, ja sigui específica o adversa, en el cas de reaccions que no es volen observar.

37. Anomalia estructural cromosòmica que consisteix en la pèrdua d'un fragment d'ADN d'un cromosoma. Aquesta pèrdua origina un desequilibri. Una deleció pot produir-se en l'extrem d'un cromosoma (deleció terminal) o al llarg d'un dels seus braços (deleció intersticial).

•Receptors d' APOE en l'aclariment i agregació d'amiloide beta

Es creu que l'alteració de l'aclariment d'amiloide beta és el més important en la patogènia de l'Alzheimer. L'amiloide beta té una vida mitjana relativament curta en el cervell. A més sembla dependre de l'edat, havent detectat una vida mitjana d'unes 2 hores en ratolins joves i d'unes 4 hores en ratolins d'edat. En humans l'aclariment d'amiloide beta és de 8,3% per hora.

Existeixen 2 vies principals d'aclariment d'amiloide beta a nivell cerebral:

1-Aclariment mitjançant receptors

Els receptors poden unir amiloide beta directament o a través de les xaperones³⁸ d'amiloide beta. APOE és la xaperona d'amiloide beta que està millor caracteritzada. Es detecta immunoreactivitat per APOE en les plaques d'amiloide, el que suggereix que APOE interacciona directament amb amiloide beta en els malalts d'Alzheimer. La regió de APOE responsable de la unió a amiloide beta és el domini C-terminal. Aquesta regió solapa amb la regió d'unió a lípids, de manera que la forma d'unir-se

Probablement està regulat pels receptors de APOE LRP1, LDLR i VLDLR. APOE, LRP1 i diversos lligands de LRP1 com la lactoferrina o la alfa2-microglobulina estan presents en les plaques d'amiloide.

pèptid d'amiloide beta és similar a la forma d'unir-se als lípids. A més, la unió d' APOE a amiloide beta compromet la seva funció transportadora de lípids. Els pèptids d'amiloide beta podrien intervenir en la patogènesi de la malaltia d'Alzheimer a través del compromís que ocasionen sobre la funció que desenvolupa APOE en el metabolisme lipídic cerebral. El complex apoE3-lipoproteïna s'uneix al amiloide beta amb major afinitat que el complex APOE4-lipoproteïna, de manera que apoE3 aclareix més eficientment l'amiloide beta que APOE4. En diversos models de ratolí expressant apoE3 i APOE4 humanes s'ha comprovat que els que expressen apoE3 desenvolupen menys plaques d'amiloide. Estudis post-mortem han demostrat que els portadors l'al·lel e4 tenen més plaques d'amiloide. Això s'ha comprovat tant en malalts amb Alzheimer familiar com esporàdic. Aquestes troballes s'han confirmat també en persones sense alteracions cognitives utilitzant PET (Positron Emissió Tomography).

38. Conjunt de proteïnes presents en totes les cèl·lules moltes de les quals són proteïnes de xoc tèrmic. La seva funció és ajudar al plegament d'altres proteïnes acabades de formar en la síntesi de proteïnes. Aquestes xaperones no formen part de l'estructura primària de la proteïna funcional, sinó que només s'uneixen a ella per ajudar en el seu plegament, acoblament i transport cel·lular a una altra part de la cèl·lula on la proteïna realitza la seva funció.

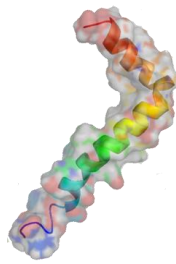
L'aclariment mitjançant receptors és una manera eficient de reduir l'amiloide beta cerebral ja que la majoria d'aquest amiloide es degrada en lisosomes o s'allibera al plasma. Malgrat això, pot conduir a una acumulació intraneuronal d'amiloide beta que pot resultar tòxica. Una porció d' amiloide beta que és internalitzada en neurones, s'acumula en cossos multivesiculars i contribueix a la disfunció lisosomal i a la toxicitat neuronal. En canvi la internalització d'amiloide beta per astròcits i micròglia probablement representa una via d'aclariment més funcional.

2-Aclariment per degradació proteolítica

La nefrilisina i la IDE (Insulin Degrading Enzyme) són les Abeta proteases millor estudiades que s'expressen en neurones i en cèl·lules vasculars. La presència del al·lel e4 de APOE sembla associar-se a una reduïda expressió d'ambdues proteases. Altres Abeta proteases són: plasmina, ECE1, ECE2, MMP2, MMP3, MMP9 i ACE. El paper que juga cadascuna d'elles en l'Alzheimer està encara per investigar.

•APOE en la neurotoxicitat induïda per Abeta

Especialment els oligòmers³⁹ de Abeta són altament tòxics per a les neurones. Oligòmers de Abeta sintètics inhibeixen la viabilitat dels cultius de neurones 10 vegades més que les fibres d'Abeta42 i, 40 vegades més que els pèptids no agregats. APOE4 augmenta aquesta toxicitat dels oligòmers de Abeta més que apoE3. Recentment s'han publicat estudis en els quals APOE4 i agregats de Abeta, induïts per inhibició de nefrilisina, actuen sinèrgicament en la inducció de neurodegeneració en ratolí. En canvi no se sap per què en diversos models de ratolí l'acumulació de Abeta induïda per inhibició de nefrilisina si produeix neurodegeneració mentre que la produïda per la sobreproducció de APP mutant no la produeix.



Img 14. Oligomer abeta.

39. *Complex proteic format per poques subunitats.*

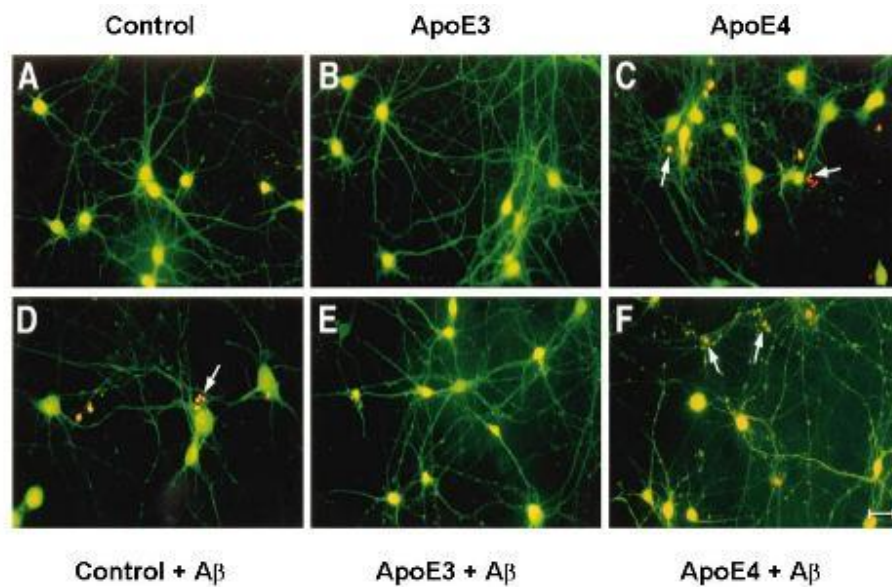
•APOE, plasticitat sinàptica i integritat medul·lar

L'error sinàptic és una característica patològica de l'Alzheimer. Cada vegada hi ha més evidències que recolzen que les diferents isoformes de APP regulen de forma diferent la plasticitat sinàptica i els processos de reparació. Ratolins transgènics que expressen APOE4 humana mostren dèficits sinàptics en absència de la neuropatologia. Aquests ratolins tenen també alterada la LTP40 en l'hipocamp comparat amb ratolins que expressen apoE3 o amb ratolins salvatges.

Lipoproteïnes amb apoE3 són més efectives que les que tenen APOE4 en la protecció contra l'apoptosi neuronal. És possible que l'Alzheimer sigui el resultat de l'acumulació de danys, causats per amiloide beta, oxidació i inflamació, que la APOE4 no és capaç de neutralitzar per la seva defectiva capacitat de reparació sinàptica i neuronal. També és diferencial la regulació de la formació d'espines dendrítiques durant l'envelliment. Experiments amb ratolins d'un a 2 anys han

mostrat que ratolins transgènics que expressen apoE3 i ratolins salvatges tenen una major densitat d'espines dendrítiques que els ratolins que expressen APOE4 o els que no expressen APOE. Aquestes diferències es manifesten a partir de l'any de vida.

En pacients amb Alzheimer o en persones grans amb APOE4 els nivells de APOE4 correlacionen inversament amb la densitat d'espines dendrítiques. La sobreexpressió de apoE2 minora la pèrdua d'espines dendrítiques en els ratolins models d'amiloide. Estudis in vitro han mostrat que un agonista PPARgamma (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) incrementa la densitat d'espines dendrítiques i restaura la pèrdua causada per APOE4 en neurones primàries.



Img 15. Estudi en ratolins de l'agregació amb l'activitat de diferents Apoe.

40. És una intensificació duradora en la transmissió de senyals entre dues neurones que resulta de l'estimulació sincrònica d'ambdues. És un dels diversos fenòmens subjacents a la plasticitat sinàptica, la capacitat de la sinapsi química de canviar la seva força.

2.2.Hipòtesi tau

Al 2004 un estudi va trobar que els dipòsits de plaques d'amiloide no es correlacionen del tot amb la pèrdua de neurones actives. Aquesta observació va fer pensar que era la anormalitat d'una proteïna tau la que iniciava el desenvolupament de la malaltia.

Proteïnes tau hiperfosforilades comencen a aparellar-se amb altres cadenes tau, formant finalment, un cabdell neurofibril·lar dins dels cossos de les cèl·lules nervioses. Quan això succeeix, els microtúbuls es desintegren col·lapsant el sistema de transport de la neurona, la qual cosa podria causar, en primera instància, un mal funcionament en les comunicacions entre neurones i, a la llarga, la mort de les cèl·lules. D'altra banda, també s'ha proposat que el virus de l'herpes simple podria ser el portador de les versions susceptibles del gen de l'APOE.

·APOE, tau i disfunció mitocondrial

La proteïna tau és tòxica per les neurones i és el component majoritari dels "neurofibrillary tangles". La reducció de tau endogen bloqueja el deteriorament cognitiu en models de ratolí. La sobreexpressió de APOE4 en neurones, però no en astròcits, incrementa la fosforilació⁴¹ de tau en ratolí. APOE no sol expressar-se en neurones sinó en astròcits i en micròglia, però sí que sembla expressar després d'una lesió. És possible que en malalts d'Alzheimer es produeixi una expressió anormal d'APOE en neurones que indueixi la hiperfosforilació de tau.

Una altra qüestió sense aclarir és com APOE i tau entren en contacte ja que normalment estan separades per la membrana plasmàtica o la membrana d'altres orgànuls. Una hipòtesi és que fragments C-terminals de APOE entren al citosol i interactuen amb tau. Una altra hipòtesi planteja la possibilitat que les diferents isoformes de APOE podrien modular diferencialment les cascades de senyalització i, indirectament, les quinases i fosfatases que actuen sobre tau. Fragments d'APOE4 corresponents a les regions d'unió a receptor i d'unió a lípids causen disfunció mitocondrial i neurotoxicitat. La regió C-terminal d'unió al receptor sembla ser necessària per la fuita de la via secretora i la regió d'unió a lípids mitjana la unió a mitocòndria. La rellevància de tot això encara requereix investigació.

41. Addició d'un grup fosfat inorgànic a qualsevol altra molècula. En el metabolisme, la fosforilació és el mecanisme bàsic de transport d'energia des dels llocs on es produeix fins als llocs on es necessita. Així mateix, és un dels principals mecanismes de regulació de l'activitat de proteïnes en general i dels enzims en particular.

FACTORS INFLUENCIADORS

S'han identificat factors que semblen ser influenciadors en el desenvolupament de la malaltia de l'Alzheimer, però encara no s'han arribat a conclusions fermes ja que cal més investigació.

Edat

Al voltant del 5 per cent dels habitants d'Occident d'edats compreses entre els 65 i 74 i, gairebé la meitat d'aquells de 85 anys i més, s'estima que tenen la malaltia d'Alzheimer.

Genètica

La majoria dels casos de la malaltia d'Alzheimer són d'aparició tardana, generalment es desenvolupa després dels 65 anys. L'Alzheimer d'aparició tardana no té causa coneguda i no mostra patró d'herència evident. No obstant això, en algunes famílies, hi ha un patró hereditari. L'ApoE sembla ser un factor de risc per a la malaltia d'Alzheimer d'aparició tardana. Aproximadament un de cada quatre individus té ApoE4 i un de cada vint té apoE2. Si bé heretar l'ApoE4 augmenta el risc de desenvolupar el trastorn, apoE2 substancialment protegeix contra la malaltia. Algunes investigacions actuals es centren en l'associació entre aquestes dues formes de ApoE i la malaltia d'Alzheimer. La malaltia d'Alzheimer hereditària (FAD, per les seves sigles en anglès) és una forma rara de la malaltia que afecta a menys del 10% dels pacients d'Alzheimer. FAD es desenvolupa abans dels 65 anys en persones tan joves com de 35 i, es causada per una de les tres mutacions genètiques en els cromosomes 1, 14 i 21.

Altres possibles factors contribuents

Malaltia cardiovascular

Es consideren factors de risc a malalties del cor i accidents cervell vasculars, com ara alta pressió arterial i el colesterol alt. La pressió sanguínia alta pot fer malbé els vasos sanguinis en el cervell, alterant les regions que són importants en la presa de decisions, la memòria i habilitat verbal. Això podria contribuir a la progressió de l'AD. Per altra banda, el colesterol elevat pot inhibir la capacitat de la sang per eliminar les proteïnes del cervell.

Diabetis tipus 2

Hi ha una creixent evidència d'un vincle entre l'AD i la diabetis tipus 2. En la diabetis tipus 2 la insulina no funciona eficaçment per convertir el sucre en energia. Aquesta ineficiència es tradueix en la producció de majors nivells d'insulina i un augment de la concentració del sucre en la sang. Aquests dos factors poden danyar el cervell i contribuir en la progressió de l'AD.

Dany oxidatiu

Els radicals lliures són molècules inestables que de vegades resulten de reaccions químiques dins de les cèl·lules. Aquestes molècules busquen l'estabilitat atacant a altres molècules, la qual cosa pot danyar cèl·lules i teixits i, poden contribuir a perjudicar les cèl·lules neurones del cervell causats per AD.

Inflamació

La inflamació és natural però de vegades nociva. És una funció de sanitat corporal on les cèl·lules immunitàries s'alliberen de les cèl·lules mortes i altres productes de rebuig. Quan plaques de proteïna es desenvolupen en AD, es produeix una inflamació que encara no se sap si és perjudicial i causa d'AD, o és part d'una resposta immunitària per intentar contenir la malaltia.

FASES DE L'ALZHEIMER

El símptoma inicial és la incapacitat d'adquirir noves memòries, però sol confondre's amb actituds relacionades amb la vellesa o l'estrés. El diagnòstic es realitza amb avaluacions de conducta i cognitives i amb neuroimatges. A mesura que progressa la malaltia, apareixen confusió mental, irritabilitat i agressió, canvis d'humor, trastorns del llenguatge, pèrdua de la memòria de llarg termini i una predisposició a aïllar-se a mesura que els sentits del pacient declinen. Gradualment es perden les funcions biològiques. El pronòstic per a cada individu és difícil de determinar. La mitjana general és de 10 anys, menys del 3% dels pacients viuen més de 14 anys després del diagnòstic.

Etapa 1

En la primera etapa es presenta un dels primers símptomes de l'Alzheimer: la pèrdua de memòria ocasional. Generalment comença a oblidar coses que tenen a veure amb la seva vida diària, com per exemple noms de veïns o amics. També es poden perdre i oblidar cites. Aquestes pèrdues de memòria poden passar inadvertides per ser bastant lleus però amb el temps poden interferir en el dia a dia dels malalts. En quant al comportament es manifesten canvis d'humor, que moltes vegades estan relacionats amb la frustració que senten els malalts en adonar-se dels seus oblits.

En aquesta fase tendeixen a fer frases més curtes i a barrejar idees sense relació directa i tenen problemes per trobar paraules. Malgrat això encara continua raonant adequadament.

Etapa 2

En aquesta fase ja és completament evident que les pèrdues de memòria es deuen a un problema de salut i no a una condició intuïda per la vellesa o l'estrès.

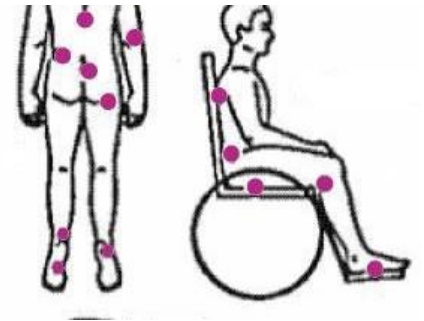
La memòria recent és la que es veu més afectada i, els malalts comencen a oblidar les coses que han fet o han succeït recentment. També comencen a patir al·lucinacions, pors injustificades i a desenvolupar un comportament agressiu.

En aquesta fase els malats passen a ser més dependent dels cuidadors. En un principi és una tasca relativament fàcil de dur a terme, però mica en mica la situació es va agreujant i arriba un punt en que la tasca dels cuidadors és vital per que els malats pugui continuar tenint una vida relativament normal. Els pacients comencen a tenir problemes clars per expressar-se, repeteixen frases sense cap sentit i a més també tenen problemes per entendre el llenguatge. Al contrari que en la etapa 1, els seus moviments comencen a ser inestables ja que perden l'equilibri i poden arribar a desplomar-se.

Etapa 3

En la darrera fase els pacients depenen completament de terceres persones per a la seva subsistència. Necessiten ajuda en tots els àmbits fins i tot per les tasques més bàsiques: menjar, netejar-se, moure's. Els pacients comencen a perdre també la memòria remota. No reconeixen els seus fills, cònjuges, etc ... El seu comportament s'assembla al d'un nen petit: ploren, criden, etc. No comprenen les explicacions i poden tenir períodes d'agressivitat i d'inhibició.

El seu llenguatge es veu completament deteriorat i només balbucegen. D'altra banda, molts pacients romanen rígids i muts. Tenen problemes per controlar els seus esfínters, els hi costa empassar i no controlen els seus gestos. Augmenten les complicacions i riscos derivats d'infeccions, deshidratació, desnutrició, ferides per immobilització, etc. En moltes ocasions la causa de la mort d'aquests pacients deriven d'aquestes complicacions.



Img 16. Indicació dels llocs on solen aparèixer les úlceres de pressió.

L'Alzheimer es desenvolupa mitjançant una evolució lenta i progressiva, amb lleugers problemes en la primera etapa i acabant amb greus danys cerebrals en les últimes fases.



Img 17. Esquema de les zones afectades del cervell segons l'etapa de la demència.

3. Detecció

La malaltia d'Alzheimer (AD, per les seves sigles en anglès) és irreversible i, en els països occidentals representa més de la meitat dels casos de demència.

Actualment, l'única manera de diagnosticar AD definitivament és a través d'una autòpsia cerebral. No obstant això, en els pacients vius, els metges poden diagnosticar l'AD correctament al voltant del 90% de vegades. Es basen en els símptomes mentals i de comportament, en un examen físic i neuropsicològic i exàmens de laboratori.

En tractar de determinar si una persona té AD, el metge prendrà en primer lloc una història de la persona, dels seus símptomes mentals i de comportament, utilitzant la informació proporcionada per la persona afectada i la família. En gairebé el 75% l'AD comença amb la incapacitat per recordar els esdeveniments recents, d'aprendre i de retenir nova informació. Els pacients amb FAD experimenten problemes de memòria que interfereixen amb la vida diària i empitjoren constantment.

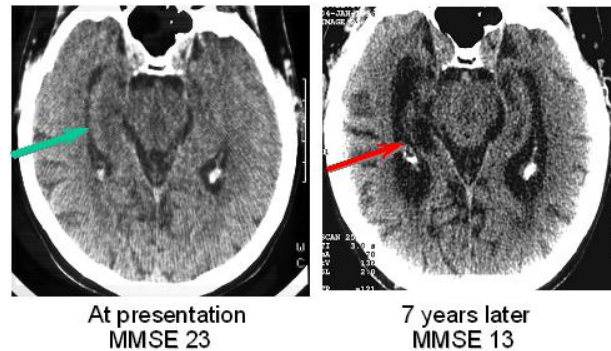
Altres símptomes inicials d'AD poden incloure dificultat amb l'orientació, administració dels diners, conduir, anar a comprar, seguir instruccions, pensament abstracte (conceptual) i trobar les paraules adequades. També pot haver altres problemes, com ara un raonament pobre, inestabilitat emocional i l'apatia. L'AD es pot distingir d'altres tipus de demència pels símptomes presentats, la mesura en que aquests símptomes ocorren i la rapidesa amb que la malaltia progressa.

Un examen físic es durà a terme per ajudar a identificar i descartar altres possibles causes de demència. Aquest examen sol incloure una avaluació física general, les anàlisis de sang i d'orina. A través d'una anàlisi de sang, per exemple, el metge pot mesurar la funció tiroïdal, l'hipotiroïdisme o la manca de producció d'hormones tiroïdals. Aquests factors són comuns en les persones d'edat avançada i poden causar demència.

La demència també pot ser el resultat d'una deficiència de vitamina B12 que és comú en els ancians i, es pot detectar a través d'exàmens de sang. Els metges poden utilitzar exploracions cerebrals (com la ressonància magnètica d'imatges o MRI) per conèixer amb detall les imatges per descartar altres possibles causes de demència, incloent els tumors cerebrals, lesions cerebro-vasculars, l'acumulació de sang a la superfície del cervell o altres condicions. A més, les exploracions cerebrals poden mostrar canvis estructurals característics presents en AD.

Els metges poden efectuar un electroencefalograma (EEG) per mesurar l'activitat elèctrica en el cervell. De vegades, el líquid cefaloraquídi pot examinar-se a través d'una punció lumbar.

Rapid atrophy of medial temporal lobe in AD



Img 18. Electroencefalograma en pacient amb AD.

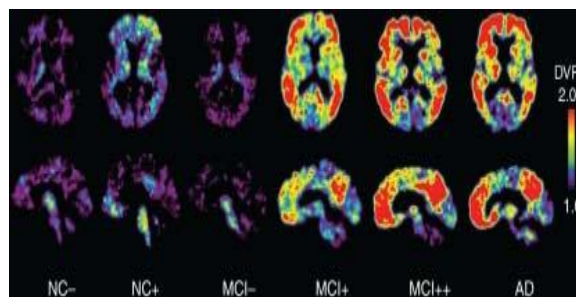
Les proves neuropsicològiques identifiquen símptomes de comportaments mentals associats amb lesions cerebrals o a una funció anormal del cervell. Les proves neuropsicològiques utilitzades dependran dels símptomes i la fase de la demència. En general els metges comencen amb el Mini-Mental Status Examination (MMSE), per ajudar a confirmar que el pacient està experimentant problemes amb les funcions intel·lectuals. El MMSE inclou proves de memòria, atenció, càlculs matemàtics i llenguatge. Si un pacient té demència severa, les proves neuropsicològiques més enllà del MMSE generalment no són necessàries. No obstant això, per als pacients amb dèficit intel·lectual lleu, més proves poden ser necessàries per determinar si el pacient està simplement mostrant signes de l'edat avançada o està desenvolupant AD. El pacient pot ser referit a un neuropsicòleg, que durà a terme una sèrie de proves per determinar més deficiències específiques.

•Problemes de memòria: És això Alzheimer?

•Els oblits lleus i els retards de memòria són sovint part del procés d'envelliment normal. Les persones de més edat simplement necessiten més temps per aprendre un nou assumpte o recordar un de vell. Ocasionalment totes les persones tenen dificultats per recordar una paraula o el nom d'algú, però, aquells amb la malaltia d'Alzheimer troben aquests símptomes progressius en freqüència i gravetat.

Tothom, de tant en tant oblida on va col·locar les claus del seu automòbil, però un individu amb la malaltia d'Alzheimer ni pot recordar l'ús de les claus.

· Hi ha hagut un interès recent en una condició anomenada deteriorament cognitiu lleu (MCI). Els individus amb MCI tenen dificultat en la seva memòria (per exemple, dificultat per recordar noms i seguir converses, amés d'un pronunciat oblit), però són capaços de realitzar activitats de rutina diària sense ajuda. La majoria de les persones amb MCI tenen risc d'un major deteriorament cognitiu, en general causat per la malaltia d'Alzheimer. No obstant això, encara que tots els pacients que desenvolupen algun tipus de demència passen per un període de MCI, no tots els pacients que presenten MCI desenvoluparan la malaltia d'Alzheimer.



Img 19. Comparació entre pacients de MCI i AD.

·L'Alzheimer implica una disminució en el funcionament intel·lectual que interfereix significativament amb les relacions socials normals i les activitats quotidianes. La malaltia d'Alzheimer és una de les malalties que més causen demència en la gent gran.

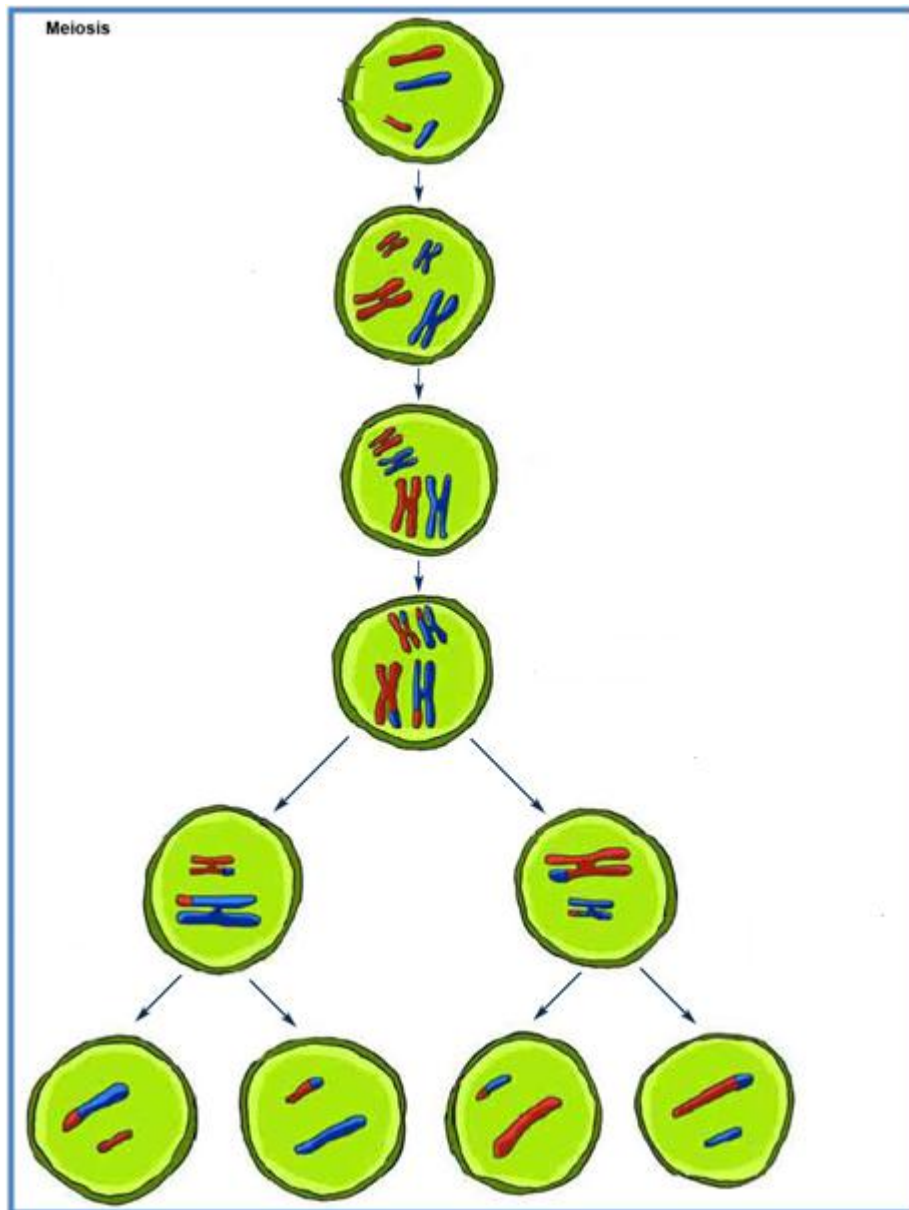
3.1.Mecanismes d'acció

·APOE i els seus receptors com dianes terapèutiques

La majoria de les aproximacions terapèutiques per a la malaltia d'Alzheimer han estat dissenyades per reduir la producció i agregació d'amiloide beta o per promoure'n l'aclariment.

Una aproximació al tractament de l'Alzheimer en persones que porten l'al·lel e4 és transformar APOE4 a apoE3. La principal diferència entre ambdues rau en el domini d'interacció. GIND-25, que és un disulfonat i GIND-105, que és un monosulfoalquil,

alteren aquest domini d'interacció disminuint la producció d'Abeta induïda per APOE4, aconseguint nivells similars als dels que indueix apoE3. Encara són necessaris experiments in vivo per provar aquest sistema.



Img 20. Esquema de com s'hereten els factors hereditaris.

Una altra estratègia és regular l'expressió de APOE a nivell cerebral actuant sobre el seu promotor. Tenint en compte la complexa funció de APOE no és fàcil modular la seva expressió de manera favorable en tots els sentits. Per a això caldria tenir en compte les diferents isoformes, l'estadi de la malaltia i la presència d'altres patologies.

Una altra via d'actuació són els receptors LXR (Liver X receptors), que són receptors de oxiesterol⁴², que actuen com a factors de transcripció participant en la homeòstasi del colesterol. LXRs regulen APOE i ABCA1 promovent el flux de colesterol en neurones i glia. En el model d'amiloide Tg2576 dels agonistes per LXR faciliten l'aclariment de Abeta42 i reverteixen el dèficit de memòria contextual. Agonistes⁴³ o complementaris per LXR podrien ser un tractament efectiu per l'Alzheimer.

Una altra aproximació relacionada amb l'anterior són pèptids capaços de travessar la barrera hematoencefàlica i de desenvolupar funcions similars a la APOE. Aquests pèptids que mimetitzen APOE supprimeixen la inflamació glial i protegeixen del dany neuronal. El seu mecanisme d'acció és desconegut però semblen prometedors com a tractament de l'Alzheimer.

Altres intents de tractament s'orienten a impedir la interacció entre APOE i Abeta. Un pèptid sintètic que no és tòxic anomenat Abeta12-28, similar a la regió d'unió amb APOE, travessa la barrera hematoencefàlica i sembla reduir els nivells globals d'amiloide beta, les plaques d'amiloide i l'angiopatia amiloide cerebral. Aquest mateix pèptid va ser capaç de millorar la memòria en dos models d'amiloide de ratolí. Tot això suggereix que disminuir la interacció entre APOE i Abeta podria disminuir els nivells d'amiloide beta a nivell cerebral.

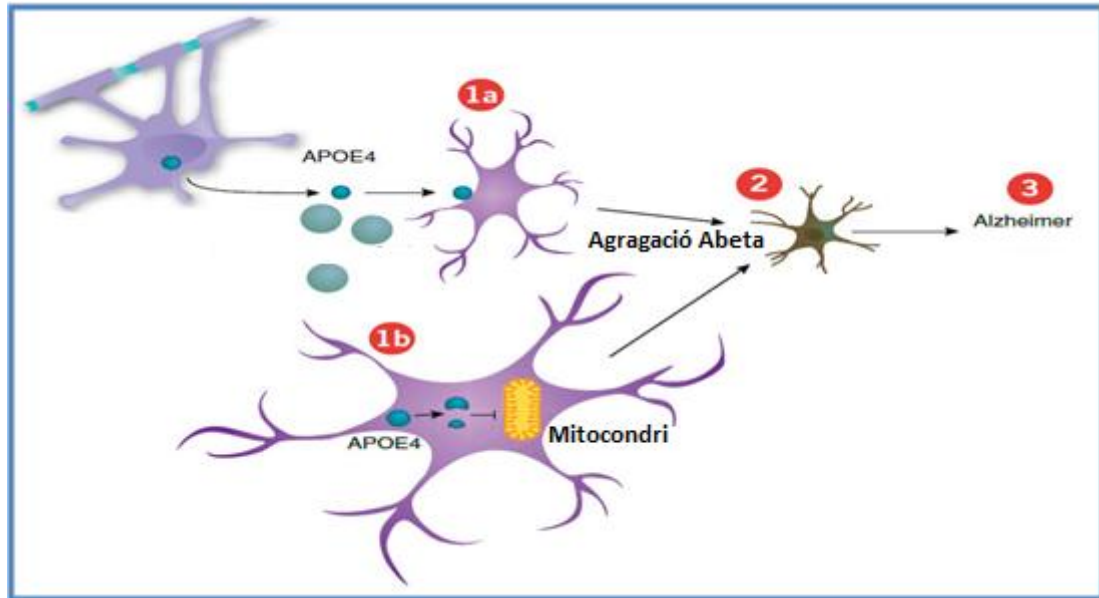
42. *Compostos oxidats del colesterol.*

43. *Substància capaç d'unir-se a un receptor cel·lular i provocar una resposta en la cèl·lula per tal d'estimular una funció, ja sigui específica o adversa.*

Una altra diana potencial són els receptors de APOE. Si LRP1 disminueix en cervells amb Alzheimer caldria provar si restaurar els seus nivells augmenta l'aclariment de Abeta i redueix la patologia d'Alzheimer. APOER2 i VLDLR estan implicats en la ruta de senyalització de la relina, que és fonamental en plasticitat i reparació sinàptica. Components que estimulin la funció d'aquests receptors podrien ser beneficiosos per als pacients d'Alzheimer. Cal tenir en compte que augmentar l'expressió de APOE sembla incrementar el risc per a altres malalties com el càncer.

Altres estratègies que s'estudien són: reduir la fragmentació de APOE per bloquejar la interacció dels fragments de APOE amb els "neurofibrillary tangles" o amb les mitocòndries, augmentar el reciclatge de APOE o bloquejar la interacció entre APP i receptors com LRP1 que promouen la seva processament.

En l'actualitat, no existeix una cura per la malaltia d'Alzheimer. Malgrat això, hi ha medicaments que poden ajudar a controlar els seus símptomes i controlar l'agitació, la depressió o els símptomes psicòtics (al·lucinacions o deliris) que poden ocórrer quan la malaltia progressa.



Img 21. Esquema del desenvolupament de l'Alzheimer.

Inhibidors de la colinesterasa

Hi ha quatre medicaments aprovats per l'Administració de Drogues i Aliments (FDA, per les seves sigles en anglès), anomenats inhibidors de colinesterasa. Estan dissenyats per regular i controlar els símptomes de la malaltia d'Alzheimer. Les persones que pateixen de la malaltia tenen nivells baixos d'acetilcolina.. Els inhibidors de la colinesterasa retarden la degradació metabòlica de l'acetilcolina i proporciona una font addicional d'aquest component químic per a la comunicació entre les cèl·lules. Això ajuda a retardar la progressió del deteriorament cognitiu i poden ser efectius per a alguns pacients entre la primera fase i intermèdia.

3.2.Els fàrmacs

Els quatre inhibidors de la colinesterasa, aprovats per la FDA són: Razadyne[®] (galantamine), Exelon[®] (rivastigmine), Aricept[®] (donepezil), i Cognex[®] (tacrine). Els quatre són tractaments aprovats per símptomes lleus a moderats de la malaltia d'Alzheimer. El 2006, un dels tractaments, Aricept, va ser aprovat per la FDA per al tractament dels símptomes severos d'Alzheimer.

- **Aricept**

Nom genèric: donepezil

Any aprovat per la FDA: 1996

Eficaç per: Etapa primerenca, moderada i severa de la malaltia d'Alzheimer.

Com funciona: Aricept evita la degradació de l'acetilcolina en el cervell.

Els efectes secundaris més comuns: Diarrea, marejos, pèrdua de gana, rampes musculars, nàusees, cansament, dificultat per dormir, vòmits, pèrdua de pes.

Altres: Aricept, també pot tenir un efecte limitat en la desacceleració de la progressió del deteriorament cognitiu lleu (MCI per les seves sigles en anglès) de l'Alzheimer. Els resultats de l'estudi publicat l'abril del 2005 per la revista mèdica New England Journal of Medicine, van indicar que durant el primer any d'una prova de tres anys, les persones amb MCI i tractats amb Aricept tenien un menor risc de progressió de l'Alzheimer en comparació amb els participants que van prendre la vitamina E o un placebo (una píndola inactiva). No obstant això, al final de l'estudi, no hi va haver diferències entre els tres grups a excepció d'aquells amb el gen ApoE4. L'efecte de Aricept va durar de dos a tres anys per a aquests participants.

- **Cognex**

Nom genèric: tacrina

Any aprovat per la FDA: 1993 (Cognex encara està disponible, però ja no és comercialitzat activament pel fabricant, a causa dels greus efectes secundaris.)

Eficaç per: Etapa primerenca i moderada de la malaltia d'Alzheimer.

Com funciona: Cognex evita la degradació de l'acetilcolina en el cervell.

Els efectes secundaris més comuns: Restrenyiment, diarrea, gasos, pèrdua de gana, dolors musculars, nàusea, malestar estomacal, congestió nasal, vòmits, pèrdua de pes, amb possible dany hepàtic.

- **Exelon**

Nom genèric: rivastigmina

Any aprovat per la FDA: 2000

Eficaç per: Etapa primerenca i moderada de la malaltia d'Alzheimer.

Com funciona: Exelon prevé la degradació de l'acetilcolina i butyrylcholine (una substància química similar a l'acetilcolina) en el cervell.

Els efectes secundaris més comuns: nàusees, diarrea, augment de la freqüència de les deposicions, vòmits, debilitat muscular, pèrdua de gana, pèrdua de pes, marejos, somnolència i malestar estomacal.

Altres: El 2007, la FDA va aprovar el Exelon[®] Patch per absorbir aquest medicament a través d'un pegat per a la pell com una opció per a la càpsula oral.

- **Razadyne**

Nom genèric: galantamina

Any aprovat per la FDA: 2001

Eficaç per: Etapa primerenca i moderada de la malaltia d'Alzheimer.

Com funciona: Razadyne evita la descomposició de l'acetilcolina i estimula els receptors nicotínics per alliberar més acetilcolina en el cervell.

Els efectes secundaris més comuns: nàusees, vòmits, diarrea, pèrdua de pes, marejos, mal de cap, cansament.

Altres: Aquest medicament es coneixia anteriorment com Reminyl.

®.Namenda

Namenda[®] (memantina) va ser el primer medicament aprovat per la FDA per al tractament dels símptomes entre les etapes moderada a severa de la malaltia d'Alzheimer. Aquest medicament protegeix les cèl·lules nervioses del cervell de les quantitats excessives de glutamat, un missatger químic alliberat en grans quantitats per les cèl·lules danyades per la malaltia d'Alzheimer (i alguns altres trastorns neurològics). Quan el glutamat s'uneix la superfície receptora cel·lular per mitjà de "punts de connexió", el calci pot fluir lliurement a la cèl·lula, el que pot conduir a la degeneració cel·lular. Namenda pot evitar aquesta seqüència destructiva amb la configuració de l'activitat del glutamat. Durant molts anys, Namenda estava disponible en alguns països europeus per tractar la malaltia d'Alzheimer en la seva etapa moderada a severa i, ha estat disponible als Estats Units des d'octubre de 2003. Namenda és generalment ben tolerada, els efectes secundaris més comuns són el mal d'esquena, restrenyiment, diarrea, marejos, somnolència, mal de cap, dolor i augment de pes.

El juliol de 2010, Namenda XR (una dosi de 28 mil·ligrams, un cop al dia, medicada via alliberament-prolongada) va ser aprovada per la FDA. Els efectes secundaris més comuns de Namenda XR són mals de cap, diarrea, marejos, pressió arterial alta (hipertensió) i, la grip.

Tractament per l'Ansietat, Depressió i Psicosi

Sovint, la malaltia d'Alzheimer avança, les persones experimenten depressió, agitació i símptomes psicòtics (pensaments paranoics, deliris o al·lucinacions). Aquests comportaments poden ser manifestats verbalment (crits, preguntes repetitives, etc.) o físicament (per acaparament, passejant-se lentament, etc.) i, de vegades poden conduir a l'agressió, la hiperactivitat o ser busca-raons. Els símptomes poden tenir un origen mèdic subjacent, com una interacció de medicaments o el dolor físic. Si vostè sospita aquesta conducta, ha de consultar un metge.

L'agitació o la conducta psicòtica també poden ser provocades per alguna cosa que ha canviat en l'entorn de la persona. Sovint, un canvi en la rutina, els cuidadors, o l'entorn físic pot causar por, ansietat o fatiga i portar a l'agitació. L'individu pot ser incapaç de comunicar-se, sentir-se frustrat per les seves limitacions que l'afecten, no entendre el que passa, o simplement oblidar-se de com respondre de manera adequada. En aquests casos, no es recomana la intervenció mèdica per determinar l'origen del problema, modificació de l'entorn i, canvi de comportament. Si les

mesures correctives no-mèdiques, no funcionen o la persona es converteix en un perill per a si mateixa o per altres, un metge ha de ser consultat per avaluar la necessitat de tractaments mèdics per a la depressió, la psicosi o l'ansietat.

4.Darrere de la malaltia

- A Espanya, entre el 38 i el 75 per cent de les demències es corresponen amb la malaltia d'Alzheimer
- Les primeres lesions cerebrals apareixen 15 anys abans que es percebin els primers símptomes clínics
- Encara que el principal factor de risc és l'envelliment, s'ha demostrat que un al·lel del gen de l'apolipoproteïna E juga un paper rellevant en aquest àmbit, fent avançar l'aparició d'aquesta malaltia de 5 a 10 anys a les persones portadores
- Cada malalt implica en la seva cura, en major o menor grau, a quatre membres de la seva família.

Les demències en gent gran constitueixen el tercer problema sanitari més important d'Espanya, per darrere de les malalties cardiovasculars i el càncer. Els progressos mèdics i l'increment de la població longeva impliquen un important augment en les previsions de creixement d'aquest tipus de patologies. Dins d'aquestes, la malaltia d'Alzheimer continua sent la causa més freqüent en tots els grups d'edat. Entre 400.000 i 600.000 persones majors de 65 anys pateixen demència a Espanya. Entre el 38 i el 75 per cent d'aquests casos es corresponen amb la malaltia d'Alzheimer.

En l'àmbit mundial, s'estima que 34 milions de persones patiran aquesta malaltia el 2025, situació que podria originar un desastre ecològic, econòmic i política de proporcions globals.

Les investigacions actuals es centren en la recerca de marcadors diagnòstics capaços de detectar la malaltia en persones asimptomàtiques, ja que les primeres lesions cerebrals apareixen 15 anys abans que es percebin els primers símptomes clínics. Si s'aconseguís retardar cinc anys l'inici de la simptomatologia, quedarien reduïts a la meitat el nombre de malalts, el cost de la malaltia i la càrrega de dependència. La malaltia d'Alzheimer és un dels reptes sanitaris més rellevants del segle XXI i un dels

reptes més importants de la investigació biomèdica. Cada set segons apareix un nou cas al món afectant preferentment a les persones majors de 80 anys.

Una de les conseqüències més negatives d'aquesta malaltia és l'elevat grau de dependència que comporta. Unes de les característiques principals de la malaltia de l'Alzheimer són la seva degeneració i irreversibilitat.

El malalt va perdent facultats, a la vegada que perd per etapes la seva memòria. Comença oblidant-se de fets recents i, de mica en mica aquests períodes de temps és fan més grans fins que arriba un moment que només recorda la seva infantesa i finalment, acaba per oblidar-ho tot.

L'Alzheimer és una malaltia la qual es diagnostica a un sol individu, però afecta a tota una família. Darrere del malalt estan els seus cuidadors que l'acompanyen en el seu dia a dia. Aquests cuidadors, que solen ser membres pròxims de la família, veuen com la seva vida canvia dràsticament i, com no poden fer res més que acceptar-lo i adaptar-se a la condició. Malgrat que arribi un moment en el que no seran reconeguts, els cuidadors acompanyen sempre al malalt i, són el seu suport més gran. Malgrat que l'Alzheimer provoca que es perdi la memòria, l'amor és un a de les últimes coses que s'obliden. Això es deu que l'amor és un sentiment molt primari i, per això, es troba en la part més primària del cervell. És a dir, un malalt l'Alzheimer oblidarà amb qui estava casat, o qui era el seu fill o filla, però no serà fins molt més tard que oblidarà que hi ha algú que l'estima.

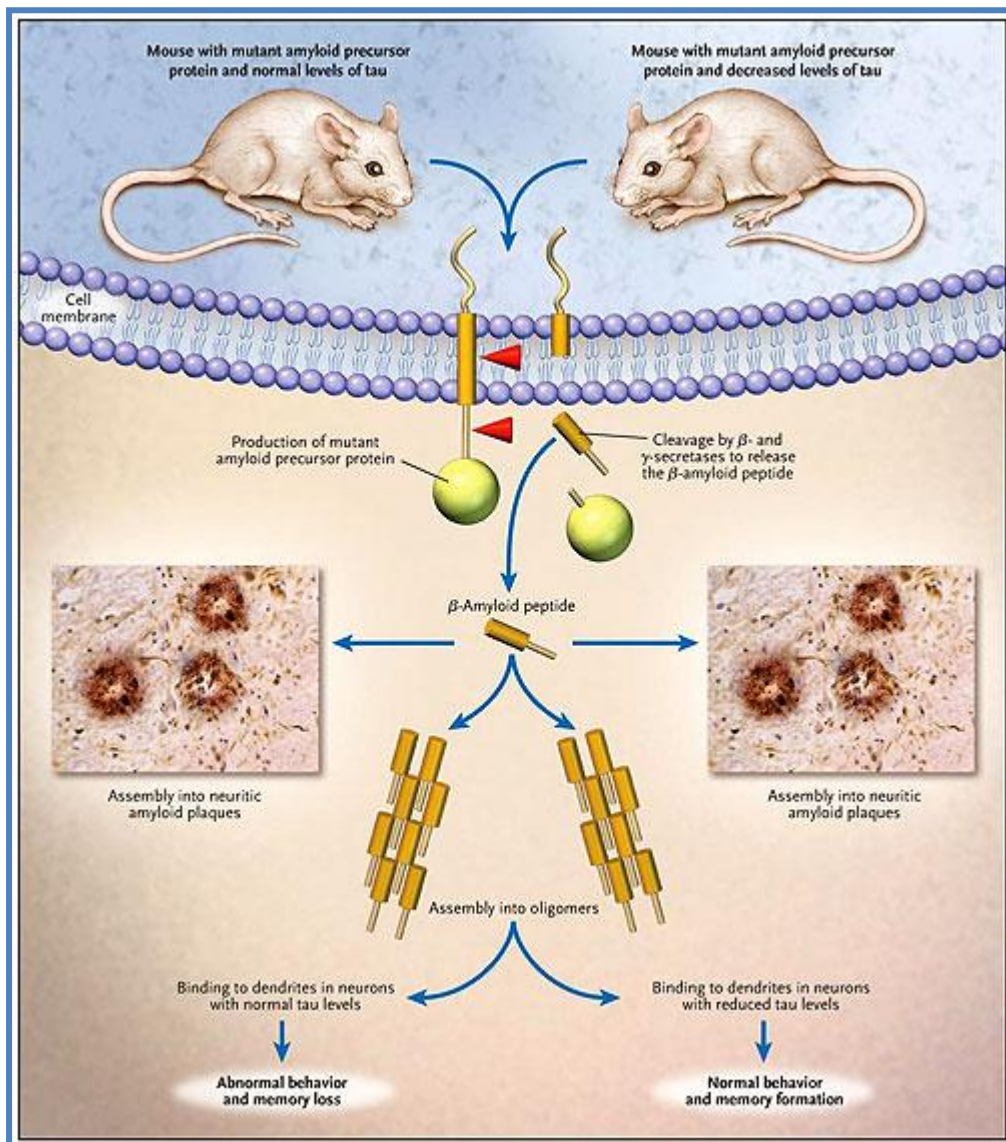


Img 22. Mostra d'afecte a un malalt d'Alzheimer.

(Annex CD)

5. Per on va la recerca?

L'APO-E4, el factor genètic de major risc per l'Alzheimer, condueix a produir amiloide en excés ja abans que els símptomes de la malaltia aflorin. Per tant, es pot dir que els dipòsits de A β precedeixen l'Alzheimer clínic. Evidències més fermes d'aquest fet es troben en el descobriment que els ratolins transgènics que expressen una forma mutant del gen humà APP desenvolupen plaques d'amiloide fibril·lar i una patologia cerebral semblant a la de l'Alzheimer humà amb dèficits d'aprenentatge espacial.



Img.23 Esquema de l'experiment.

Gràcies a aquestes proves, es va trobar una vacuna experimental per netejar les plaques d'amiloide en assajos amb pacients precoços, però no van tenir cap efecte significatiu a l'hora d'evitar la demència. Així, els científics van concloure que potser els A β no formaven plaques, sinó oligòmers, agregats de molts monòmers, com la forma patògena primària dels A β . Aquests oligòmers tòxics, també anomenats ADDLs (Amyloid-Derived Diffusible Ligands), s'adhereixen al receptor de la superfície de les neurones i canvien l'estructura de la sinapsi i irrompen la comunicació neuronal. Un receptor dels oligòmers d'A β podria ser la proteïna PRNP, la mateixa que ha estat relacionada amb la malaltia de les vaques boges i la malaltia de Creutzfeldt-Jakob. Aquesta proteïna permetria relacionar els mecanismes que sostenen els trastorns neurodegeneratius en aquesta malaltia amb els que es troben en cas d'Alzheimer.

•APOE i els seus receptors en el transport de lípids en el cervell

La funció primària de l'APOE en el cervell és el transport de colesterol principalment en astròcits i neurones. El colesterol és un component essencial de les membranes i de la mielina amb el que és crucial per mantenir la integritat sinàptica i la funció neuronal. La síntesi de colesterol en neurones és reduïda el que fa necessari un transport actiu de colesterol per mantenir la funció neuronal.

S'ha proposat que existeix una relació entre la malaltia d'Alzheimer i el metabolisme del colesterol. En humans l'ús d'estatines, que redueixen la síntesi de colesterol, està associat a una menor prevalença d'Alzheimer encara que estudis recents no han confirmat aquesta associació. Ratolins que expressen APOE4 tenen en cervell nivells de colesterol per sota del normal, tot i que les seves xifres de colesterol a nivell perifèric siguin elevades. Sembla que APOE4 és menys eficient com transportador de colesterol en cervell que la resta d'isoformes.

Malaltia d'Alzheimer i altres demències degeneratives

La malaltia d'Alzheimer és la causa més freqüent de demència en l'edat avançada. En el moment actual no existeix cap tractament eficaç enfront de la mateixa. Al nostre país es calcula que unes 500.000 persones pateixen aquesta malaltia i, a causa del progressiu envelliment de la nostra societat, s'anticipa que aquesta xifra podria quadruplicar-se en els pròxims 50 anys amb conseqüències devastadores no

només per als individus afectes i les seves famílies, sinó també per la pròpia estabilitat del nostre sistema sanitari.

L'Alzheimer es caracteritza per la presència en els cervells dels pacients de dues estructures aberrants, les plaques senils i els cabdells neurofibril·lars, per la pèrdua de sinapsis (es considera una sinaptopatía), fonamentalment entre neurones hipocampals i corticals i, per una considerable neurodegeneració. Alguns aspectes d'aquestes patologies poden reproduir-se en models animals o cel·lulars.

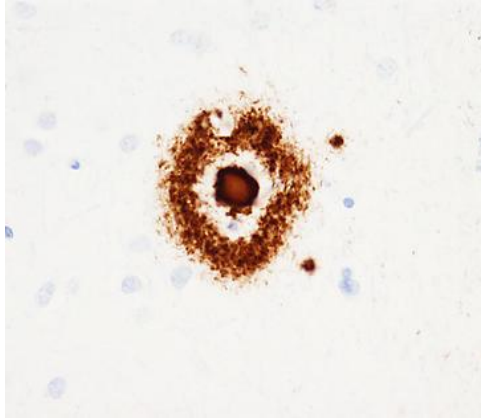
En el moment actual desenes de laboratoris arreu del món treballen activament en la identificació de nous gens causals i de risc implicats en aquesta patologia que podrien contribuir a aclarir les bases fisiopatològiques d'aquesta i la identificació de noves dianes terapèutiques. Un dels principals problemes actuals en l'EA és que quan es diagnostica el cervell ha patit un dany massa extens i irreparable pel que hi ha la necessitat urgent de trobar biomarcadors que permetin detectar la malaltia en fases molt més primerenques, fins i tot asimptomàtiques, quan qualsevol estratègia terapèutica tindria més possibilitats d'èxit.

Les principals línies de recerca són: Epidemiologia genètica, investigació sobre biomarcadors de malaltia, models cel·lulars i animals de malaltia d'Alzheimer i altres demències degeneratives, patologia molecular en la malaltia d'Alzheimer, mecanismes de neurodegeneració, neuroprotecció i disseny de noves teràpies.

Es confirma la relació entre una proteïna piroinflamatòria i l'Alzheimer

Un equip internacional d'investigadors ha publicat recentment els resultats d'un estudi que demostra que un procés inflamatori i immune, molt estudiat en la malaltia d'Alzheimer, té un paper clau en el seu desenvolupament.

L'estudi confirma la hipòtesi que relaciona el complex proteic NLRP3 amb la malaltia d'Alzheimer. En concret, els científics s'han centrat en el procés que condueix a la producció madura de la citocina proinflamatòria interleucina 1 beta (IL-1B) i la seva implicació en la defensa de l'organisme enfront de les infeccions. Els resultats indiquen que NLRP3 té una funció fonamental en mecanismes inflamatoris del sistema nerviós central implicats en la disfunció conductual i cognitiva en la malaltia d'Alzheimer, així com un paper important en l'eliminació de les plaques d'amiloide.



Img 24. Proteïna piroinflamatòria.

En ratolins modificats genèticament han pogut comprovar que l'absència de NLRP3 o de la caspasa⁴⁴ 1 protegia enfront dels símptomes equiparables als de l'Alzheimer. Una observació més precisa determinar que l'absència tant del receptor del complex de proteïnes NLRP3 com de la caspasa 1 reduïa les plaques de beta-amiloide.

L'acció sobre IL-1B, NLRP3 i la caspasa 1 constitueix una possible via terapèutica que caldria estudiar en la malaltia neurodegenerativa.

44. Grup de proteïnes pertanyent al de les cisteïn-proteases, caracteritzades per presentar un residu de cisteïna que intervé en la ruptura d'altres proteïnes. Les caspases són mediadores essencials dels processos d'apoptosi. Algunes caspases també estan implicades en processos de maduració proteica com en el cas de mediadors del sistema immune. Per aquests motius, errors en els processos intervinguts per caspases són alguns dels principals responsables del desenvolupament de tumors i malalties autoimmunes, així com una excessiva activació es creu vinculada amb malalties com l'Alzheimer.

6. Què faria jo?

L'Alzheimer és una malaltia que encara requereix investigació per trobar la cura. Per aquest motiu l'efectivitat de les teràpies és molt important ja que aquestes són de vital importància per a poder mantenir l'estimulació cerebral del malalt.

L'aplicació de teràpies toves⁴⁵ en el tractament dels trastorns cognitius i de la conducta, en general i, en particular en la malaltia d'Alzheimer, ha de suposar un valor afegit al tractament farmacològic. És a dir, la millora clínica que aporten els nous fàrmacs s'ha de veure incrementada quan el malalt es troba en un medi protèsic⁴⁶.

Per aquesta raó es va dissenyar un programa que inclogués diferents estratègies terapèutiques no farmacològiques amb focalitzacions específiques i que puguin ser aplicades amb continuïtat: el Programa de Psicoestimulació integral (PPI).

El Programa de Psicoestimulació Integral es defineix com una estratègia terapèutica, fonamentada en la presència de la neuroplasticitat cerebral i basada en la neuropsicologia cognitiva i en les teràpies de modificació de conducta.

El terme "Psicoestimulació" es deu a les intervencions terapèutiques que persegueix la neuropsicologia mitjançant l'estimulació i rehabilitació de determinades funcions cognitives.

El protocol d'aplicació terapèutica del PPI s'elabora sobre les dades biogràfiques recollits de l'entrevista familiar i, el diagnòstic neurològic, neuropsicològic i social.

45. S'agrupen sota aquesta denominació el conjunt d'estratègies terapèutiques no farmacològiques amb fins rehabilitadors de les capacitats cognitives i modificadores de la conducta, dirigides als aspectes biopsicosocials de la persona amb malaltia d'Alzheimer o una altra demència afí.

46. Entorn especialment dissenyat per pal·liar els dèficits d'un subjecte.

L'exploració neuropsicològica permet dissenyar el programa específic individualitzat de psicoestimulació d'aquelles funcions cognitives que presenten algun dèficit.

Els tallers d'estimulació cognitiva, el de cinesiteràpia, l'ocupacional i les tècniques de manteniment de les AVD, constitueixen el conjunt de tallers que completen el PPI.

S'ofereixen 3 nivells diferents de dificultat, relacionats amb el grau de deteriorament, el tipus de resposta i acceptació del pacient i, especialment, la conservació del llenguatge. Els pacients amb demència més avançada s'agrupen segons la tipologia del pacient en passius i hiperkinètics. Els malalts amb hiperkinèsia acostumen a presentar més alteracions de conducta, escassa motivació i dificultat per mantenir una atenció sostinguda.

S'afavoreixen les relacions intergrupals per facilitar la cohesió del grup i la preocupació per l'altre, així mateix també sorgeixen reaccions d'exclusió i rebuig, com passa a la societat.

Manifestacions clíniques de la malaltia d'Alzheimer

Una de les escales clinicoevolutives més utilitzades és la Global Deterioration Scale(GDS).

Els exercicis que el PPI proposa s'agrupen en relació amb el grau de deteriorament. Com passa sovint, els criteris i el significat de demència lleu o moderada, per exemple, no són els mateixos per a diferents professionals,per això es necessari seguir un criteri establert.

(Taula I-Annex)

Abans de plantejar qualsevol tasca d'estimulació cognitiva cal conèixer amb la màxima precisió possible quines són les funcions cognitives que es mantenen i el grau de conservació. Per això, és imprescindible una correcta avaluació neuropsicològica.

ESTIMULACIÓ COGNITIVA

No tots els malalts d'Alzheimer es troben en el mateix estadi de la malaltia. La valoració neuropsicològica orientada a una intervenció terapèutica, tenint en compte les característiques prèvies de la persona, com el nivell educatiu i intel·lectual, permet conèixer, a més de quins són els dèficits i el deteriorament del malalt, quin és el seu grau d'afectació i per tant l'estadi de la malaltia.

Avaluació periòdica dels resultats

Les tasques es modificaran per adequar-les a la realització dels malalts i a la velocitat de progrés de la malaltia. S'utilitzaran tècniques com les de validació per facilitar la comunicació, reforçar l'autoestima i motivar la participació.

Malalts amb deteriorament cognitiu moderat o demència lleu: GDS 4

L'estimulació cognitiva es dirigeix específicament a aquest nivell de deteriorament cap a les capacitats mentals més elaborades i complexes, com la lectura i l'escriptura, el càlcul i el raonament abstracte. En aquest estadi normalment es preserven la mecànica de l'escriptura i la lectura.

En aquesta fase de deteriorament, així com a la resta de fases de la malaltia, s'han d'estimular també les capacitats més bàsiques, com la atenció, l'orientació i la memòria. Les capacitats preservades dels subjectes que s'utilitzaran com a base i per facilitar els exercicis seran les capacitats de lectura i escriptura.

- **L'atenció:** tasques simples que ajudin a reforçar l'activació mental: sèries numèriques concretes, noms dels mesos de l'any en sentit directe i invers.

- **L'orientació temporal, espacial i de la persona:** tasques bàsiques de situació a el moment temporal i espacial, biografia personal i del seu entorn més immediat per mantenir el malalt en contacte amb la realitat que li envolta.

- **La memòria:** potenciar la memòria immediata amb exercicis de repetició de sèries, reforçar la memòria recent amb exercicis curts que facilitin la fixació i el record i mantenint el major temps possible la memòria remota mitjançant la repetició continuada dels exercicis.

- **El concepte numèric i el càlcul:** tasques de càlcul mental, resolució de problemes aritmètics, operacions aritmètiques i jocs numèrics.

- **El raonament:** exercicis que treballen la capacitat de classificar característiques dels objectes.

- **El llenguatge escrit:** tasques de redacció d'un text, escriptura d'una frase o paraules, al dictat i / o còpia.

-**El dibuix lliure o guiat** : optimitzant les pràctiques constructives.

Malalts amb deteriorament moderadament greu o demència moderada: GDS 5

L'estimulació cognitiva persegueix els aspectes bàsics de la cognició: l'atenció, l'orientació temporal i espacial i en la persona, la memòria, sobretot la memòria remota. Tot això sense abandonar els aspectes cognitius més instrumentals com el llenguatge, la percepció visual i les capacitats pràxiques.

En aquesta fase s'utilitzen estímuls més simples que en la fase precedent. La lectura continua sent una de les capacitats residuals del malalt en les quals es dóna suport a la psicoestimulació per facilitar les tasques. Així mateix, la realització d'exercicis cada dia, d'una manera repetitiva i rutinària, constitueixen una ajuda a la permanència d'una memòria recent molt reduïda.

- **Orientació temporal, espacial i de la persona**: realitzada diàriament ajudarà el malalt a mantenir una orientació continuada, mitjançant la Teràpia d'Orientació a la Realitat (TOR).

-**Memòria remota**: mitjançant tasques d'evocació, utilitzant ajudes de clau semàntica o fonètica.

- **Esriptura**: utilitzant les capacitats residuals preservades del pacient. L'inici de la desestructuració de l'escriptura en aquest estadi fa necessari un plantejament d'exercicis simples i fàcils, dictat o còpia de frases, paraules o lletres i, la seva repetició diària.

- **El reconeixement numèric i el càlcul**: mitjançant tasques més senzilles, de càlcul i de reconeixement de nombres.

- **La percepció visual i el reconeixement d'objectes quotidians**: manteniment d'un nivell de connexió amb allò que l'envolta.

- **Raonament**: a partir d'exercicis de classificació de paraules utilitzant diferents camps semàntics (instruments, estris de cuina, mobles).

Malalts amb deteriorament greu o demència moderadament greu: GDS 6

L'estimulació cognitiva en aquest estadi es troba molt més limitada i s'ha d'adaptar al model involutiu corresponent a la pèrdua de les operacions concretes, utilitzant exercicis de simulació amb objectes reals i bàsics de la vida diària.

- **La pre-escriptura:** en aquesta etapa, l'escriptura no és possible, recorrent a la majoria dels casos a tasques de pre-escriptura i coordinació visual-motora.
- **El reconeixement visual:** mitjançant exercicis en els quals els objectes són reals, o són fotografies amb un contingut emocional elevat per al malalt per pertànyer a la seva pròpia biografia.
- **El reconeixement de les característiques físiques dels objectes:** Ex: el color mitjançant tasques de pintat de figures geomètriques senzilles (cercle, quadrat, triangle ...) o objectes molt simples (per exemple., un arbre, una casa, un got), també es realitzarà l'estimulació sobre les formes simples dels objectes.
- **El reconeixement espacial bàsic:** mitjançant tasques de dins, fora.
- **La manipulació dels objectes reals d'ús habitual:** essencial per mantenir el major temps possible una mínima independència en tasques quotidianes (fer servir la forquilla o cullera, ús de la pinta ...). En aquest tipus de tasques la imitació és una primera fase de facilitació.

ORIENTACIÓ

La teràpia d'orientació a la realitat és un conjunt de tècniques mitjançant les quals una persona pren consciència de la seva situació en el temps (orientació temporal) i en l'espai (orientació espacial), és una teràpia imprescindible en un programa terapèutic de demències.

Té com a objectius:

- Afavorir i activar l'orientació espacial i temporal per mantenir el major temps possible.
- Mantenir l'orientació de la persona.
- Activar la memòria personal o autobiogràfica.

- Exercitar el llenguatge automàtic.
- Optimitzar els nivells d'atenció.
- Afavorir la incitació a parlar i la fluïdesa verbal.

(Taula 2-Annex)

LLENGUATJE

En el llenguatge escrit, inicialment s'observa una pèrdua de les regles ortogràfiques en l'escriptura al dictat, substitucions i omissions. Posteriorment es perden les formes escrites i, finalment, , es produeix una pèrdua grafomotora, una agrafia severa amb impossibilitat per copiar paraules.

La lectura presenta el mateix patró de desestructuració.

Aquesta teràpia té com a objectius:

- Maximitzar les capacitats lingüístiques preservades.
- Exercitar el llenguatge automàtic.
- Optimitzar l'expressió verbal.
- Mantenir i estimular la comprensió verbal.
- Potenciar la capacitat de repetició.
- Afavorir la incitació i la fluïdesa verbal.
- Exercitar la mecànica de la lecto-escriptura.

(Taula 3-Annex)

PRAXIES

Entre l'execució de moviments i el comportament se situen les pràxies, en relació amb els gestos i la construcció. Les pràxies es defineixen a partir de les apràxies.

Apràxia: síndrome adquirit que es manifesta en l'alteració del control voluntari de els moviments intencionals . Tipus:

-Apràxia ideomotora :Incapacitat d'executar el gest simple ni a l'ordre ni en imitació (adéu, salutació militar, imitar que agafa una mosca, imitar la utilització d'un raspall de dents, etc.).

-Apràxia ideatòria: Incapacitat de les seqüències gestuals (treu bé la llumí de la caixa però la vol encendre pel costat incorrecte) i / o en la utilització real dels objectes.

-Apràxia constructiva: Dificultat en la reproducció d'un model-dibuix de dues i tres dimensions, dificultat en la construcció de trencaclosques o modelar objectes amb fang.

-Apràxia del vestit: Incapacitat per vestir-se, dificultat per disposar les peces respecte a les parts del cos corresponents, o col·locació per atzar en un lloc inadequat.

Aquesta teràpia té com a objectius:

- Optimitzar la motricitat fina com a requisit previ per a la motricitat amb intencionalitat.

-Afavorir la producció d'actes motors voluntaris.

- Mantenir la mecànica de l'escriptura com a exercici de les pràxies gràfiques.

- Afavorir les habilitats visuo-constructives.

(Taula 4- Annex)

GNOSIES

Les agnòsies es defineixen com les alteracions en el reconeixement del món que ens envolta, ja sigui per l'entrada visual, auditiva, tàctil, olfactiva i alteracions del reconeixement en l'esquema corporal, sense que s'alterin els aspectes elementals de la visió, de l'audició, tacte, olfacte i gust.

Aquesta teràpia té com objectius:

- Optimitzar els nivells d'atenció sobre el material visual, auditiu i corporal.
- Exercitar la percepció mitjançant estímuls visuals i auditius.
- Afavorir l'accés al sistema lèxic i semàntic.
- Treballar el reconeixement dels sons.
- Maximitzar les capacitats lingüístiques.

(Taula 5- Annex)

MEMÒRIA

“La memòria és el sistema cognitiu humà no unitari que ens permet aprendre, guardar i recuperar episodis, esdeveniments, fets i habilitats personals i sobre el món. No hi ha una memòria sinó diverses memòries.”

Tulving, 1983

-**Memòria immediata:** es refereix al record d'informacions que acabem de percebre.

Té una capacitat limitada al voltant de 7 ± 2 elements i una durada temporal igualment limitada.

-**Memòria recent:** memòria del present que ens permet retenir informació nova constituint records.

- **Memòria remota:** memòria resultat de totes les nostres experiències, el seu contingut és variat:

- Memòria episòdica: memòria biogràfica personal.

- Memòria semàntica: coneixements, esdeveniments adquirits, culturals, històrics, lingüístics.

- Memòria de les habilitats sensoriomotrius. Per exemple, conduir un cotxe.

Aquesta teràpia té coma objectius:

-Exercitar la memòria immediata, mitjançant la presentació d'estímuls visuals i auditius.

- Optimitzar la memòria recent, mitjançant la presentació d'estímuls verbals i visuals.

- Oferir elements emotius que afavoreixin la permanència dels records llunyans.

-Potenciar l'orientació de la persona.

(Taula 6-Annex)

CÀLCUL

L'habilitat per manipular nombres en una operació aritmètica implica diversos processos:

1. El coneixement bàsic de les taules numèriques (coneixement automatitzat en els subjectes escolaritzats).

2. La comprensió dels conceptes de les operacions aritmètiques (sumes, restes, multiplicacions) i dels símbols utilitzats per les operacions (+,!, ×).

3. La seqüència i el procediment necessari per realitzar els càlculs .Les habilitats numèriques són considerades com una de les habilitats instrumentals més importants en les societats de consum (comprar, vendre, utilització dels diners).

Aquesta teràpia té com a objectius:

- Preservar el reconeixement numèric.
- Activar i promoure la lectura de xifres i nombres.
- Reforçar el concepte numèric i les operacions numèriques.
- Afavorir la discriminació de quantitats.
- Optimitzar la discriminació dels nombres.
- Afavorir els nivells d'atenció sobre material no verbal.

(Taula 7- Annex)

6.1.Anàlisi de les teràpies

Les teràpies que s'utilitzen avui dia per alentir la patologia estan molt ben estructurades i compten amb diferents variants del mateix exercici per a diferents etapes de la demència.

A diferència del que jo sospitava, no hi ha una teràpia que es pugui considerar més efectiva que l'altre ja que les teràpies han estat dissenyades per tractar una patologia alhora. Amb aquest sistema es pot donar una teràpia focalitzada a funcions cognitives concretes i, d'aquesta manera poder treballar diferents àmbits en més profunditat i minuciositat.

Malgrat això, degut que el canvi i el trencament de la rutina afavoreixen a l'enriquiment de les connexions sinàptiques, seria convenient realitzar més teràpies que involucressin més competències cognitives alhora, per així poder donar una estimulació més intensa i general.

A banda de fer un anàlisi de les teràpies que s'utilitzen avui dia, jo també faria un estudi a nivell proteic en pacients amb FAD. L'Alzheimer d'aparició primerenca, té una patologia molt simular a l'AD, però amb la diferència que sembla presentar un quadre de factor hereditari a més que també es manifesta molt més precoçment.

Per poder dur a terme aquesta investigació seria important comptar amb la col·laboració d'altres laboratoris per així poder contrastar resultats i establir hipòtesi.

Clarament la demència de l'Alzheimer es veu afavorida a causa d'aglomeracions anormals de proteïnes en el cervell, entre les neurones i dins d'elles. Malgrat això, encara no es té del tot clar què és el que provoca que de cop i volta es comencin a produir aquestes aglomeracions.

Tenint en compte aquesta activitat proteica anormal, he pensat que una bona manera de fer un estudi sobre aquest factor, seria fer un seguiment de pacients amb FAD.

És evident que hi ha un punt crític en el que les proteïnes pateixen un canvi estructural que les provoca partir-se i aglomerar-se d'una manera estranya.

Si es pogués fer un estudi amb pacients de FAD, es podrien descartar altres factor (malgrat que no al 100%) i centrar-nos en el genoma del pacient, en les seves mutacions en els al·lels relacionats amb la demència, com per exemple els APOE i, el paper que hi juguen els introns.

També seria interessant provar estratègies combinades que incloguin modulació de les rutes en què estan involucrades tant Abeta com APOE semblen molt prometedores per aconseguir un tractament efectiu de l'Alzheimer.

APOE4 és un fort factor de risc per l'Alzheimer de tipus LOAD. Múltiples vies poden explicar la implicació de APOE4 en la patogènia de l'Alzheimer: producció de Abeta, aclariment de Abeta, formació de fibril·les i "tangles", homeòstasi del colesterol, reparació i plasticitat sinàptica i toxicitat neuronal. S'ha augmentat el coneixement sobre la funció diferencial de les diferents isoformes de APOE gràcies als nous models en ratolins transgènics que expressen isoformes humanes de APOE. La relació existent entre les diferents isoformes i el conjunt de receptors de APOE necessita un estudi més profund.

Atès que l'Alzheimer més freqüent és el de tipus LOAD i donada la seva forta associació al genotip APOE4, desenvolupar teràpies basades en APOE sembla la via més encertada.

De manera que:

·Es possible que la causa del comportament anormal i sobtat de les proteïnes Tau i Abeta tingui relació amb l'activació d'un intrò desconegut?

·Es possible que degut a aquest intrò les proteïnes P-53 i P-63 deixin de fer la seva funció correctament i que per aquest motiu es passi per alt la mutació ?

Per poder dur a terme aquesta hipotètica investigació he dissenyat un projecte il·lustrat amb la meua estada en la Universitat Autònoma de Barcelona durant el Programa Argó.

ESQUEMA GENERAL PER L'OBTENCIÓ DE PROTEÏNES RECOMBINANTS

1) Reacció en cadena de la polimerasa:

L'objectiu serà ampliar la seqüència d'ADN de les proteïnes GFP i P-63 que volem obtenir.

2) Electroforesi: L'objectiu serà separar mitjançant un corrent elèctric la seqüència d'ADN que codifiquen les proteïnes.

3) Cultiu bacterià: L'objectiu serà obtenir colònies d'E. coli. Dins dels plasmidis d'aquests bacteris serà on introduïrem les seqüències d'ADN que codifiquen la GFP i la P-63.

4) Neteja i digestió: L'objectiu serà separar l'ADN del gel de l'electroforesi i obtenir els plasmidis. Posteriorment tallarem de forma que encaixin vector i insert.

5) Transformació: L'objectiu serà obtenir bacteris E. coli aptes. Mitjançant kits podrem foradar les parets dels bacteris per que posteriorment els vectors puguin entrar dins del bacteri.

6) Sembra: L'objectiu serà obtenir un cultiu agar-agar amb bacteris E. Coli aptes.

7) Inducció: L'objectiu serà donar una senyal al cultiu per que els bacteris comencin a sintetitzar les proteïnes.

8) Electroforesi de proteïnes: Finalment, realitzarem una electroforesi de proteïnes per determinar que tot ha sortit bé.

L'objectiu general del projecte serà determinar si hi ha introns relacionats amb la proteïna P-63 i que a més provoquin l'aglomeració de proteïnes tau i Abeta en el cervell.

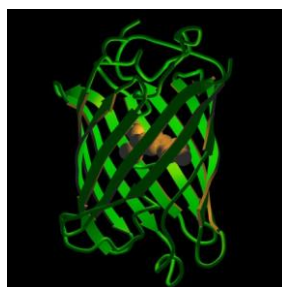
Utilitzarem la tècnica PCR per poder amplificar l' ADN que codifica la proteïna GFP i la p-63. Prepararem un cultius bacterians en medi LB d' E.coli i, un cop amplificada les seqüències d'ADN, farem una electroforesi d'ADN per poder fer una primera selecció de quines són les seqüències que veritablement codifiquen la nostres proteïnes (pes en parells de bases).

GFP: La proteïna verda fluorescent es troba en la medusa *Aequorea victoria*. Aquesta proteïna té la propietat de emetre llum verda quan es troba en un medi hidrofòbic. Aquest és el motiu per el qual dóna tant de joc en la ciència moderna, ja que sense les onze subunitats de la proteïna, aquesta no forma el cilindre que permet que l'hèlix alfa que es troba al centre sigui fluorescent.

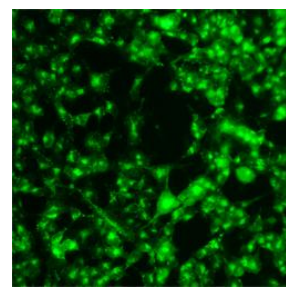
Amb aquesta proteïna es pot dur a terme una verificació del procés i a més realitzar un seguiment en els ratolins transgènics.



Ima 25.Aequorea.



Img 26.Estructura tridimensional de la proteïna GFP.



Img 27.GFP utilitzada en l'estudi de neurones.

Preparació dels cultius bacterians E.coli

AQUEST PROCÉS S'HA DE DUR A TERME DINS DE LA CAPMANA JA QUE SINÒ CORREM EL PERILL QUE LA MOSTRA ES CONTAMINI.

•Objectiu:

Aconseguir cultius LB d' E.coli dels quals podrem extreure els plasmidis posteriorment.

•Procediment:

-Aproximadament uns 10 minuts abans de començar a treballar en la campana és convenient encendre el flux i els raigs UVA de la campana per poder treballar en un ambient estèril.

-Al començar apagar els UVA.

-Agafar 10ml de LB amb la pipeta i els posar-los dins d'un falcó.

-Afegir 10 µl d'ampicil·lina.

-Agafar E.coli conservats a -80°C i introduir-los amb la punta de la micropipeta dins del falcó.

-Introduir el falcó dins de l'agitador.



Campana



Falcons amb el cultiu bacterià dins de l'agitador

·Material:

-Medi LB

-Ampicil·lina

-Bacteris E.coli

-Pipeta

-Micropipeta (20)

-Puntes grogues estèrils

-Falcó

-Agitador



PCR: (Amplificació)

Conceptes:

·DNA polimerasa:

Enzim encarregat de fer còpies d' ADN. Agafa una de les cadenes com a motllo i afegeix els nucleòtids complementaris.

Per que aquest enzim comenci a posar els nucleòtids complementaris necessita un oligo ja que l'ADN polimerasa no pot fer-ho des de zero.

·Oligo:

Aquests si que poden començar de zero, de manera que els oligo comencen i després continuen les DNA polimerasa. Els oligo són molt específics, això vol dir que només comencen a codificar quan reconeixen una seqüència determinada. Això permet que no s'acobli a qualsevol lloc de la cadena.

FASES DE LA PCR:

-Hot Start:

Dins del termociclador durant 1 min a 95°C.

Amb això aconseguim que els ponts d'hidrogen encarregats de mantenir unides les dos cadenes d'ADN es trenquin. Un cop tenim les cadenes obertes, l'oligo i l'ADN polimerasa podran dur a terme la seva funció.

-Tª d'hibridació: 1min a 60°C

Serveix per que l'oligo s'enganxi a la cadena.

-Fase d'elongació:

L'ADN polimerasa comença a fer la còpia.

Això es repeteix durat 25 cicles.

Hi ha un quart pas que dura uns 10 min a 60°C aproximadament. Serveix per que la polimerasa pugui acabar de fer la còpia.

MATERIAL FONAMENTAL PER FER UNA PCR:

-Oligo: sense l'oligo l'ADN polimerasa no pot començar a fer la còpia.

-Mg 2+: actua com a cofactor de l'ADN polimerasa.

-Nucleòtids: són els monòmers que formen l'ADN, les peces que l'ADN polimerasa necessita per poder dur a terme la còpia.

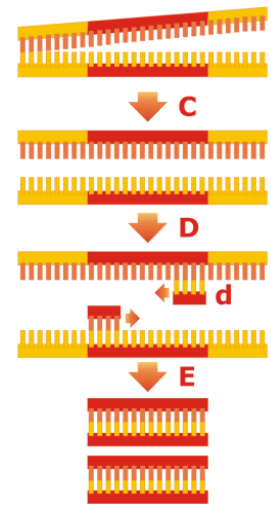
-Polimerasa (motllo): és la cadena d'ADN amb la qual l'ADN polimerasa podrà establir un model per poder fer la cadena complementària.

•Material:

- termocilcador
- 5µl n-oligo
- 5µl c-oligo
- 2µl DNA polimerasa
- 1µl Nucleòtids
- 3µl DNA motllo
- 5µl Tampó+ Mg
- 30µl H2O



Termociclador



Esquema sobre la PCR

Electroforesi

•Objectiu:

Separar la seqüència d'ADN que codifica la GFP de la resta.

•Procediment:

PREPARACIÓ DEL GEL D'AGAROSA

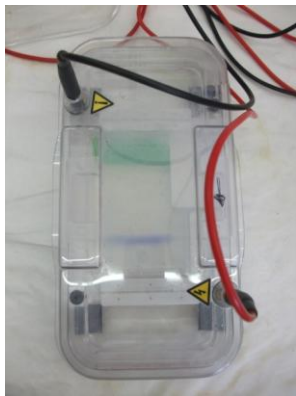
- Posar dins d'un erlenmeyer 0.5 g d'Agarosa 1% +50ml de tampó -conté sals que serveixen per fer la malla-.
- S'escalfa la mostra fins que bull.
- S'afegeix 5 ml Syber Safe ja que tenyeix l'ADN i el permet veure'l per fluorescència.
- S'aboca la solució.
- S'introdueix la pinta i deixem reposar uns 15 min.

- S'introdueix dins dels pouets fets per la pinta el marcador (100p.b) i en la resta el producte de la nostra PCR. Al finalitzar l'electroforesi visualitzem el gel en el transil·luminador.

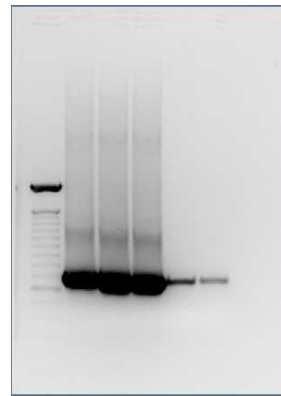
-Finalment, s'identifica la banda de proteïna correcta i es retalla per poder procedir a la neteja del gel.

-Es congela la banda per evitar que es faci malbé per al dia següent.

·Resultats:



Visió final de l'electroforesi



Resultat visualitzat amb l'ajut del transil·luminador (entre 700-800 p.b)

Neteja i Digestió

·Objectiu:

Separar l'ADN del gel i obtenir els plasmidis de l'interior dels bacteris E.coli. Un cop obtinguts, tallar-los de manera que encaixin l'un amb l'altra i sigui sintetitzable la GFP.

•Procediment:

NETEJA DE L'ADN(PCR)

- Agafar l'ADN congelat (-20°C) dins del gel d'agrosa de l'electroforesi.
- Amb l'escalfador específic per a eppendorfs, escalfar la mostra per passar-la a líquida.
- Seguint el protocol del kit, separar l'ADN del gel.
- Afegir els enzims de restricció Eco i NCO.
(conservats a -20°C).



Jo, seguint el procediment per la separació de l'ADN del gel.

OBTENCIÓ DELS PLASMIDIS

- Els plasmidis estan dins del E.coli.
- Seguir el KIT específic per aquesta tasca i extreure el plasmidi.
- Afegim els mateixos enzims de restricció.
- Finalment, posar els dos productes dins d'eppendorfs separats i escalfem durant 6h a 65°C.



Jo, seguint el procediment per a l'obtenció dels plasmidis.

*És molt important que els enzims de restricció siguin els mateixos, ja que són determinants per que el vector i l' insert puguin encaixar.

KITS

Quick Reference Protocol Card

illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit

28-9034-70 (100 purifications)


28-9034-71 (250 purifications)

B. Protocol for purification of DNA from TAE and TBE agarose gels

- Check appropriate volume of ethanol added to Wash buffer type 1


✦ Add ⌚ Spin ⌚ Incubate

1. Sample capture

- Weigh a DNase-free 1.5 ml microcentrifuge tube
- Excise band of interest and place in microcentrifuge tube
- Weigh microcentrifuge tube plus agarose gel band
- Calculate weight of agarose gel slice
- ✦  10 µl Capture buffer type 3 for each 10 mg agarose gel slice
- Mix by inversion
- ⌚ 60°C until agarose is completely dissolved
- Check color of Capture buffer type 3-sample mix is yellow or pale orange




2. Sample binding

- ✦  600 µl Capture buffer type 3-sample mix to assembled GFX MicroSpin™ column and Collection tube
- ⌚ 60 s room temperature
- ⌚ 30 s 16 000 × g. Discard flow through
- Place GFX MicroSpin column inside the same Collection tube
- Repeat Sample Binding step until all sample is loaded





3. Wash & dry

- ✦  500 µl Wash buffer type 1
- ⌚ 30 s 16 000 × g
- Discard Collection tube. Transfer GFX MicroSpin column to a clean 1.5ml DNase-free microcentrifuge tube.



4. Elution

- ✦  OR  10-50 µl Elution buffer type 4 OR type 6
- ⌚ 60 s room temperature
- ⌚ 60 s 16 000 × g
- Retain flow through
- Store purified sample DNA at -20°C



Experienced User Protocol

All spins at $\geq 12,000 \times g$, except as noted.

1 Harvest & lyse bacteria

- Pellet cells from 1–5 ml overnight culture 1 minute (1 ml from TB or 2xYT; 1–5 ml from LB medium). Discard supernatant.
- Resuspend cells in 200 μ l Resuspension Solution. Pipette up and down or vortex.
- Add 200 μ l of Lysis Solution. Invert gently to mix. Do not vortex. Allow to clear for ≤ 5 minutes
- * Prior to first time use, be sure to add the RNase A to the Resuspension Solution.

2 Prepare cleared lysate

- Add 350 μ l of Neutralization Solution (S3). Invert 4–6 times to mix.
- Pellet debris 10 minutes at max speed.

3 Prepare binding column

- Add 500 μ l Column Preparation Solution to binding column in a collection tube.
- Spin at $\geq 12,000 \times g$, 1 minute. Discard flow-through.

4 Bind plasmid DNA to column

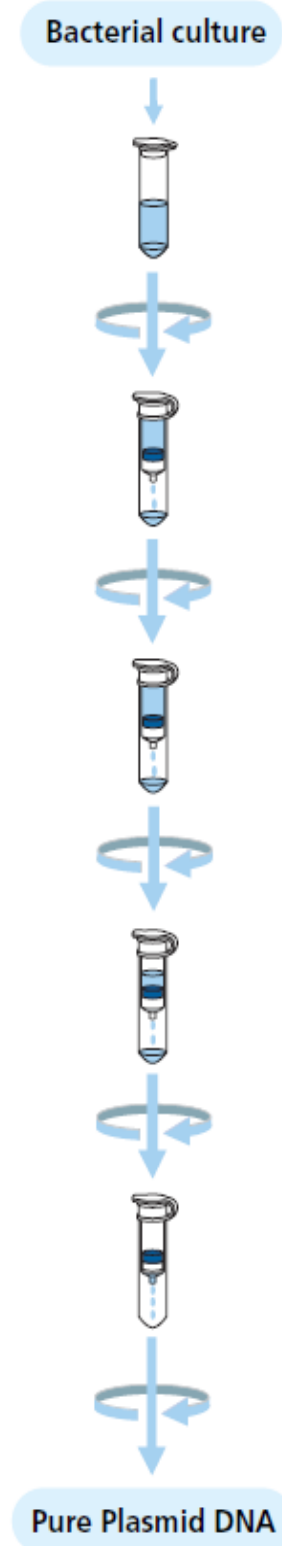
- Transfer cleared lysate into binding column.
- Spin 30", 1 minute. Discard flow-through.

5 Wash to remove contaminants

- Optional (*EndA*⁺ strains only): Add 500 μ l Optional Wash Solution to column. Spin 30", 1 minute. Discard flow-through.
- Add 750 μ l Wash Solution to column. Spin 30", 1 minute. Discard flow-through.
- Spin 1 minute to dry column.
- * Prior to first time use, be sure to add ethanol to the concentrated Wash Solution.

6 Elute purified plasmid DNA

- Transfer column to new collection tube.
- Add 100 μ l Elution Solution. Spin 1 minute.
- * If a more concentrated plasmid DNA prep is required, reduce the elution volume to a minimum of 50 μ l.



•Material:

- Gel amb l'ADN producte de la PCR (-20°C)
- Cèl·lules E.coli (LB)
- KITS de neteja del DNA (PCR) i del plasmidi (són dos kits diferents).
- Centrifugadora.
- Enzims de restricció.
- Escalfador d'ependorfs.



Material

Lligació, Transformació i Sembrada

LLIGACIÓ

•Objectiu:

Lligar insert i vector de manera que quedi un únic cercle d'ADN.

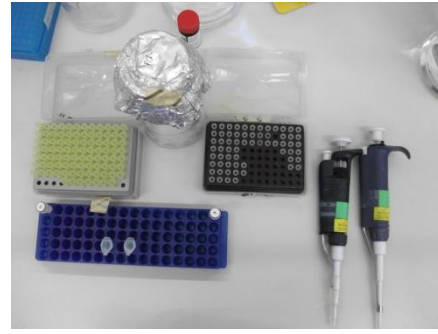
•Procediment i Material:

- 10µl DNA (incert)
- Vector: 3µl
- Lligasa: 2µl
- Tampó (inclou ATP): 15µl
- Micropipetes 10 i 20

} Posar tot això dins d'un eppendorf estèril i ho deixar-ho a temperatura ambient durant 1h30min.



Jo preparant la lligació



Material

TRANSFORMACIÓ DE CÈL·LULES COMPETENTS D'E.COLI

AQUEST PROCÉS S'HA DE DUR A TERME DINS DE LA CAPMANA JA QUE HI HA EL PERILL QUE LA MOSTRA ES CONTAMINI.

·Objectiu:

Introduir els vectors lligats dins del E.coli.

·Procediment:

·Per evitar l'estavellament del vector lligat contra la membrana, mitjançant un procés delicat i llarg es poden fer unes interrupcions en la membrana del bacteri per on introduïrem el vector lligat. Degut que aquest procés d'adaptació és molt llarg, aquesta tasca es duu a terme prèviament, moltes vegades pels tècnics de laboratori.

-Un cop es té el vector lligat, s'agafen bacteris aptes per a la incorporació d' ADN lligat.

-S'introdueix 10µl d'ADN lligat dins de l'ependorf amb les cèl·lules competents.

-Deixem reposar 30 min dins de gel.

-Amb l'estufa específica d'ependorfs apliquem un xoc tèrmic de 2min a 42°C.

Aquest és un moment crític ja que es poden matar els bacteris per excés de calor o no permetre que el vector entri.

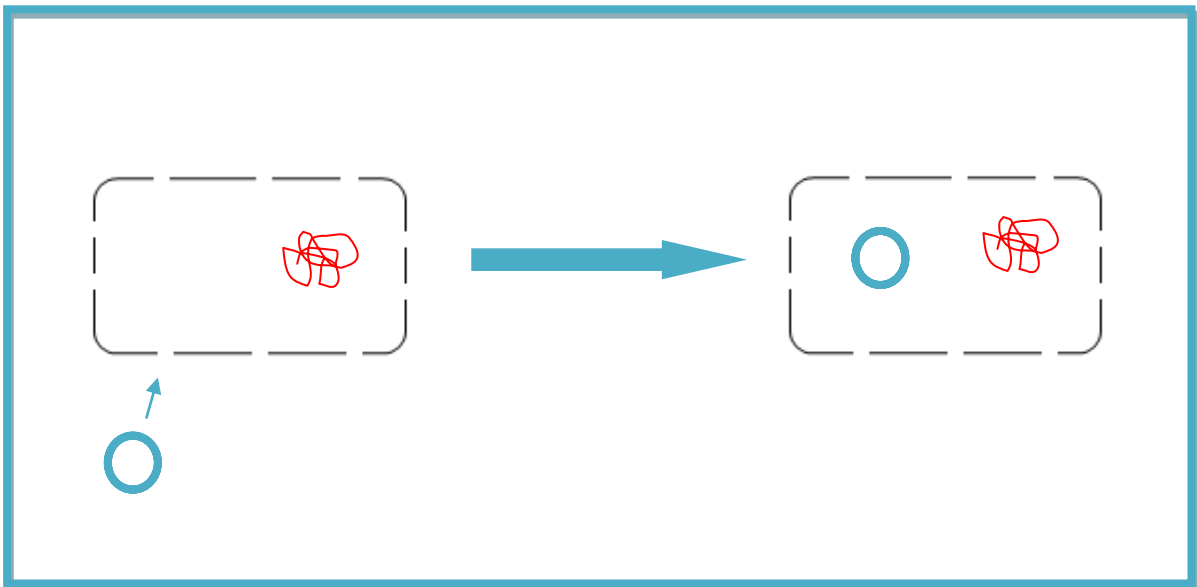
-S'incuba en gel entre 5 i 10 min.

-S'introdueix 1 ml de medi LB i ho deixem 45 minuts 37°C.

-Es centrifuga 3 min a 3000 rpm (centrifugació lenta ja que els bacteris són molt dèbils).

-Es decanta el medi LB.

Representació gràfica



SEMBRA

•**Objectiu:** Passar el producte de l'ependorf a una placa que conté agar, ampicil·lina i LB.

•Procediment:

- Re-suspendre les cèl·lules de l'ependorf amb una micropipeta de 100µl.

-Posar una gota de contingut al centre de la placa.

-Introduir boletes escampadores per la placa a fi de repartir uniformement les bactèries i evitar un cúmulo de colònies.

-S'aboca les boletes.

-Ho posar a la incubadora unes 14h a 37°C.

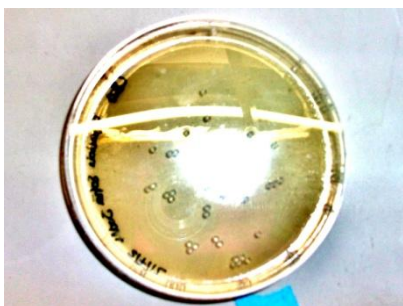
•Material:

-incubadora

-boletes escampadores

-ependorf amb E.coli aptes

-micropipeta 100



Placa amb les boles escampadors i les bactèries transformades

Inoculació i preparació del cultiu definitiu

•Objectiu:

Agafar una de les colònies de la placa per poder fer un medi molt més gran de 500mL. Després donar el senyal d' IPTG per que la colònia d'E.coli comenci a sintetitzar la GFP.

•Procediment:

-Agafar una colònia aïllada del nostre cultiu amb la punta de la micropipeta, d'aquesta manera hi ha una alta probabilitat que les bacteries siguin iguals.

-Posar la punta dins del falcó (precultiu 1).

Dins del falcó tenim 10 μ l d'ampicil·lina i 10ml de LB.

Fer un over-day.

-Preparar el segon precultiu amb 20ml de LB +ampicil·lina.

Fer un over-night.

-Finalment, inocular en el cultiu definitiu que prèviament conté 500ml de LB i ampicil·lina.

Aquest conté:

-2'5 g de NaCl

-5g d'extracte de llevat.

-8g de triptona

- Enrasem amb Mili-Q a 500ml.

•Procediment per la preparació del cultiu definitiu:

-L'erlenmeyer d' 1L conté prèviament 500ml de LB més ampicil·lina. D'aquí hem d'agafar 1ml de mostra per tenir un blanc d'absorvitat.



Cultiu en l'agitador a 37°C

-Inocular el cultiu de nit i afegim l'antibiòtic.

-Possar-ho en l'agitador a 37°C.

•Material:

-Erlenmeyer d'1L

-Medi LB

-Ampicil·lina

-Mili-Q

-Mosca

-Màquina d'autoclavatge

-Tryptona

-NaCl

-Extracte de llevat

-Colònia de bacteris



Metodologia

En el cultiu és necessari un pH de 7.0, de manera que si a l'hora d'anar afegint els productes es té una variància del pH es pot afegir NaCl o HCl.

- Posar els elements sòlids en un vas de precipitats i, després enrrasar amb Mili-Q (aigua dos cops destil·lada) fins els 400 mL.

-Posar dins una mosca per barrejar bé.

-Comprovar el pH i esprés enrassm amb Mili-Q.

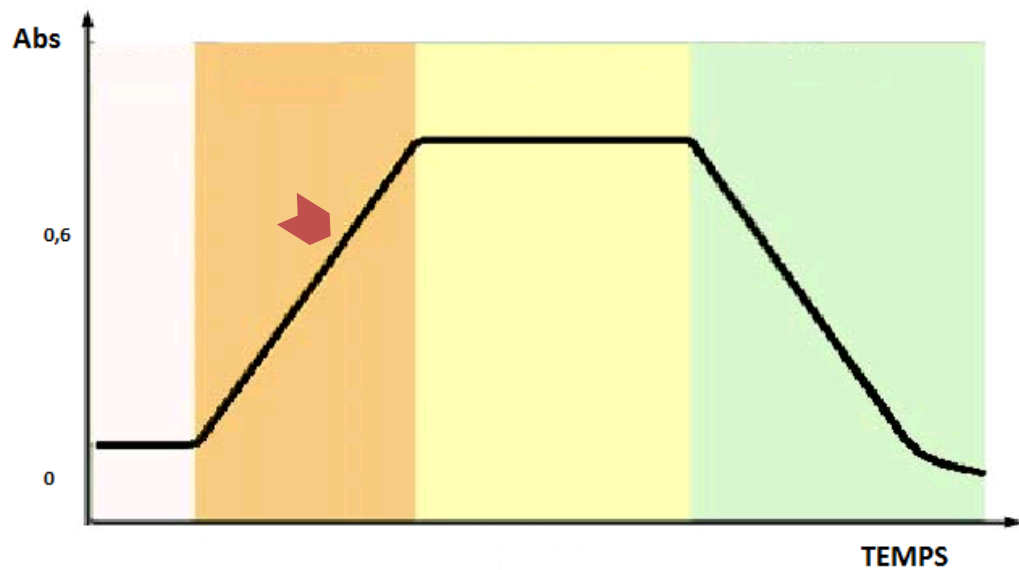
-Treure la mosca i passar tot el producte dins de l'erlenmeyer.

-Autoclavar l'erlenmeyer.



Aigua Mili-Q

GRÀFICA DE CREIXEMENT BACTERIÀ

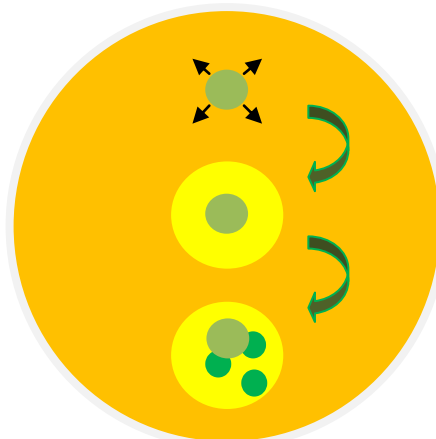


Al voltant del moment assenyalat, donarem el senyal IPTG, ja que en aquest moment el cultiu ja ha passat de la fase de latència i creix exponencialment. Aquesta situació és ideal per donar el senyal, ja que el metabolisme del bacteri no està massa deteriorat i el nombre de bacteris és ideal per a la sintetització de la proteïna.

·A tenir en compte:

Quan s'agafa una escollim una colònia per poder inocular al cultiu definitiu hem de tenir en compte la possible presència de satèl·lits. Els satèl·lits són aquelles colònies de bacteris que han ocupat la zona sense l'antibiòtic sense tenir el gen inhibidor d'aquest. Aquest fenomen és deu que altres colònies de bacteris que tenen el gen han creat un radi al voltant seu sense l'antibiòtic, de manera que altres bacteris sense el gen inhibidor les colonitzen.

REPRESENTACIÓ GRÀFICA

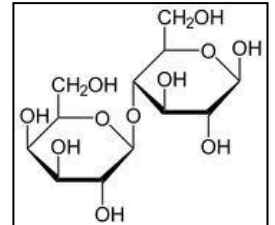


QUÈ ÉS EL SENYAL IPTG?

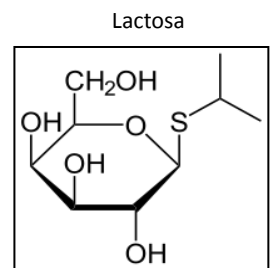
El senyal IPTG (isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosid) la donem a la colònia de bacteris quan volem que comencin a sintetitzar la proteïna, és a dir, serveix per controlar l'expressió del gen en el qual tenim codificada la proteïna d'interès.

·Com funciona?

L'IPTG és un anàleg de la lactosa modificat químicament per que pugui aguantar durant més temps dintre de l'organisme sense deteriorar-se. Aquest compost serveix per des- reprimir i disparar la transcripció de l'operó lac.

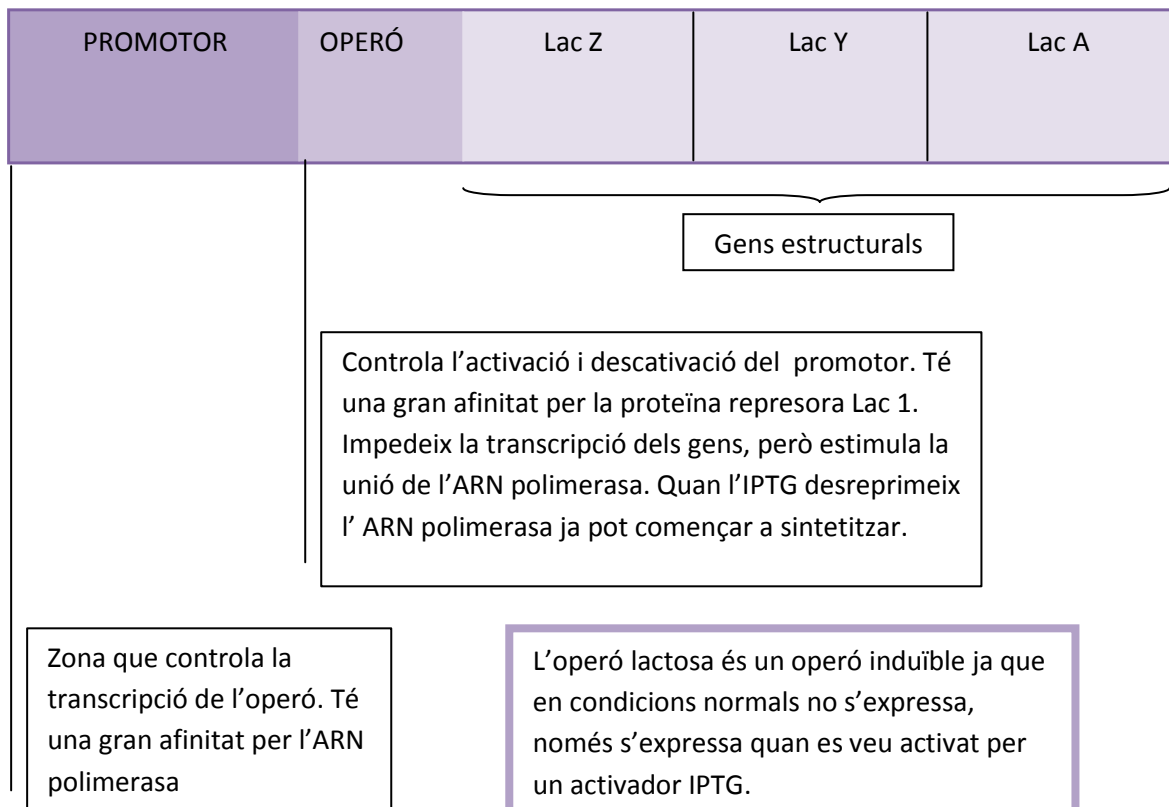


Un operó és utilitzat ja que és capaç de controlar la expressió dels gens que conté. Essencialment només conté un gen, però interromput per mitjà de codons d'iniciació i de finalització. El fet que aquest gen doni com a resultat proteïnes independents fa que es parli de l'operó com a conjunt de diferents gens.

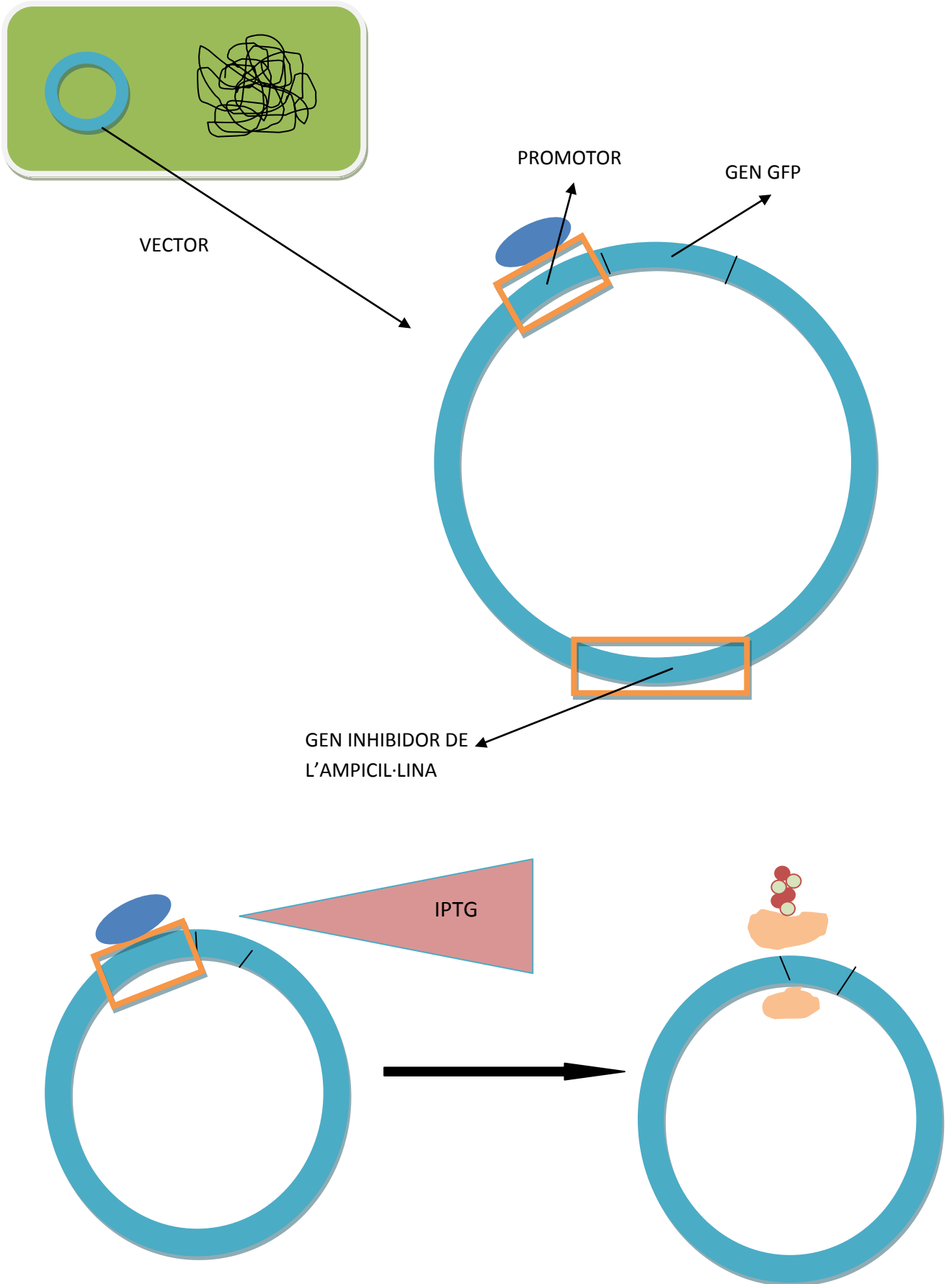


IPTG

Estructura



Representació gràfica:



Preparació del gel separador de proteïnes

•**Objectiu:** Preparar el gel que utilitzarem per fer l'electroforesi de les proteïnes GFP.

•**Procediment:**

Prendre mostra de l'absorbància dels cultius. Si es troben en el punt òptim, se'ls dona el senyal d'IPTG per que comencin a fabricar la proteïna. Després els hem posat en l'agitador per que es trobin en una situació favorable per a la seva producció.

Un cop donat el senyal hem començat a preparar el gel, a diferència del gel d'agarosa (DNA) aquest gel d'acrilamida pot ser preparat amb una mica d'antelació sense que es faci malbé.

•**Material:**

| GEL SEPARADOR | GEL APILADOR |
|---|--|
| -3750 µl d'acrilamida -1875 µl de solució B -1875 µl d' H ₂ O -7'5 µl de TEMED -75 µl de persulfat | -700 µl d'acrilamida -1500 µl de solució C -3800 µl d' H ₂ O -6 µl de TEMED -60 µl de persulfat |

És molt important que un cop hem afegit el TEMED i el persulfat d'amoni posar el gel molt ràpidament ja que degut a la rapidesa de la polimerització correm el risc que polimeritzi en el tub d'assaig.

Diferències entre l'electroforesi d'ADN i de proteïnes

| | PROTEÏNES | DNA |
|-------------------------|---|---|
| Nº de gels | <p>En aquest cas hi ha dos gels:</p> <p><u>-gel apilador:</u> aquest gel es troba a la part superior del muntatge. La seva funció és fer que les proteïnes puguin passar al gel separador des de un mateix front (mateixa distància), per així evitar possibles errors de mesura.</p> <p><u>-gel separador:</u> la funció d'aquest gel és la mateixa que la del gel d'agarosa. En aquí l'acrilamida actua com a malla, fent que les proteïnes més petites arribin més lluny.</p> | <p>En aquest cas només hi ha un gel fet essencialment d'agarosa.</p> |
| Disposició del muntatge | Vertical | Horitzontal |
| Material | <p>-Acrilamida.</p> <p>-SDS ,detergent que desnaturalitza i carrega negativament.</p> <p>-TEMED i presulfat d'amoni. S'encarregua de polimeritzar ,gràcies a ells agafa estat de gel.</p> | <p>-Agarosa</p> <p>A diferència del gel de l'electroforesi proteica, aquesta solidifica a estat gel en un 15 min a temperatura ambient.</p> |



Muntatge de l'electroforesi de proteïnes

·Centrifugació dels cultius i electroforesi:

Agafar dos mostres per cada cultiu de 1ml, centrifugar-les i extreure el sobrenedant.

Un cop agafades les mostres, centrifugar el cultius sencers.



Introducció del cultiu en els recipients específics per a la centrifugació



Equilibrar el pes dels recipients



Centrifugadora



Pelets

Per poder dur a terme l'electroforesi de proteïnes s'han d'agafar mostres de cada pas que anem fent, ja que en cas que obtinguem el resultat desitjat, podrem intentar deduir on ens hem pogut equivocar quin ha estat el problema.

Les mostres que hem d'agafar són:

- cultiu abans d'induir
- pelet després d'induir
- sobre nedant després d'induir
- pelet del lisat
- sobre nedant del lisat



Mostres

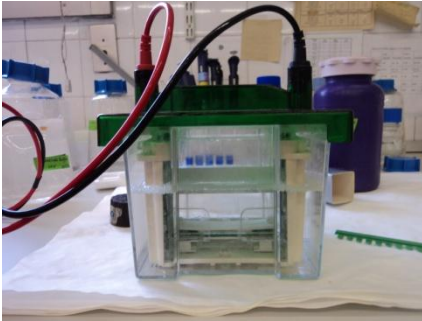
·Procediment:

- Agafar mostra de cultiu abans d'induir
- Centrifugar la mostra de cultiu després d'induir per poder obtenir pelet i sobrenedant
- Agafar una mostra del cultiu (6ml) per poder aplicar el protocol de lisat i així poder trencar les cèl·lules (ja que la nostra proteïna resta dins de l'interior i queda en la part soluble)
- Agafar una mostra d'1 ml i centrifugar-la.

Preparació de les mostres:

- Hem de re- suspendre els pelets en 1ml de medi de re-suspensió (en cas que el pelet fos molt petit, re-suspenem en 200ml).
- Quan tenim les mostres re-suspeses, hem d'afegir a cadascuna de les cinc mostres 10 ml de blau de bromofenol, que ens indicarà on es troben les proteïnes quan fem l'electroforesi.
- Per poder visualitzar les bandes hem de fer una tinció amb Blau de Coomassie.
- Submergim el gel fins que agafi el color blau intens
- Un cop fet, submergim en solució de decoloració i escalfem

-Quan estigui suficientment descolorit podrem visualitzar les bandes.



Electroforesi de proteïnes



Visualització de les bandes

**

·Resultats:

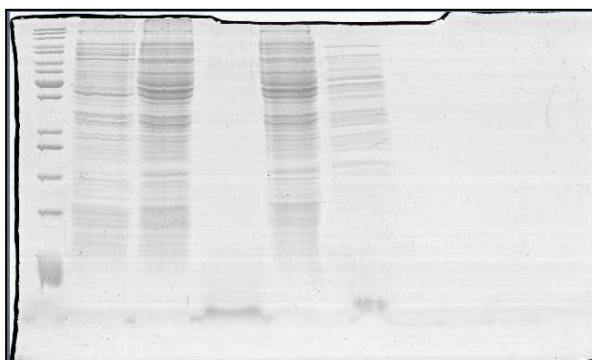
Varem realitzar dos electroforesis canviant les quantitats i no varem obtenir la nostra proteïna.

·Possibles motius:

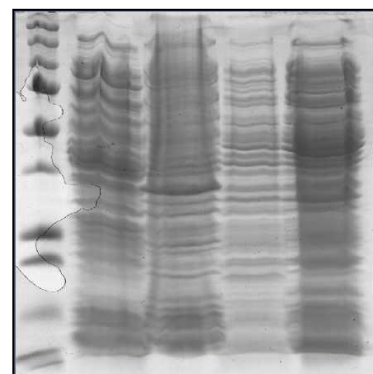
-El senyal no ha arribat de manera que no s'ha expressat la proteïna.

-Durant el procés de la PCR pot haver ocorregut una mutació, si és lo suficientment greu la proteïna pot quedar inhabilitada.

-El vector no ha entrat en els bacteris.



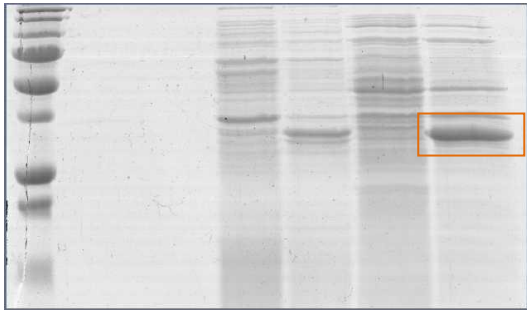
Electroforesi 1



Electroforesi 2

En cas que durant el projecte tinguéssim aquest dificultat hauríem de tornar a repetir el senyal IPTG.

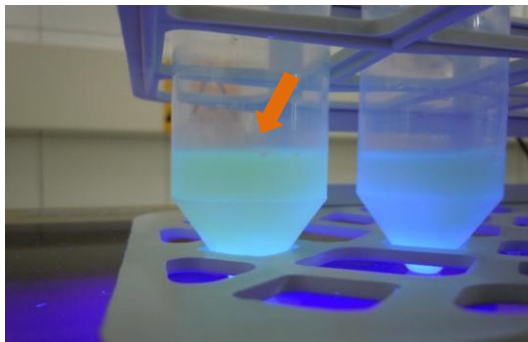
Resultats:



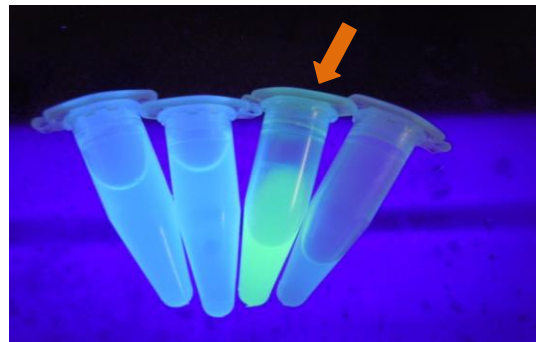
En aquesta electroforesi podem veure clarament la sobreexpressió



Mostres, la tercera començant per la dreta és la lisada per això a simple vista es pot observar un to verdós



A la dreta podem veure el cultiu lisat, i a la dreta el no lisat. Degut que la GFP es troba dins de la cèl·lula, al veure els cultius amb els UVA es pot veure clarament el color verd



Mostres, la tercera començant per la dreta tenim la mostra lisada

Aquest mateix procediment es tindria que dur a terme de manera paral·lela per poder obtenir proteïnes P-63.

Per l'obtenció de ratolins transgènics part dels inserts es microinyecten. L'ADN lineal que inclou el gen a estudiar és llavors injectat en un dels pronuclis (generalment el masculí, per ser més gran) d'un oòcit de ratolí fecundat, en una fase anterior a la fusió pronuclear. El pas posterior és la fusió dels pronuclis. El fragment d'ADN injectat pot integrar a l'atzar en l'ADN del ratolí. El desenvolupament de l'embrió conduirà a l'obtenció del ratolí transgènic en aquells casos en què es donin les condicions adequades. La inserció s'ha de produir en un fragment d'ADN del ratolí que no impedeixi l'expressió del gen introduït. D'altra banda la inserció del gen a estudiar no canviar l'expressió de gens del ratolí que puguin emmascarar l'efecte de la inserció. També és fonamental que la inserció del gen no tingui un efecte letal en el ratolí. Una estratègia similar però orientada a bloquejar l'expressió d'un gen concret de forma específica s'utilitza per obtenir ratolins *knockout* que permeten estudiar l'efecte que produeix l'eliminació de l'expressió d'un gen.

Un cop ja tenim els ratolins transgènics podem començar el nostre estudi i a més fer un seguiment de cap a on van les proteïnes sintetitzades, ja que podem controlar l'acoblament de la proteïna GFP mitjançant el procediment anterior.

7. Conclusions

Dur a terme aquest treball no ha estat fàcil, però l'experiència ha estat molt enriquidora i, sens dubte, ha valgut la pena.

Pel que fa a la part teòrica, hem de tenir en compte els objectius inicials, on el primer era fer un anàlisi dels mecanismes farmacològics i veure quin efecte tenia sobre el pacient. Després d'acabar el treball podem concloure que hem aconseguit estudiar un gran nombre dels fàrmacs que estan disponibles i veure quins efectes tenen sobre els pacients. La majoria de les aproximacions terapèutiques per a la malaltia d'Alzheimer han estat dissenyades per reduir la producció i agregació de la proteïna amiloide beta o per promoure'n l'aclariment de la mateixa.

Malgrat això, queda clar que aquests fàrmacs no estan tenint un resultat massa efectiu ja que, en el millor dels casos, només aconsegueix alentir la patologia durant un màxim de dos anys.

Respecte al segon objectiu principal, fer un anàlisi de les teràpies, m'he adonat que les teràpies funcionen just al contrari de com creia. Jo partia de la idea de que les teràpies eren molt més genèriques, és a dir, que no es centraven en l'estimulació específica. Per aquest motiu, pensava fer un anàlisi de les teràpies i veure quina era la que millor estimulava el pacient.

És per aquest motiu que, després de fer un anàlisi de les teràpies que s'imparteixen avui dia, he conclòs que s'haurien de fer teràpies més globals per poder fomentar l'estimulació sinàptica de més regions cerebrals alhora i, així poder fer una aproximació més real al pacient.

Pel que fa al darrer objectiu, dissenyar un projecte per a la investigació de la cura de l'Alzheimer, no he pogut arribar a fer un disseny que inclogués respostes concloents.

Mentre feia el disseny del meu projecte vaig decidir enfocar-ho més a respondre la pregunta inicial, ja que durant tot el meu període de investigació no he trobat cap article que fes referència directa a la meva hipòtesi.

De manera que, com a conclusió del meu treball, cal dir que seria un projecte no massa car sempre i quan es comptés amb la col·laboració d'altres grups investigadors. També dir que, després de tenir aquesta petita experiència amb el disseny de projectes, no ha estat una tasca fàcil poder trobar una hipòtesi nova que no ha estat estudiada. Tenint en compte que avui en dia l'Alzheimer no té cura, hi cap la possibilitat que la resposta es trobi en la combinació de l'activació d'un intró regulador de la proteïna P-63 i un mal funcionament de les proteïnes APOE.

8.Agraïments

Vull acabar donant agraïment a totes aquelles persones que han fet possible que acabi la meva recerca.

Primer de tot agrair al professor Antonio Arregui, qui ha estat en tot moment llegint i rellegint i retocant els meus esborranys, guiant-me en el meu treball.

A la professora Francesca Guerola, per informar-me de les conferències del PRBB i altres oportunitats com la del Programa Argó, experiències que, sens dubte, m'han ajudat molt en el meu treball.

Un agraïment molt sincer a la professora Irantzu Pallarés i tots els membres del laboratori de la UAB on vaig fer l'estada. Gràcies a ells va ser una experiència d'allò més enriquidora i agradable.

També als meus pares, que m'han ajudat molt en els moments més tensos i m'han aportat tota l'experiència que han tingut amb l'Alzheimer.

Finalment, voldria agrair a tots els professors i professores de l'INS Verdaguer que d'una manera o altre, han col·laborat en el procés de la meva recerca. Moltes gràcies a tots per ajudar-me.

9. Webgrafia

Com funciona el cervell humà en condicions normals?

·De la Vega, R. y Zambrano, A. Alzheimer [en línia]. Circunvalación del Hipocampo, abril 2011 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.hipocampo.org/alzheimer.asp>.

· Jiménez Jacinto, J. Francisco, El Alzheimer es la primera causa de demencia en los países desarrollados, septiembre 2009[Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://es.catholic.net/psicologoscaticos/435/2428/articulo.php?id=43597>

·Wikipedia, la enciclopedia libre, [en línia].Cerebro, gener 2013[Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Cerebro>

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Sinapsis, gener 2013 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Sinapsis>

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Neurotransmisor, diciembre 2012 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Neurotransmisor>

·El Telencéfalo y sus partes[en línia]Espanya: Tu Neurociencia, 2012. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://tuneurociencia.blogspot.com.es/2010/12/el-telencefalo-y-sus-partes.html>

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Hemisferio cerebral, gener 2013 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Hemisferio_cerebral

Què és l'Alzheimer?

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Acetilcolina, diciembre 2012 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Acetilcolina>

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Enfermedad de Alzheimer, diciembre 2012 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_de_Alzheimer

·[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/acetilcolina.htm>

·Wikipedia, la enciclopedia libre [en línia]. Sistema de neurotransmisión colinérgica, abril 2009 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: http://ca.wikipedia.org/wiki/Malaltia_d%27Alzheimer#Pre-dem.C3.A8ncia

·Mahley, R.W., Weisgraber, K.H. y Huang, Y. Apolipoprotein E: structure determines function, Alzheimer's disease to AIDS. J Lipid Res. 2009 [en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www2.uah.es/biomodel/model2/lip/apoe4.htm>

·Medicina molecular [en línia]. Apoe y sus receptores en la enfermedad del Alzheimer,agost 2009[Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.medmol.es/revisiones/59/>

Darrere de la malaltia

·[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.youtube.com/watch?v=GhaiVljm2B4&feature=related>

·[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.youtube.com/watch?v=XeEr0ApvneY&feature=related>

·[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.youtube.com/watch?v=EWXTaUAz4Zg&feature=relmfu>

Fases de l'Alzheimer

·Wikipedia, la enciclopedia libre, Early-onset Alzheimer's Disease [en línia]. Decembre 2012 [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/Early-onset_Alzheimer's_disease

Per on va la recerca?

· Ciberneted,Nuevos Descubrimientos[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://ciberned.es/>

·En versió PDF, Volver a empezar[en línia]. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en: <http://www.imsersomayores.csic.es/documentos/documentos/familialzheimer-volver-01.pdf>

Detecció

·Caixa Madrid, Alzheimer[en línia], gener 2012. [Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en <http://cuidadoalzheimer.com/tag/investigacion/>

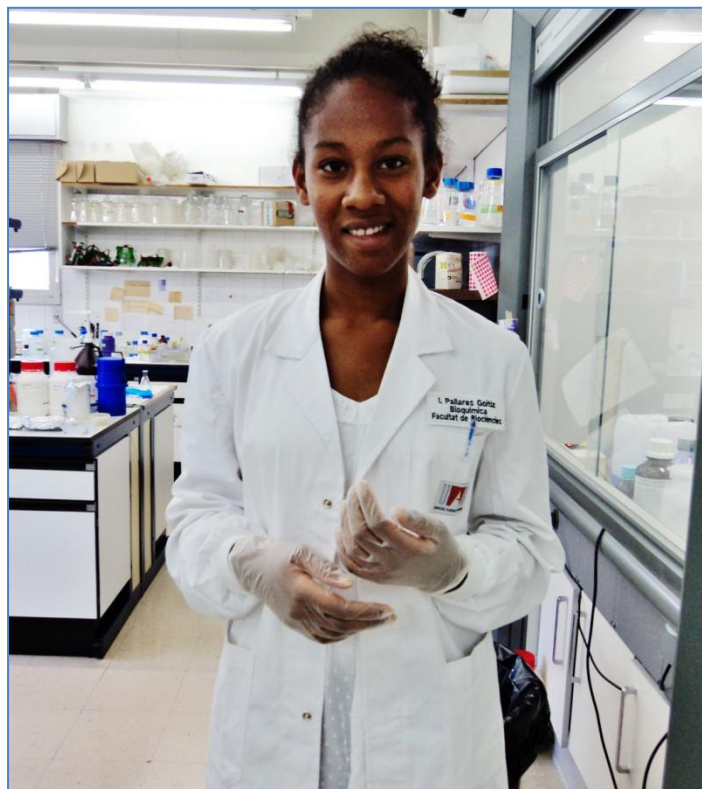
Fàrmacs

·Americans Association, Fàrmacos para el Alzheimer[en línia]. Decembre 2010[Consulta: 15 gener 2013]. Disponible en:
<http://www.ahaf.org/espanol/tratamiento.html>

ANNEX



Estada al Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la UAB



6 d'Octubre 2012

La enfermedad del Alzheimer i el funcionamiento de las neuronas - Paco Muñoz

En aquesta xerrada Paco Muñoz va donar una explicació de quaranta minuts aproximadament sobre la relació que hi ha entre l'Alzheimer i el funcionament (en aquest cas mal funcionament) de les neurones. L'objectiu de la xerrada era fer entendre quina relació tenia l'agregació anormal de proteïnes i l'Alzheimer.

Pot haver dos tipus d'Alzheimer:

- Degut a mutacions en la seqüència AB: Aquest tipus l'Alzheimer es deu a mutacions genètiques. És molt precoç i pot arribar a manifestar-se abans dels 30 anys.
- Esporàdic: Aquest es manifesta després dels 65 anys i no té bases genètiques.

Funcionament de les neurones: sinapsis

Les neurones són un tipus de cèl·lules del sistema nerviós que en la seva gran majoria no es divideixen, és a dir morim amb la mateixa neurona amb la que hem néixer.

Les neurones tenen la capacitat de comunicar-se les unes amb les altres i fins i tot amb cèl·lules d'altre tipus. Aquests impulsos nerviosos viatgen de dendrita a axó. A connexió entre neurones s'anomena sinapsis.

Hipocamp

L'hipocamp és la regió del cervell que s'encarrega d'emmagatzemar lo recentment après o experimentat. En la malaltia de l'Alzheimer l'hipocamp és una de les primeres zones en sofrir danys. Aquest és el motiu per el que els primers indicis que es manifesten són la pèrdua d'algunes facultats com ara la memòria immediata.

Pèptid β -amiloide

Aquest pèptid és el principal component de les plaques que es troben als cervells de malalts d'Alzheimer. Aquest pèptid es forma a partir d'una proteïna precursora anomenada APP. Malgrat que el pèptid β -amiloide en situació normal (soluble) té altres funcions com ara la regulació del colesterol, el problema bé quan és formen aglomeracions d'aquest provocant plaques anòmales en el cervell.

Quan el pèptid es troba en estat filamentós formant estructures es torna neurotòxic, provocant diversos problemes com ara la pèrdua de sinapsis i la deformació d'axons i dendrites. Tots aquests factors acaben portant a la mort neuronal.

Què és el que s'està investigant al PRBB?

En aquests moments s'està estudiant com impedir la fibril·lació del pèptid β -amiloide que causa l'Alzheimer. Una de les idees que s'està investigant és fer una injecció que contingui anticossos que s'encarreguin de desmuntar aquestes fibril·lacions.

·Valoració personal:

Aquesta xerrada ha sigut molt instructiva. He pogut veure com científics que treballen en el camp de l'Alzheimer expliquen la malaltia. De cara a fer la presentació oral del meu treball de recerca, he vist com s'ha d'explicar l'Alzheimer i la seva patologia de manera que es pugui entendre, a més de fer-ho donant una explicació de qualitat.

Què és el que investiga un metge? - Joaquim Gea

Aquesta xerrada va ser consecutiva a l'anterior sobre l'Alzheimer. En aquest cas Joaquim Gea (doctor especialitzat en múscul) ens parlava sobre els diferents sistemes d'investigació que utilitza un metge i com s'ho fa per poder esbrinar quina és la causa dels símptomes que presenta el seu pacient.

Primer va explicar que un metge ha d'acotar per poder fer-se preguntes més concretes. És a dir, quan té al davant un pacient amb diferents síndromes primer ha de saber escollir quins són rellevants i quins no. D'aquesta manera podrà fer-se preguntes més concretes i no haurà d'investigar en un camp massa gran.

Metodologia per acotar:

-Un cop s'ha observat el pacient recórrer a la literatura i a l'estadística poblacional per intentar deduir quina podria ser la malaltia del pacient.

-En moltes ocasions la literatura no encaixa amb la patologia observada i, és aquí on entra en joc l'experiència i l'habilitat del metge.

-Si el cas encara no està resolt, s'ha de recórrer a una investigació una mica més personalitzada, de manera que les visites al metges es veuen perllongades en el temps.

Investigació:

Avui en dia hi ha diversos programes informàtics, molts d'ells fets per metges els quals relacionen factors amb patologies o malalties. És adir, si per exemple s'observa una falta de memòria en el pacient sortiran diversos factors que puguin ser els causants d'aquesta falta de memòria. El fet més interessant d'aquests programes és la diversitat de factors que inclouen, ja que van des de la medicina fins a la psicologia i fins i tot l'ambient.

Al final de la xerrada ens va parlar una mica sobre com es formaven grups d'investigació i els requisits que es necessitaven generalment.

Normalment no es solen formar grups d'investigació formats per metges practicants degut a la manca de temps. Malgrat això quan es formen aquests tipus de grups solen tenir obtenir resultats molt bons, ja que poden treballar amb el pacient d'una manera molt més directa.

·Valoració personal: Aquesta xerrada m'ha agradat molt ja que la informació era molt sincera. A més durant el torn de preguntes van sortir altres aspectes de la medicina com ara el de fet de viure dia a dia amb el patiment humà i com un metge ho havia d'afrontar. En vista al meu treball de recerca, he vist exemples reals sobre com es dissenya un projecte i com es pot acotar la informació per poder centrar una investigació.



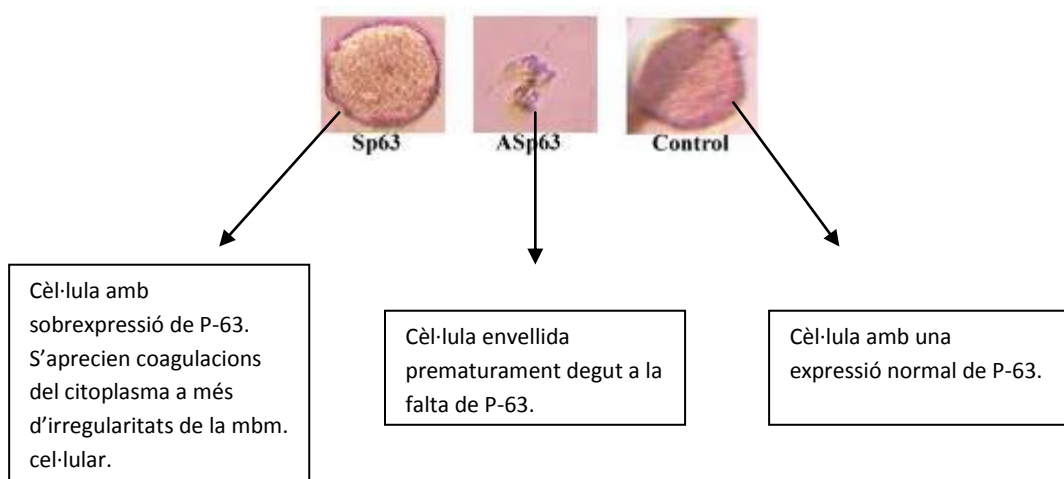
Jo a la sortida de les xerrades

Cèl·lules mare, P-63

Introducció

La proteïna P-53 s'encarrega de corregir els errors que es produeixen en fer les còpies d'ADN. La seva presència indica que en un principi l'ADN s'està reparant correctament en la transcripció. Per aquest motiu es considera que aquesta proteïna té un paper fonamental en la prevenció de **tumors**. Malgrat aquest paper tant important, la P-53 també és la causant de l'envelliment cel·lular. Per altra banda, la P-63 es troba en grans quantitats en els càncers, especialment en els càncers de pell.

Experimentalment s'ha determinat que una sobreexpressió d'aquestes proteïnes provoca una divisió cel·lular descontrolada, donant lloc al **càncer**. En canvi, aquelles cèl·lules que no sintetitzaven aquestes proteïnes envellien molt ràpidament.



En aquesta sortida vaig realitzar una **electroforesi** per poder aïllar les seqüències d'ADN que codificaven la proteïna P-63 i, així poder veure una de les eines fonamental de la investigació científica d'avui en dia.

Electroforesi

Objectiu:

Aïllar les seqüències d'ADN que codificaven la proteïna P-63.

Procediment:

- Diluir la dissolució de TAE a l'1%:
 - Agafar 10ml de la solució TAE 50% i abocar-los en un flascó de 500ml.
 - Enrasar amb H₂O per obtenir solució TAE 1%.
- Preparar el gel d'electroforesi:
 - Preparar una solució amb 1,2 grams d'agarosa i barrejar-los dins d'un erlenmeyer amb 150ml de dissolució TAE 1%.
 - Escalfar dins d'un microones durant 90 s a 100°C aproximadament.

Càlcul:

$$150\text{mL TAE} \times \frac{0,8 \text{ g agarosa}}{100\text{ml TAE}} = 1,2 \text{ g d'agarosa}$$

- Solidificació del gel:
 - Col·locar la pinta encarregada de fer els pouets en el gel en el motlle i, després abocar la solució d'agarosa.
 - Deixar que solidifiqui durant 8 minuts aproximadament.
 - Extraure el gel amb el motlle per fer-lo encaixar amb la cubeta d'electroforesi.
 - Omplir la cubeta amb dissolució TAE 1% fins que el gel quedés cobert completament.



Abocament de la solució d'agarosa dins del motlle



Abocament del TAE 1% dins de la cubeta d'electroforesi

Les micropipetes són una eina molt utilitzada en enginyeria genètica. Bàsicament consisteixen en unes pipetes molt precises capaces de mesurar en microlitres (10^{-6} L).

Aquestes es classifiquen segons un codi de colors:

-blanques: de 2 a 20 μ l

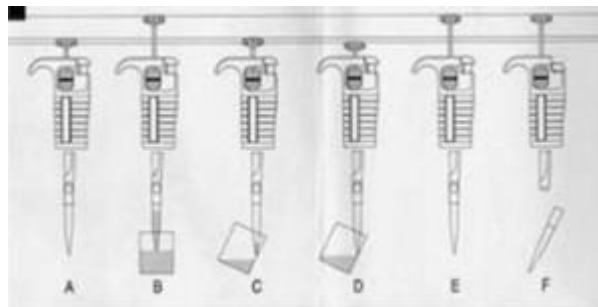
-grogues: de 20 a 200 μ l

-blaves: de 200 a 1000 μ l



La gran avantatge de les micropipetes és la opció que donen per regular la quantitat desitjada, a més del fet de tenir puntes d'un sol ús (podem utilitzar la mateixa micropipeta per diferents substàncies).

Una micropipeta té 2 posicions. La primera serveix per expulsar la mostra i, la segona s'utilitza en cas que quedin residus dins de la punta.



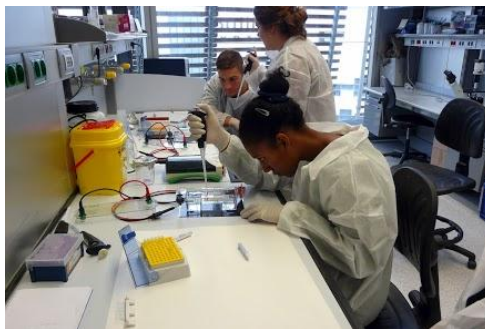
Esquema sobre la utilització de micropipetes

·Introducció del material genètic als pouets:

Introduir amb l'ajut d'una micropipeta de 20µl les mostres d'ADN dins dels 6 pouets.

| | | | | | | |
|--------------|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>Prova</i> | <i>Prova</i> | <i>Control</i> | <i>DNA1</i> | <i>DNA2</i> | <i>DNA3</i> | <i>DNA4</i> |
|--------------|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|

Seguidament s'ha endollar l'aparell d'electroforesi a la font d'alimentació a 100 volts i esperar 13 minuts.



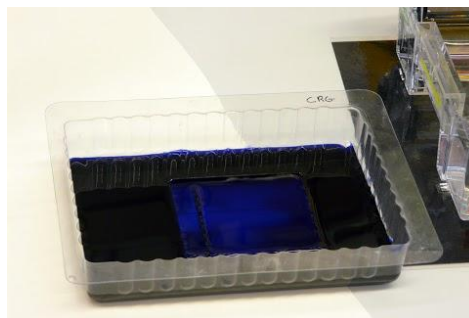
*Introducció d'ADN codificant
dins del pouets*

·Tinció del gel:

-Extreure el gel i el tenyir amb blau de metilè.

-Destenyir amb aigua destil·lada, canviant l'aigua de forma seguida cada 5 minuts.

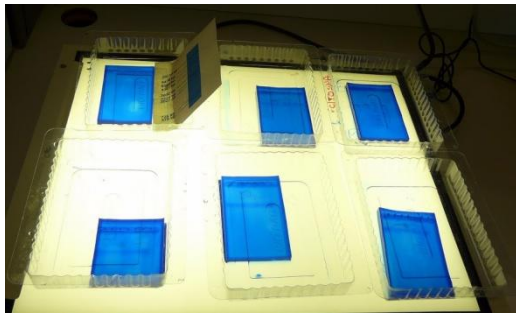
-Obtenció del gel amb les seves bandes característiques.



Tinció del gel amb blau de metil

· Interpretació de les bandes:

Un cop que el gel estava suficientment descolorat, varem anar a visualitzar i interpretar les bandes al transil·luminador de llum blanca amb l'ajut del protocol de parells de bases.



Explic Gels sobre el transil·luminador per a una millor visualització de les bandes

Protocol per interpretar les bandes obtingudes (proporcionat per l'empresa)

L'electroforesi és la tècnica que s'utilitza avui en dia per separar molècules d'ADN o proteïnes. Aquesta tècnica es basa en la càrrega negativa natural d'ADN. Seguint aquesta idea, es posa el material dins dels pouets i després es fa circular electricitat pel gel. Les molècules d'ADN es veuran atretes cap al pol positiu i es desplaçaran pel gel.

La manera que es té per aïllar les molècules és per la seva mida. Les més grans es mouen amb menys velocitat, ja que els hi costarà més moure's pel gel. En canvi les més petites aniran més ràpid i, com a conseqüència quedaran més lluny dels pouets. Aquest fenomen és el que provoca que veiem bandes a diferents altures del gel. En cas que nosaltres volguéssim agafar aquest DNA només caldria tallar la zona on es troba el material amb un bisturí.

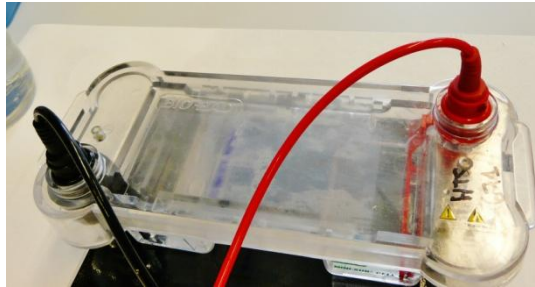
Abans de fer una electroforesi, és molt important que nosaltres coneixem el pes en parells de bases de la molècula que nosaltres busquem, ja que sinó no sabrem quina de les bandes és la molècula que busquem.

·Material:

-TAE 50%
-Aigua destil·lada
-Flascó 500ml
-Erlenmeyer
-Vidre de rellotge

-Agarosa en pols
-Microones
-Guants
-Bata
-Cullera/espàtula

-Guant per material calent
- Cubeta d'electroforesi
- Motlle d'electroforesi
-Blau de metil
-Micropipeta groga



Càpsula d'electroforesi

·Observacions:

·És molt important que abans d'extreure la pinta el gel ja estigui cobert per TAE, ja que sinó correm el risc que es tanquin els pouets degut a l'adhesió de les dos parets que els formen.

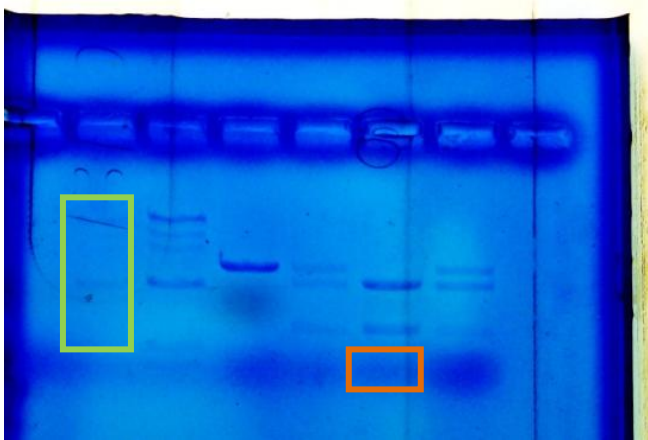
·Quan està corrent electricitat per la cubeta, es poden observar unes bombolles en els pols. Aquestes estan provocades per d'hidròlisi de l'aigua.

·Cal omplir la cubeta amb el TAE per que aquest pugui fer de conductor entre els dos extrems.

·És recomanable no utilitzar el nivells màxims de les pipetes, ja que correm el risc que s'espallin.

·Cada cop que es vol introduir una mostra s'ha de canviar de punta, ja que sinó aquesta quedarà contaminada.

·Resultats:



· La seqüència es va manifestar al voltant dels 630 pb (taronja). Malgrat això varem tenir una contaminació (verd).

·Conclusions:

La família de proteïnes de la P-53, té molta importància per a l'estudi del càncer a més de per a qualsevol altra malaltia que tingui a veure amb l'envelliment o degeneració cel·lular, com per exemple el Parkinson o l'Alzheimer.

·Possible hipòtesi sobre la relació entre l'envelliment cel·lular/ divisió descontrolada i la P-63:

La pregunta que ens plantejem ara és: Què és el que provoca que una cèl·lula comenci a dividir-se descontroladament?

Nosaltres sabem que un excés de la P-53 ho provoca. És possible que la divisió descontrolada es degui a un descontrol sobre introns reguladors que controlen la síntesi de la P-53. És a dir, la síntesi de la P-53 deu estar regulada per introns, de manera que qualsevol mutació en aquests pot alterar la síntesi de la P-53.

Taula 1 GDS

GDS 1

Sense deteriorament cognitiu / Normalitat

- No hi ha queixes subjectives de pèrdua de memòria.
- No s'objectiven dèficit de memòria en l'entrevista clínica

GDS 2

Deteriorament cognitiu molt lleu / Oblit benigne senil

• Hi ha queixes subjectives de pèrdua de memòria, més freqüentment en les següents àrees:

- a) Oblits del lloc on ha deixat objectes familiars.
- b) Oblit de noms familiars.

- No hi ha evidència objectiva de dèficit de memòria en l'entrevista clínica.
- No hi ha dèficit objectiu en la feina ni en situacions socials.
- Actitud apropiada respecte al seu simptomatologia.

GDS 3

Deteriorament cognitiu lleu / Compatible amb malaltia d'Alzheimer incipient

• Primers dèficit clars. Manifestacions en més d'una de les següents àrees:

- a) Se sol perdre quan viatja a llocs no coneguts.
 - b) S'evidencia seu baix rendiment laboral.
 - c) Es fa evident la pèrdua de paraules i noms.
 - d) Reté relativament poc material quan llegeix un paràgraf d'un llibre.
 - e) Demostra una disminució en el record de noms de persones que acaba de conèixer.
 - f) Perd o extravia objectes de valor.
 - g) En l'exploració clínica es pot evidenciar un dèficit de concentració.
- Evidència objectiva de dèficit de memòria que es posa de manifest en una entrevista exhaustiva.
 - Disminució del rendiment en les àrees laboral i social.
 - Comença a negar els dèficit.
 - Aquests símptomes van acompanyats d'ansietat lleu o moderada.

GDS 4

Deteriorament cognitiu moderat / Demència lleu

• Dèficit evidents en realitzar una acurada història clínica. Els dèficits són manifestos en les

següents àrees:

- a) Disminució en el coneixement d'esdeveniments actuals i recents.
 - b) Pot presentar algun dèficit en el record de la seva història personal.
 - c) Dèficit en la concentració, que es fa evident en la sostracció de sèries.
 - d) Disminució en la capacitat per viatjar, manejar les finances, etc.
- No sol haver dèficit en les següents àrees:
 - a) Orientació en temps i persona.
 - b) Reconeixement de persones i cares familiars.
 - c) Capacitat per desplaçar-se a llocs coneguts.

- Incapacitat per realitzar tasques complexes.
- La negació és el principal mecanisme de defensa.
- La resposta afectiva s'aplana i l'individu es retreu davant situacions de major exigència.

GDS 5

Deteriorament cognitiu moderadament greu / Demència moderada

- El pacient ja no pot passar sense algun tipus d'ajuda.
- El pacient és incapaç de recordar detalls rellevants de la seva vida actual, per exemple la seva adreça o número de telèfon que té des de fa anys, els noms de parents propers (p. ex., seus néts), de la seva escola, col·legi, institut o universitat en què es va graduar.
- Sovint presenta desorientació temporal (data, dia de la setmana, estació ...) o de lloc.
- Una persona amb educació formal pot tenir dificultat en comptar cap enrere des de 40 de 4 a 4 o des de 20 de 2 en 2.
- Les persones en aquest estadi es recorden moltes dades importants referents a ells mateixos i als altres.
- Invariablement saben el seu propi nom i el de la seva esposa i fills.
- No requereix ajuda per la neteja ni per menjar, però pot tenir alguna dificultat en triar què roba posar-se.

Taula 2- Exemple de qüestionari utilitzat en les teràpies d'orientació

Orientació temporal:

- Quin dia de la setmana és avui?
 - En quina data estem?
 - Quin mes estem?
 - Quin any?
 - En quina estació de l'any?
 - Quina hora és?
 - En quin moment del dia estem?
 - Si ara anem a dinar, quina hora ha de ser?
- Donada una situació determinada (per exemple):
- Demà serà 25 de Desembre.
 - ¿Quina festa celebrarem?
 - Què és típic d'aquestes festes?
 - Amb qui ho celebrarem?
 - Què menjarem?

Orientació espacial:

- On som?
- Què és aquest lloc?
- En què carrer estem?
- A quina planta estem?
- En què barri estem?
- A quina ciutat estem?
- En què província?
- En quina nació?

Orientació de la persona:

- Com es diu?
- Quin any va néixer?
- Quina edat té?
- Està casat / a?
- Com es diu el seu espòs / a?
- Té fills?
- Com es diuen?
- I néts?
- Com es diuen?
- Què edats tenen?
- En quin carrer viu?
- Quin és el seu número de telèfon?

Taula 3

LLENGUATGE AUTOMÀTIC

Són exercicis que es treballen oralment. Es poden utilitzar estratègies de facilitació oral, com ara començar la sèrie automàtica de paraules.

digui:

- Quins són els mesos de l'any?
- Quines són les estacions de l'any?
- Quins són els dies de la setmana?
- Els números de l'1 al 10
- Seguiu la sèrie, comptant de 2 en 2 fins arribar a 50

LLENGUATGE ESPONTANI

I. Donada una làmina concreta, una fotografia o una situació determinada:

Descriuiu:

- Què hi ha en aquesta fotografia?
- Quina roba porta?
- Quins objectes hi ha en aquesta sala?

- Què s'observa en aquesta làmina?
- Expliqueu el que fa normalment cada dia.

REPETICIÓ VERBAL

I. Repeteixi les següents frases:

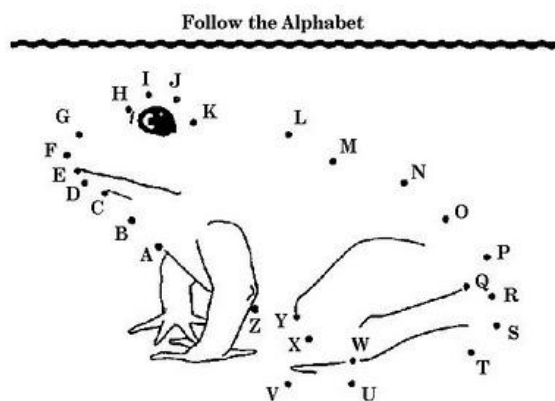
Han proposar frases amb diferent nombre de paraules i diferent nivell de dificultat d'aquestes, amb la finalitat d'adequar el grau de dificultat de les tasques de producció oral, a l'estadi de deteriorament del malalt.

- Els impostos es paguen a l'oficina de recaptació municipal
- Al garatge hi ha trenta cotxes
- La mantega es compra al supermercat
- Diumenge menjarem molles
- Hi ha un gat a la teulada
- M'agrada ballar
- Parlo tres idiomes
- Visc amb la meva filla
- Avui és dilluns
- Tinc un gos
- Vaig a casa
- Tinc fam

Taula 4

EXERCICIS DE MOTRICITAT FINA

I. Agafi un llapis de color i una tots els punts, seguint la numeració, fins aconseguir que aparegui el dibuix de la figura.



Taula 5

I. Evocar

- Digueu noms de 5 objectes o coses blaus.
- Digueu noms de 5 objectes o coses vermelles.
- Digueu noms de 5 objectes o coses grogues.
- Digueu noms de 5 objectes o coses verdes.

II. Reconeixement del color habitual

- Les taronges són de color ...
- El cel és de color ...
- El carbó és de color ...
- El robí és de color ...
- L'herba és de color ...
- Les llimones són de color ...
- Les fulles són de color ...

III. Donades unes làmines o llapis de colors, demanar al malalt que:

- Assenyaleu el color verd fosc.
- Assenyaleu el color blau clar.
- Assenyaleu el color groc clar.
- Assenyaleu el color verd clar
- Assenyaleu el color blau fosc.

Taula 6

III. Es presenten al pacient fotografies personals, de personatges populars, llocs coneguts pel pacient i objectes o aliments d'ús quotidià (un sol tipus de fotografies a l'hora, per no crear confusió al pacient i facilitar el record).

digui:

- El nom dels familiars i amics que apareixen a la fotografia.
- El nom dels personatges famosos que recordi de la fotografia.
- El nom dels llocs que conegui de la fotografia.
- El nom dels estris que apareixen a les fotografies.
- El nom dels aliments que apareixen a la fotografia.

Es retiren les fotografies o imatges de la vista del pacient i se li demana:

digui:

- El nom dels familiars i amics que recordi que apareixien a la fotografia.
- El nom dels personatges famosos que recordi que apareixien a la fotografia.
- El nom dels llocs que recordi que apareixien a la fotografia.

- El nom dels estris que recordi que apareixien en les fotografies.
- El nom dels aliments que recorda que apareixien a la fotografia.

Taula 7

V. Resolgui els problemes aritmètics:

- Si una dotzena d'ous val 200 ptes, quant valen 5 dotzenes?
- Si anem a comprar la premsa, que val 125 ptes i paguem amb 500 ptes, quant diners em tornaran?
- Tenim 182 bombons i cal repartir-los entre 26 persones. Quants bombons donarem a tothom?
- Pilar té 53 anys i Juan té 65 anys. Quants anys tenen entre tots dos?

VI. A partir de fullets publicitaris (aliments, productes de neteja, peces de vestir ...), amb monedes o bitllets (reals o simulats), objectes reals o simulats ...

- Quina és la fruita més cara?
- Quant val un quilo de pomes?
- Quant val el paper de cuina?
- Si paguem el quilo de plàtans amb 500 ptes. Quants diners ens tornen?
- Si un para-sol val 1.995 ptes. Quant costen 2 para-sols?

A partir dels bitllets i monedes (reals o simulats):

- Pagui els pantalons que val 2.495 ptes.
- Pagui la premsa, que val 125 ptes.
- Dongui el canvi de la compra del diari